

Д.Д. Смурага
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОЛИГОПЕПТИДОВ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ
КОНЦЕНТРАЦИИ ФНО- α В ПЛАЗМЕ КРОВИ**

Научный руководитель: ассист. Т.В. Рябцева

Кафедра биологической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

D.D. Smuraga
**USE OF OLIGOPEPTIDES TO REDUCING
TNF- α CONCENTRATION IN BLOOD PLASMA**

Tutor: assistant T.V. Ryabtseva

Department of Biological Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. ФНО- α относится к провоспалительным цитокинам и участвует в развитии цитокинового шторма. Существует необходимость в разработке методов для снижения концентрации цитокинов при их чрезмерной продукции. Для этого могут быть использованы олигопептиды.

Ключевые слова: ФНО- α , цитокиновый шторм, олигопептиды.

Resume. TNF- α belongs to pro-inflammatory cytokines and is involved in the development of cytokine storm. There is a need to develop methods to reduce the concentration of cytokines in their excessive production. Oligopeptides can be used for this.

Keywords: TNF- α , cytokine storm, oligopeptides.

Актуальность. Надсемейство фактора некроза опухоли (ФНО) включает 19 лигандов и 29 рецепторов и играет в организме разнообразную роль [3]. ФНО- α человека транслируется как белок массой 26 кДа, в котором отсутствует классический сигнальный пептид. Для биологической активности требуется тримеризация ФНО- α . Передача сигналов происходит за счет распознавания тримеров ФНО- α эндогенными рецепторами ФНО (TNFR) 1 и 2, которые образуют тримеры для образования комплекса с ФНО- α [1].

Большинство членов суперсемейства обладают как полезными, так и опасными для организма эффектами [3]. ФНО- α относится к провоспалительным цитокинам и участвует в развитии цитокинового шторма. Поступление экзотоксинов в организм является причиной высвобождения большого количества провоспалительных цитокинов. Высвободившиеся в избыточном количестве цитокины провоцируют увеличение срб в гепатоцитах. Затем начинается эндотелиальное повреждение и активация коагуляции. Повреждение эндотелия на различных уровнях вызывает системную дисфункцию кровообращения, характеризующуюся сужением сосудов, с последующей ишемией пораженных органов и нарушением микроциркуляции. В результате ишемии происходит повреждение органов и тканей, что приводит к еще большему выбросу эндотоксинов и повышению цитокинов в крови [2].

Таким образом, существует необходимость в разработке методов для снижения концентрации цитокинов при их чрезмерной продукции. В настоящее время для использования в клинике одобрено пять ингибиторов, которые представляют собой препараты на основе моноклональных антител: инфликсимаб, адалимумаб и голимумаб,

цертолизумаб пегол и этанерцепт. Однако антагонисты ФНО- α имеют ряд недостатков, таких как повышение риска микобактериальных и других внутриклеточных микробных инфекций; повышение риска развития злокачественных новообразований; анергия и риск развития хронических воспалительных заболеваний [1].

Цель: проанализировать энергию связывания ФНО- α с олигопептидами, являющимися аналогами цитокиносвязывающего домена рецептора TNFRSF1B *in silico*.

Задачи:

1. Определить фрагмент полипептидной цепи рецептора TNFRSF1B, участвующий в связывании TNF- α .
2. Сконструировать олигопептиды, которые будут являться аналогом цитокиносвязывающего домена рецептора TNFRSF1B.
3. Проанализировать свободную энергию связывания олигопептидов с TNF- α и определить пептид с наилучшей энергией связывания.

Материалы и методы. Визуализацию молекулярных комплексов, работу с pdb-файлами и оценку свободной энергии связывания олигопептидов с цитокинами проводили с помощью программного обеспечения Chimera 1.14 с утилитой AutoDockVina. Для молекулярного докинга использовали pdb-файл 3ALQ. Результаты исследования обрабатывали непараметрическими методами статистики с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica10.0. Для представления результатов рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25 %; 75 %).

Результаты и их обсуждение. На основании анализа трехмерной модели комплекса ФНО- α с рецептором TNFRSF1B выделили участок аминокислотной последовательности, обеспечивающий наиболее тесный контакт между цитокином и рецептором. Выделенная аминокислотная последовательность была разделена на олигопептиды, потенциально способные к взаимодействию с ФНО- α . Для ФНО- α сконструировали и исследовали *in silico* 54 олигопептида (15 ди-, 14 три-, 13 тетра- и 12 пентапептидов).

Для определения оптимальной длины олигопептида использовалось сравнение результатов измерения свободной энергии связывания ФНО- α с ди- и трипептидами, три- и тетрапептидами, тетра- и пентапептидами (метод Манна – Уитни). Свободная энергия связывания, или энергия Гиббса – это та часть всей энергии системы, которую можно использовать для совершения максимальной работы. Чем больше модуль свободной энергии связывания, тем более стабильный комплекс образуется при связывании молекулы с лигандом.

Олигопептидами с минимальным модулем свободной энергии связывания являются дипептид Cys-Gly 4,25 (4,07;4,30); трипептид Glu-Cys-Leu 5,00 (4,92;5,10); тетрапептид Cys-Leu-Ser-Cys 5,10 (4,77;5,42); пентапептид Cys-Leu-Ser-Cys-Gly 5,30 (5,10;5,45). Олигопептидами с максимальным модулем свободной энергии связывания являются дипептид Trp-Asn 7,40 (6,95;7,80); трипептид Trp-Val-Pro 7,30(7,10;8,20); тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val 7,20 (7,10;7,50); пентапептид Leu-Trp-Asn-Trp-Val 7,45 (6,75;7,50) (табл.1).

