

# Перспективные терапевтические подходы к ингибированию атерогенной модификации (десиалирования) липопротеидов низкой плотности\*

Феоктистов А.С.<sup>1</sup>, Гаврилин М.А.<sup>1</sup>, Карагодин В.П.<sup>2</sup>, Бобрышев Ю.В.<sup>1,3</sup>, Орехов А.Н.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> — Научно-исследовательский институт атеросклероза, Инновационный центр Сколково, Москва, 143025, ул. Новая, д. 100, тел. +7(495)4120113, +7(495)4121557, e-mail: office@inat.ru

<sup>2</sup> — Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, 117997, Стремянный пер., д. 36, тел. +7(903)5904637, e-mail: vpk@mail.ru

<sup>3</sup> — ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, д. 8, тел. +7(499)6012181, e-mail: niioopp@mail.ru

Ранее в сыворотке крови человека был обнаружен фермент, вызывающий атерогенную модификацию липопротеидов низкой плотности (ЛНП), которые приводят к накоплению холестерина в клетках сосудов, т.е. вызывают одно из основных проявлений атеросклероза на клеточном уровне. В нашей работе было исследовано влияние экстрактов растений и продуктов биологического происхождения на активность транс-сиалидазы сыворотки крови человека. Обнаружено, что экстракты чеснока, лука, тысячелистника, зверобоя, ламинарии, фукуса и меда способны снижать активность транс-сиалидазы *in vitro*. Наибольший ингибирующий эффект был выявлен для экстрактов цветочной пыльцы и порошка чеснока. Пероральный прием цветочной пыльцы и порошка чеснока вызывал примерно двукратное снижение транс-сиалидазной активности сыворотки крови в экспериментах *ex vivo*. Было установлено, что снижение транс-сиалидазной активности сыворотки крови коррелирует со снижением способности сыворотки крови вызывать накопление холестерина в культуре клеток из непораженной интимы аорты человека.

**Ключевые слова:** атеросклероз, десиалирование, липопротеиды низкой плотности, накопление липидов, продукты естественного происхождения, транссиалидаза

## Введение

Одним из ключевых событий в патогенезе атеросклероза является накопление липидов, в том числе эфиров холестерина, в клетках сосудистой стенки. Важнейшую роль в отложении внутриклеточных липидов играют циркулирующие преимущественно модифицированные липопротеиды плазмы крови (цмЛНП) [1, 2]. Эти липопротеиды отличаются от нативных по своим физико-химическим свойствам. Так, для цмЛНП было продемонстрировано сниженное содержание сиаловой кислоты, эфиров холестерина и фосфолипидов, повышенное содержание лизофосфолипидов и диглицеридов, увеличение окисляемости липидов и поверхностного отрицательного заряда, уменьшение размеров и увеличение плотности частиц [3, 4]. Кроме того, особо необходимо отметить такие свойства цмЛНП, как повышенную склонность к ассоциации и их атерогенность, т.е. способность вызывать накопление холестерина в культуре клеток [5, 6]. Предположительно, одной из причин, ведущих к появлению цмЛНП, является ферментативная модификация липопротеидной частицы. Одним из ферментов-модификаторов, по-видимому, может выступать транс-сиалидаза плазмы крови человека.

Транс-сиалидаза плазмы крови человека была выделена в гомогенном виде с помощью аффинной хроматографии на полисиаловой кислоте, ковалентно связанной с агарозой [7, 8]. Донорами сиаловой кислоты для транс-сиалидазы могут являться липопротеиды, гликопротеиды, ганглиозиды плазмы крови, а также гликоконъюгаты клеток крови. Акцепторами сиаловой кислоты мо-

гут служить гликоконъюгаты компонентов плазмы и клеток крови [7].

