

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-355

**АНАЛИЗ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДНК-АПТАМЕРОВ
К ФНО- α НА *IN VITRO* МОДЕЛИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА*****ANALYSIS OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF TNF- α -SPECIFIC DNA APTAMERS
USING AN *IN VITRO* MODEL OF RHEUMATOID ARTHRITIS**Д. В. Риппинен¹, М. А. Воробьева², А. О. Соловьева¹, М. А. Королев¹¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, НовосибирскD. V. Rippinen¹, M. A. Vorobyeva², A. O. Solovieva¹, M. A. Korolev¹¹Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ d@rippinen.ru

Аннотация

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся прогрессирующим воспалением и деструкцией суставов, опосредованными ФНО- α . В работе исследована возможность использования ДНК-аптамеров, специфичных к ФНО- α , для подавления провоспалительной активности на линиях фибробластоподобных синовиоцитов пациентов с РА. Эффективность оценивали по их способности ингибировать ФНО- α -индуцированную секрецию ИЛ-6 и ММП-13.

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease characterized by progressive inflammation and destruction of joints mediated by TNF- α . The paper investigated the possibility of using DNA aptamers specific to TNF- α to suppress proinflammatory activity on fibroblast-like synoviocyte lines in patients with RA. The effectiveness was assessed by their ability to inhibit TNF-alpha-induced secretion of IL-6 and MMP-13.

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое иммуновоспалительное ревматическое заболевание с прогрессирующей деструкцией суставов и поражением внутренних органов. В настоящее время продолжается поиск новых таргетных препаратов для лечения этого распространенного заболевания.

Ключевую роль в патогенезе РА играет провоспалительный цитокин ФНО- α , а первичным участком воспаления является синовиальная оболочка. ФНО- α индуцирует синтез ИЛ-6 фибробластоподобными синовиоцитами через активацию NF- κ B, инициируя каскад реакций, усиливающий воспаление, пролиферацию синовиальной оболочки и деструкцию хряща. Поэтому мы рассматривали уровень секреции ИЛ-6 в качестве ключевого маркера функциональной активности фибробластоподобных синовиоцитов и их ответа на воздействие ФНО- α .

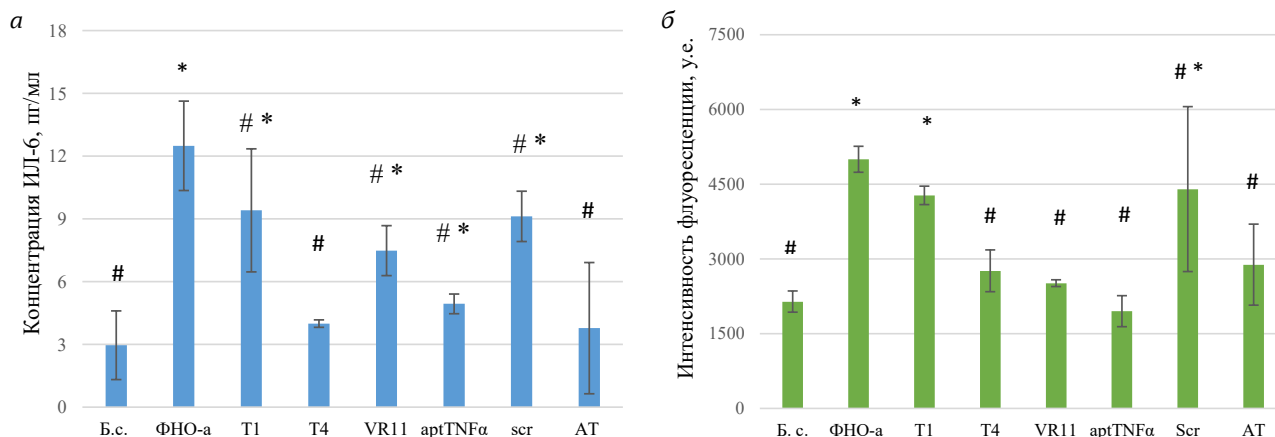
Линии первичных фибробластоподобных синовиоцитов были получены из синовиальной оболочки пациентов с РА. По уровню базовой секреции ИЛ-6 они разделялись на высокосекретирующие ($2478,95 \pm 1399,6$ пг/мл), средне- ($407,0 \pm 129,9$ пг/мл) и низкосекретирующие ($8,0-9,2$ пг/мл). Для сравнения, дермальные фибробласты секретируют минимальные количества ИЛ-6 ($0,27-0,5$ пг/мл). Воспалительная среда индуцировала экспрессию ММП-13 и ММП-14 в ФПС. При добавлении моноклонального антитела к ФНО- α цертолизумаба (терапевтический препарат Симзия®) наблюдали выраженное ингибирование продукции матриксных металлопротеиназ (ММП), что подтверждало терапевтическую эффективность анти-ФНО- α -терапии через ингибирование ММП. При добавлении в культуральную среду провоспалительных факторов скорость пролиферации ФПС возрастала в 1,35 раза, что свидетельствовало об их высокой чувствительности к воспалительным стимулам. Отмечено, что миграционная активность фибробластоподобных синовиоцитов коррелировала с уровнем активности заболевания у доноров. В частности, у пациентов с умеренной степенью активности заболевания миграционная способность ФПС была достоверно выше по сравнению с пациентами с низкой активностью РА. Стимуляция ФНО- α (50 нг/мл) и синовиальной жидкостью усиливала миграцию ФПС на 30 ± 15 %. Полученные результаты демонстрируют достоверные различия функциональной активности фибробластоподобных синовиоцитов и дермальных фибробластов. Наибольшую значимость представляли линии ФПС 3–5-го пассажа, поскольку они сохраняли патологический фенотип, характерный для ревматоидного артрита, и чувствительность к ФНО- α .