Табл. 1. Значения минимальной и максимальной свободной энергии связывания ди-, три-, тетра-, пентапептидов с тримерной формой TNF- α

	Олигопептиды с минимальным модулем свободной энергии связывания, ккал/моль	Олигопептиды с максимальным модулем свободной энергии связывания, ккал/моль
Дипептид	Cys-Gly 4,25 (4,07;4,30)	Trp-Asn 7,40 (6,95;7,80)
Трипептид	Glu-Cys-Leu 5,00 (4,92;5,10)	Trp-Val-Pro 7,30 (7,10;8,20)
Тетрапептид	Cys-Leu-Ser-Cys 5,10 (4,77;5,42)	Trp-Asn-Trp-Val 7,20 (7,10;7,50)
Пентапептид	Cys-Leu-Ser-Cys-Gly 5,30 (5,10;5,45)	Leu-Trp-Asn-Trp-Val 7,45 (6,75;7,50)

Тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val является структурным аналогом цитокинсвязывающей области TNF α -R2 и формирует стабильный комплекс с максимальным значением модуля энергии связывания. Молекула тетрапептида имеет гидрофобные и гидрофильные участки. Гидрофобные участки имеют заряд. С помощью именно этих участков тетрапептид взаимодействует с ФНО- α (рисунок 1).

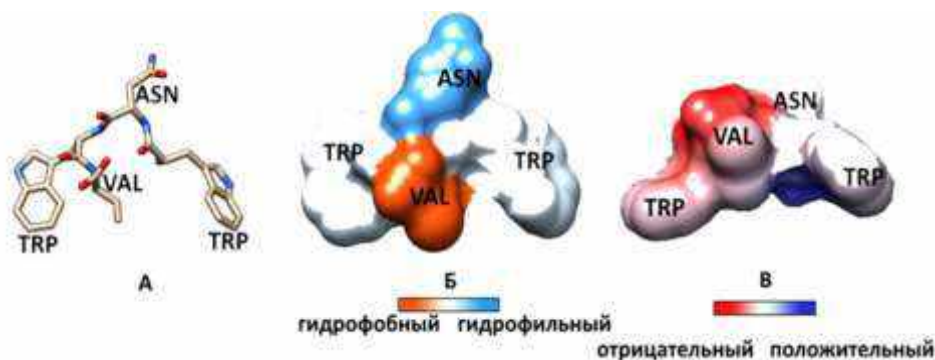


Рис. 1 – Молекулярные модели тетрапептида Trp-Asn-Trp-Val

При взаимодействии цитокина с олигопептидом место связывания его с мономерной формой ФНО- α находится в зоне межмолекулярного контакта цитокина и рецептора (рисунок 2).

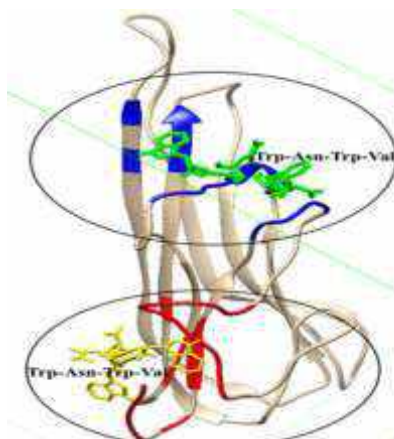


Рис. 2 – Комплекс мономера ФНО- α с Trp-Asn-Trp-Val

При взаимодействии с тримерной формой цитокина данный олигопептид встраивается в пространство между мономерными субъединицами ФНО- α (рисунок 3).

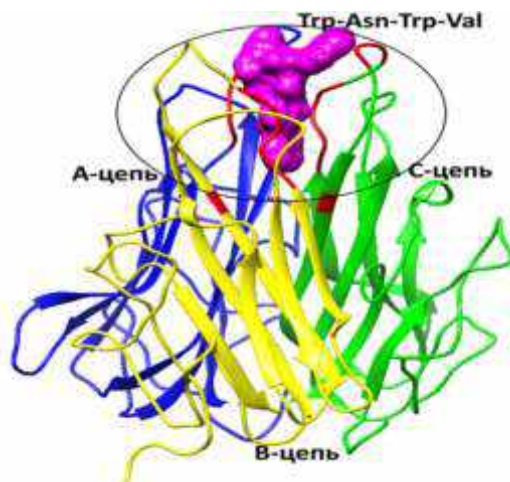


Рис. 3 – Комплекс тримера ФНО- α с тетрапептидом Trp-Asn-Trp-Val

Выводы: оценка эффективности связывания олигопептидов с ФНО- α позволила установить особенности взаимодействия олигопептидов с провоспалительными цитокинами и определить наиболее перспективные олигопептиды для дальнейшего исследования. Тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val, являющийся структурным аналогом цитоклинсвязывающей области TNFRSF1B среди всех исследуемых олигопептидов имеет максимальное по модулю значение свободной энергии связывания с ФНО- α $|7,2 (7,1; 7,5)|$ ккал/моль.

Литература

1. Aggarwal, B. B. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey/ B. B. Aggarwal, S. C. Gupta, J. H. Kim // Blood. – 2012. – Vol. 119, № 3. – P. 651-665.
2. Into the eye of the cytokine storm / J. R. Tisoncik, M. J. Korth, C. P. Simmons [et al.] // Microbiol. Mol. Bi-ol. Rev. – 2012. – Vol. 76, № 1. – P. 16-32.
3. Kang, S. TNF α and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s) / S. Kang, T. Kishimoto // Microscopy Research and Technique. – 2000. – Vol. 50. – P. 184-195.