Обработка нативных липопротеидов транс-сиалидазой приводит к их десиалированию и, как следствие, появлению у них способности вызывать отложение холестерина в клетках интимы аорты человека [7, 9]. Можно предположить, что ингибирование активности транс-сиалидазы снизит скорость модификации ЛНП и затормозит процесс накопления холестерина в сосудистых клетках. Ранее мы показали, что гепарин и производные цитозина способны снижать транс-сиалидазную активность [10]. В последнее время внимание исследователей привлечено к использованию продуктов натурального происхождения для профилактики и лечения атеросклероза. Поэтому целью данной работы явилось изучение влияния растительных препаратов на активность транс-сиалидазы плазмы крови человека.

## Материалы и методы

### Получение экстрактов растительного происхождения

Спиртовые (70% этанола) экстракты были получены из растений, водорослей и продуктов жизнедеятельности пчел. Были использованы продукты растительного происхождения («Красногорсклексредства», Красногорск, Московская область), а также препараты пролонгированного действия на основе цветочной пыльцы (поллинат) и порошок чеснока (алликор) (ИНАТ-Фарма, Москва, Россия).

\* Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации.

### Выделение и радиоактивное мечение ЛНП

Венозную кровь доноров забирали утром натощак в пробирки, содержащие 1 мг/мл ЭДТА. Плазму отделяли от форменных элементов при помощи центрифугирования при 300 об./мин 15 мин на центрифуге TJ-6 (Beckman Instruments, США). ЛНП выделяли из плазмы крови двухстадийным ультрацентрифугированием, как описано ранее [10]. Образцы ЛНП диализовали в течение ночи при 4°C против 4000 объемов 50 мМ Tris-HCl буфера (pH 7.0) и затем стерилизовали фильтрацией (0.45 мкм). Сиалированные гликоконъюгаты ЛНП метили [<sup>3</sup>H]-С по С-8 позиции сиаловой кислоты, как описано Veh et al. [11].

### Получение липопротеид-дефицитной плазмы

Для получения липопротеид-дефицитной плазмы плотность 4 мл плазмы доводили до 1,39 г/мл сухим NaBr, наслаивали 6 мл раствора NaBr с плотностью 1,065 г/мл и центрифугировали в течение 15 ч при 40 000 об./мин (ротор 50Ti, Beckman Instruments, США). Флотировавшие липопротеиды удаляли и липопротеид-дефицитную плазму диализовали в течение ночи при 4°C против 4000 объемов 50 мМ Tris-HCl буфером (pH 7.0).

### Выделение транс-сиалидазы

Транс-сиалидазу плазмы крови выделяли методом афинной хроматографии. Для этого 700 мкл липопро-

теид-дефицитной плазмы наносили на колонку, содержащую 2 мл сефарозы с ковалентно связанной с ней полисиаловой кислотой (Syntesome GmbH, Munich, Germany). Колонку промывали 20 мл 50 мМ Tris-HCl (pH 7.0), связавшийся фермент элюировали 5 мл раствора 5 мМ сиаловой кислоты в 50 мМ Tris-HCl (pH 7.0). Полученный раствор фермента диализовали против 10 мМ Tris-HCl в течение суток с трехкратной сменой буфера. Фермент концентрировали при помощи мембранной ультрафильтрации (Amicon systems, США) и хранили при -70°C. Концентрацию белка в растворе фермента определяли по Lowry et al. [12].

### Определение транс-сиалидазной активности

В качестве доноров сиаловой кислоты выступали [<sup>3</sup>H]-меченые липопротеиды или гликоконъюгаты, ковалентно связанные с сефарозой [13]. Реакционная смесь содержала 10–20 мкл связанных с сефарозой ЛНП, 50 мкг асиалофетуина, 1 мМ дитиотриэтола, 2 мМ CaCl<sub>2</sub> и 10 мкг фермента. Объем реакционной смеси доводили до 0,2 мл при помощи 50 мМ Tris-HCl (pH 7.0). Инкубацию проводили при 37°C в темноте при постоянном перемешивании в течение 4 ч. По окончании инкубации к реакционной смеси добавляли 300 мкл воды и центрифугировали 10 мин при 4500 об./мин. Затем отбирали 200 мкл супернатанта и измеряли уровень его радиоактивности на жидкостно-сцинтиляционном счетчике 1215 Rack-Beta (LKB, Швеция).