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-25-00363).

© Д. В. Риппинен, М. А. Воробьева, А. О. Соловьева, М. А. Королев, 2025

Для подавления активности ФНО- α использовали ДНК-аптамеры (aptTNF α [1], T1, T4 [2], VR11 [3]), несущие дополнительную 3'-модификацию (остаток тимидина через 3'-3'-фосфодиэфирную связь) для повышения нуклеазной устойчивости. Их терапевтическую эффективность оценивали по влиянию на жизнеспособность клеток и ингибированию провоспалительных каскадов.

Аптамеры не проявляли цитотоксичности и не интернализировались в клетки. Наибольшую эффективность продемонстрировали аптамеры T4 и aptTNF α , которые снижали секрецию ИЛ-6 до $3,6 \pm 0,1$ и $4,9 \pm 0,3$ пг/мл соответственно, что сопоставимо с действием цертолизумаба ($3,1 \pm 1,2$ пг/мл) (см. рисунок). Аптамеры T4 и VR11 значимо подавляли секрецию ММП-13. Полученные результаты говорят о потенциальной способности аптамеров T4, aptTNF α и VR1 подавлять воспалительную реакцию и блокировать деструктивные процессы в хрящевой ткани, что делает их перспективными таргетными терапевтическими молекулами.



Определение противовоспалительной активности ДНК-аптамеров к ФНО- α : а — уровень индуцируемой ФНО- α секреции ИЛ-6 фибробластоподобными синовиоцитами; б — уровень индуцируемой ФНО- α секреции ММП-13 фибробластоподобными синовиоцитами. Б. с. — базовая секреция; T1, T4, VR11, aptTNF α — аптамеры к ФНО- α ;

Scr — контрольный олигонуклеотид; AT — антитела к ФНО- α (Симзия 200 мг/мл); * — $p \leq 0,01$ при сравнении с уровнем базовой секреции; # — $p \leq 0,01$ при сравнении с индуцируемой ФНО- α секрецией

Литература

1. Lai W.Y. et al. A novel TNF- α -targeting aptamer for TNF- α -mediated acute lung injury and acute liver failure // Theranostics. Ivyspring International Publisher, 2019. Vol. 9, No. 6. P. 1741–1751.
2. Mashayekhi K., Ganji A., Sankian M. Designing a new dimerized anti human TNF- α aptamer with blocking activity // Bio-technol Prog. John Wiley and Sons Inc. 2020. Vol. 36, No. 4.
3. Orava E.W. et al. A short DNA aptamer that recognizes TNF-alpha and blocks its activity in vitro. 2012.