Таблица 1

**Влияние экстрактов растений, водорослей и продуктов жизнедеятельности пчел на активность транс-сиалидазы *in vitro* (% от контроля)**

Исследуемый компонент	Концентрация экстракта, мг/мл						
	0	0,01	0,1	1	10	100	1000
Экстракт корней лапчатки прямостоячей ( <i>Potentilla erecta</i> Neck.)	100±7	99±9	94±8	97±6	95±6	102±5	89±6
Экстракт цветов календулы лекарственной ( <i>Calendula officinalis</i> L.)	100±7	111±12	108±7	103±3	105±8	92±6	88±4
Экстракт травы зверобоя продырявленного ( <i>Hypericum perforatum</i> L.)	100±7	93±7	95±9	98±5	95±7	72±5*	57±4*
Экстракт тысячелистника обыкновенного ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	100±7	99±5	94±3	92±8	78±4*	54±4*	27±3*
Экстракт корня женьшеня обыкновенного ( <i>Panax ginseng</i> C.A. Mey)	100±7	94±6	95±8	98±6	99±3	95±5	88±6
Экстракт корня элеутерококка колючего ( <i>Eleutherococcus senticosus</i> Maxim.)	100±7	95±5	105±7	100±7	101±8	95±6	85±8
Экстракт корня родиолы розовой ( <i>Rhodiola rosea</i> L.)	100±7	98±6	103±5	98±5	89±5	72±4*	58±5*
Экстракт прополиса	100±7	97±9	99±8	108±10	103±7	98±3	88±5
Экстракт меда	100±7	94±4	95±6	92±5	88±4	85±8	60±4*
Экстракт цветочной пыльцы	100±7	92±5	80±2	49±4*	43±2*	21±3*	14±2*
Экстракт бурых водорослей ламинарии сахаристой ( <i>Saccharina japonica</i> (Areschoug) C.E.Lane et al.)	100±7	98±7	95±6	89±5	85±4	81±5*	74±3*
Экстракт фукуса пузырчатого ( <i>Fucus vesiculosus</i> L.)	100±7	93±8	101±5	90±4	81±3*	75±4*	65±2*
Экстракт лука репчатого ( <i>Allium cepa</i> L.)	100±7	96±4	97±5	95±7	92±6	82±2*	73±6*
Экстракт чеснока посевного ( <i>Allium sativum</i> L.)	100±7	92±4	85±5	81±6*	63±4*	32±3*	10±4*

Примечание. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего; \* — достоверное подавление ферментативной активности, p<0,005

### Культура клеток

Субэндотелиальные гладкомышечные клетки (ГМК) выделяли из неповрежденных участков интимы аорты человека путем обработки коллагеназой [5] и культивировали при 37°C в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (Forma Scientific, США) в насыщенной водяными парами атмосфере, содержащей 95% воздуха и 5% углекислого газа [14]. Клеточные липиды экстрагировали смесью гексан—изопропанол, согласно Nara and Radin [15]. Содержание внутриклеточного холестерина определяли при помощи тест-системы для определения общего холестерина (Boehringer Mannheim, Германия).

### Статистическая обработка

Достоверность различий определяли с помощью двустороннего t-теста Стьюдента с использованием статистической программы BMDP 16.

### Результаты

#### Влияние экстрактов растений на активность транс-сиалидазы плазмы крови человека

В табл. 1 представлены данные о влиянии различных концентраций экстрактов растений, водорослей и продуктов жизнедеятельности пчел на активность транс-сиалидазы, выделенной из плазмы крови человека. Можно видеть, что экстракты корня лапчатки прямостоячей (калгана) (*Potentilla erecta* Neck.), цветов календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) не влияли на активность фермента. Экстракты травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) и тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) в концентрациях 100—1000 мкг/мл ингибировали активность транс-сиалидазы на 45—71%.

Из экстрактов растений, обладающих седативным эффектом, лишь экстракт корня родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) в концентрациях 100—1000 мкг/мл ингибировал активность транс-сиалидазы на 36—44% в концентрациях 100—1000 мкг/мл. Представители семейства аралиевых — женьшень обыкновенный (*Panax ginseng* C.A. Mey) и элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* Maxim.) были неэффективны.

Среди экстрактов продуктов жизнедеятельности пчел, ингибирующим эффектом на активность транс-сиалидазы обладали экстракты меда и цветочной пыльцы. Спиртовый экстракт цветочной пыльцы в концентрациях 1—1000 мкг/мл ингибировал активность транс-сиалидазы на 51—86%. Водный экстракт обладал сходным эффектом на активность фермента (данные не приводятся).

Экстракты бурых водорослей ламинарии сахаристой (*Saccharina japonica* (Areschoug) C.E.Lane *et al.*) и фукуса пузырчатого (*Fucus vesiculosus* L.) снижали активность транс-сиалидазы на 24 и 36% соответственно, в наибольшей использованной концентрации.

Экстракты растений семейства лилейных вызывали снижение активности транс-сиалидазы. Спиртовый экстракт порошка чеснока (*Allium sativum* L.) в концентрации 1000 мкг/мл снижал активность фермента на 92%. Близкий по величине ингибирующий эффект был обнаружен также для водного и хлороформного экстрактов чеснока (данные не приводятся).

Таким образом, из всех исследованных препаратов экстракты цветочной пыльцы и порошка чеснока обладали

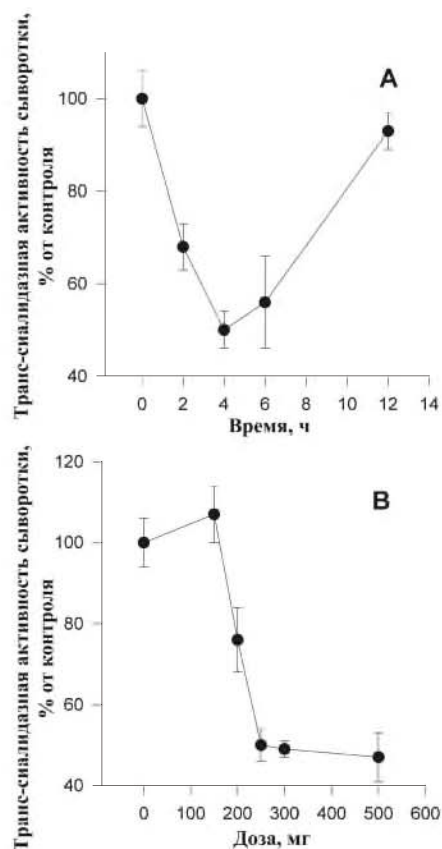


Рис. 1. Временная (А) и концентрационная (В) зависимость влияния препарата цветочной пыльцы на транс-сиалидазную активность сыворотки крови *ex vivo*

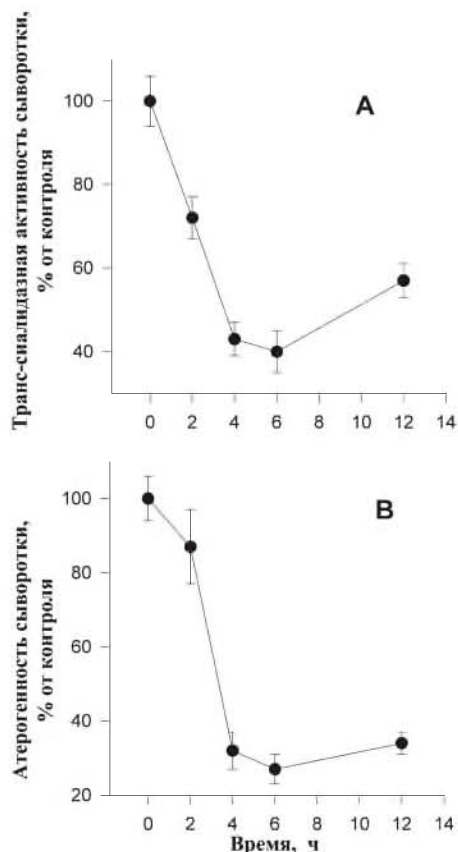


Рис. 2. Влияние препарата «Поллинат» на транс-сиалидазную активность сыворотки крови (А) и атерогенность сыворотки (В)

наибольшим ингибирующим эффектом на активность транс-сиалидазы. Поэтому в дальнейшем мы исследовали влияние этих препаратов на транс-сиалидазную активность *ex vivo*.

*Влияние препаратов цветочной пыльцы на транс-сиалидазную активность плазмы крови человека*

На рис. 1 приведены данные о влиянии цветочной пыльцы на транс-сиалидазную активность плазмы крови человека. Добровольцы принимали от 150 до 500 мг капсулированной цветочной пыльцы перорально. После этого у них забирали кровь через 2, 4, 6 и 12 ч и определяли транс-сиалидазную активность в плазме крови. Максимальная ингибирующая активность цветочной пыльцы была обнаружена спустя 4 ч после приема (рис. 1А). Можно видеть, что в дозах 250—500 мг пыльца вызывала примерно двукратное снижение транс-сиалидазной активности плазмы крови (рис. 1В). Помимо капсулированной цветочной пыльцы, были использованы также таблетки пролонгированного действия «Поллинат», содержащие 250 мг пыльцы в полимерной матрице. Как следует из данных рис. 2, пролонгированная форма цветочной пыльцы вызывает более длительный по времени ингибирующий эффект, который может длиться до 12 ч.

Помимо влияния препарата «Поллинат» на активность транс-сиалидазы сыворотки крови, было исследовано свойство тех же сывороток вызывать накопление холестерина в клетках непораженной интимы аорты человека, т.е. их атерогенность (рис. 2А). Было показано, что параллельно со снижением активности транс-сиалидазы снижается и атерогенный потенциал сывороток (рис. 2В). Коэффициент корреляции составил 0,80 ( $p < 0,05$ ).

*Влияние препаратов порошка чеснока на транс-сиалидазную активность плазмы крови человека*

На рис. 3 приведена временная зависимость влияния препарата «Алликор», содержащего 150 мг порошок чеснока, на транс-сиалидазную активность плазмы крови. Можно видеть, что ингибирующий эффект препарата появляется спустя 4 ч и длится в течение 12 ч после применения.

Мы обнаружили тесную положительную корреляцию между снижением транс-сиалидазной активности сыворотки крови пациентов под действием препарата порошка чеснока и снижением способности плазмы накапливать внутриклеточный холестерин ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,05$ ).

Была исследована также транс-сиалидазная активность у пациентов, принимавших препарат порошка чеснока ежедневно утром и вечером в течение 1 года. Как следует из табл. 2, среди 26 пациентов 18 исходно облада-

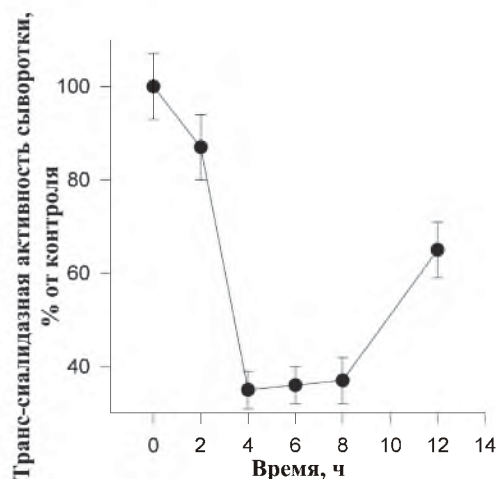


Рис. 3. Влияние препарата «Алликор» на транс-сиалидазную активность сыворотки крови человека

ли высокой транс-сиалидазной активностью (группа 1), тогда как 8 пациентов (группа 2) имели низкую ферментативную активность (30—50 фмоль/мл/мин). Прием препарата «Алликор» в течение 1 года приводил к снижению транс-сиалидазной активности на 32% в группе 1 с изначально высокой ферментативной активностью. В группе 2 достоверных изменений ферментативной активности обнаружено не было.

Плазма пациентов группы 1 вызывала в среднем 2,1-кратное накопление холестерина в клетках непораженной интимы аорты человека (табл. 2). Плазма пациентов группы 2 атерогенными свойствами не обладала. Прием препарата «Алликор» в течение 1 года привел к снижению атерогенного потенциала плазмы 1-й, но не 2-й, группы. Коэффициент корреляции между снижением транс-сиалидазной активности и атерогенностью плазмы составил 0,75 ( $p < 0,05$ ).

**Обсуждение**

Транс-сиалидазная активность недавно была обнаружена нами в плазме крови человека 7, 10. Достаточно детально изучены транс-сиалидазы простейших, таких, как *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Endotrypanum* sp. 17. Многие из этих простейших являются возбудителями опасных заболеваний, например, сонной болезни, болезни Шагаса. Транс-сиалидазы паразитарных простейших играют важную роль в механизмах защиты паразита от иммунной системы хозяина и проникновения простейших в клетку. В связи с этим понятен интерес к ингибито-

Таблица 2

**Влияние длительного приема препарата «Алликор» на транс-сиалидазную активность сыворотки крови человека**

Группы пациентов	Транс-сиалидазная активность сыворотки крови, фмоль/мл/мин		Атерогенность сыворотки крови, % от контроля	
	Исходная	Через 1 год	Исходная	Через 1 год
1. С высокой (>75) исходной активностью (n=18)	90±6	62±6	205±17	134±15
С низкой (<75) исходной активностью (n=8)	40±3	40±6	115±7	108±6

Примечание. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего

рам транс-сиалидазной активности, поиск которых активно ведется в последнее время [18]. В свою очередь, нам удалось обнаружить транс-сиалидазную активность в плазме крови человека и продемонстрировать ее тесную взаимосвязь с модификацией нативных ЛНП [7]. В настоящей работе мы провели поиск потенциальных ингибиторов транс-сиалидазной активности плазмы крови человека среди экстрактов растений и продуктов растительного происхождения.

Результаты этого исследования показали, что среди растений и продуктов их биологической переработки имеются такие, экстракты которых являются ингибиторами транс-сиалидазы. Таким эффектом обладали экстракты ламинарии, фукуса, тысячелистника, зверобоя, лука и меда. Однако наибольшим ингибирующим действием обладали экстракты цветочной пыльцы и чеснока.

Эксперименты *ex vivo* показали, что пероральный прием препаратов цветочной пыльцы и чеснока вызывает значительное по величине (около 50%) и продолжительное по времени (2–6 ч) снижение транс-сиалидазной активности сыворотки крови человека. При использовании таблетированных препаратов цветочной пыльцы и чеснока, обладающих пролонгированным действием, длительность эффекта увеличивалась до 12 ч.

При этом было обнаружено, что параллельно со снижением транс-сиалидазной активности сыворотки крови происходит и снижение ее атерогенных свойств. Другими словами, сыворотки крови теряют способность вызывать накопление холестерина в клетках непораженной интимы аорты человека, одного из основных проявлений атеросклероза на клеточном уровне.

### Заключение

Ранее мы показали, что основным атерогенным компонентом сыворотки крови больных коронарным атеросклерозом являются ЛНП с низким содержанием сиаловой кислоты [2, 3]. При этом атерогенность ЛНП, т.е. их способность накапливать внутриклеточный холестерин, отрицательно коррелирует с содержанием в них сиаловой кислоты [19]. Было установлено, что атерогенная модификация ЛНП может происходить в плазме крови человека, и первым по времени и, возможно, основным изменением является потеря сиаловой кислоты [13, 20]. Десиамирование ЛНП в плазме осуществляется транс-сиалидазой — ферментом, основные характеристики которого были определены недавно [7]. Обработка *in vitro* нативных ЛНП транс-сиалидазой, выделенной из сыворотки крови, приводит к их десиамированию и появлению атерогенных свойств. Интересно отметить, что десиамирование ЛНП осуществляется транс-сиалидазой с наибольшей скоростью, по сравнению с другими классами липопротеидов, а также гликопротеидов сыворотки крови. Таким образом, можно предположить, что ингибирование транс-сиалидазы должно приводить к снижению атерогенных свойств сыворотки крови. Действительно, в экспериментах *ex vivo* было обнаружено, что снижение транс-сиалидазной активности под действием препаратов цветочной пыльцы и чесночного порошка тесно коррелирует с падением атерогенного потенциала сыворотки крови пациентов.

В перспективе подобные результаты могут служить основой для разработки новых подходов к профилактике и лечению атеросклероза сосудов человека.

### Список литературы

1. Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., Mikhailenko I.A. Modification of low density lipoprotein by desialylation causes lipid accumulation in cultured cells. Discovery of desialylated lipoprotein with altered cellular metabolism in the blood of atherosclerotic patients // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1989. — 162. — P. 206–211.
2. Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N. Desialylated low density lipoprotein — naturally occurring lipoprotein with atherogenic potency // *Atherosclerosis*. — 1991. — 86. — P. 153–161.
3. Tertov V.V., Orekhov A.N., Sobenin I.A., Morrisett J.D., Gotto A.M., Jr., Guevara J.G., Jr. Carbohydrate content of protein and lipid components in sialic acid-rich and -poor low density lipoproteins from subjects with and without coronary artery disease // *J. Lipid. Res.* — 1993. — 34. — P. 365–375.
4. Tertov V.V., Sobenin I.A., Gabbasov Z.A., Popov E.G., Jaakkola O., Solakivi T., Nikkari T., Orekhov A.N. Multiple-modified desialylated low density lipoproteins that cause intracellular lipid accumulation: isolation, fractionation and characterization // *Lab. Invest.* — 1992. — 67. — P. 665–675.
5. Tertov V.V., Orekhov A.N. Metabolism of native and naturally occurring multiple modified low density lipoprotein in smooth muscle cells of human aortic intima // *Exp. Mol. Pathol.* — 1997. — 64. — P. 127–145.
6. Tertov V.V., Kaplun V.V., Dvoryantsev S.N., Orekhov A.N. Apolipoprotein B-bound lipids as a marker for evaluation of low density lipoprotein oxidation *in vivo* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1995. — 214. — P. 608–613.
7. Tertov V.V., Kaplun V.V., Sobenin I.A., Boytsova E.Yu., Bovin N.V., Orekhov A.N. Human plasma trans-sialidase causes atherogenic modification of low density lipoprotein // *Atherosclerosis* — 2001. — 159. — P. 103–115.
8. Tertov V.V., Sobenin I.A., Tonevitsky A.G., Orekhov A.N., Smirnov V.N. Isolation of atherogenic modified (desialylated) low density lipoprotein from blood of atherosclerotic patients: separation from native lipoprotein by affinity chromatography // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1990. — 167. — P. 1122–1127.
9. Taniguchi T., Ishikawa Y., Tsunemitsu M., Asaoka Y., Matsumoto K., Fukuzaki H. Stimulation of cholesterol ester synthesis in human monocyte-derived macrophages by asialo low density lipoproteins // *Arteriosclerosis*. — 1989. — 9. — P. 767a.
10. Tertov V.V., Kaplun V.V., Sobenin I.A., Orekhov A.A. Low-density lipoprotein modification occurring in human plasma. Possible mechanism of *in vivo* lipoprotein desialylation as a primary step of atherogenic modification // *Atherosclerosis*. — 1998. — 138. — P. 183–195.
11. Veh R.W., Corfield A.P., Sander M., Schauer R. Neuraminic acid-specific modification and tritium labelling of gangliosides // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1977. — 486. — P. 145–160.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — 193. — P. 265–275.
13. Millar J.S. The sialylation of plasma lipoproteins // *Atherosclerosis*. — 2011. — 154. — P. 1–13.
14. Orekhov A.N., Tertov V.V., Novikov I.D., Krushinsky A.V., Andreeva E.R., Lankin V.Z., Smirnov V.N. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. I. Lipid composition of aortic tissue and enzyme isolated and cultured cells // *Exp. Mol. Pathol.* — 1985 — 42. — P. 117–137.
15. Hara A., Radin N.S. Lipid extraction of tissue with low-toxicity solvent // *Anal. Biochem.* — 1978. — 90. — P. 420–426.
16. Dixon W.J., Brown M.B. *Biomedical Computer Programs*. — Berkeley: University of California Press, 1977. — P. 185–203.
17. Schenkman S. Structural and functional properties of trypanosoma trans-sialidase // *Annu. Rev. Microbiol.* — 1994. — 48. — P. 499–523.
18. Agusti R., Paris G., Ratier L., Frasch A.C.C., Lederkremer R.M. Lactose derivatives are inhibitors of Trypanosoma cruzi trans-sialidase activity toward conventional substrates *in vitro* and *in vivo* // *Glycobiology*. — 2004. — Vol. 14, №7. — P. 659–670.
19. Orekhov A.N., Tertov V.V., Sobenin I.A., Smirnov V.N., Via D.P., Guevara J., Gotto A.M., Jr., Morrisett J.D. Sialic acid content of human low density lipoproteins affects their interaction with cell receptors and intracellular lipid accumulation // *J. Lipid. Res.* — 1992. — 33. — P. 805–807.
20. Filipovic A., Schwarzmann G., Mraz W., Wiegandt H., Buddecke E. Sialic acid content of low-density lipoproteins controls their binding and uptake by cultured cells // *Eur. J. Biochem.* — 1979. — 93. — P. 51–55.

Поступила 16.03.2013

---

***Promising therapeutic approaches  
to inhibition of atherogenic modification (desialylation)  
of low density lipoproteins***

**Feoktistov A.S.<sup>1</sup>, Gavrilin M.A.<sup>1</sup>, Karagodin V.P.<sup>2</sup>, Bobryshev Yu.V.<sup>1,3</sup>, Orekhov A.N.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> – Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Center, POB # 21,  
Moscow, 121609, Russia

<sup>2</sup> – Plekhanov Russian University of Economics, Stremyanny per. 36, 117997, Moscow, Russia

<sup>3</sup> – Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences,  
Baltiyskaya Str. 8, Moscow, 125315, Russia

*We have previously detected and isolated from human blood serum an enzyme that causes atherogenic modification of low density lipoproteins (LDLP). Modified LDLP stimulate accumulation of cholesterol in blood vessel cells and thus cause one of the main manifestations of atherosclerosis at cellular level. In the present study we investigated the influence of herbal extracts and honey bee products on trans-sialidase activity of human serum. We found that extracts of garlic, onion, yarrow, St. John's wort, royal kombu, bladder wrack and honey reduce trans-sialidase activity in vitro. The greatest inhibitory effect (90%) was shown for pollen and garlic powder. Oral administration of pollen and garlic powder caused approximately two-fold reduction of serum trans-sialidase activity ex vivo. The reduction of serum trans-sialidase activity correlates with the decreased serum ability to cause cholesterol accumulation in cultured cells of unaffected human aortic intima.*

**Key words:** atherosclerosis, desialylation, lipid accumulation, low density lipoproteins, natural products, trans-sialidase