

К.И. Гончарик
**IL-17-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ОСТЕОКЛАСТОГЕНЕЗ
В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИОДОНТИТА.
ИММУНОТЕРАПИЯ IN SILICO**

Научный руководитель: ассист. Ф.Д. Яковлев
Кафедра патологической физиологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

K.I. Hancharyk
**IL-17-MEDIATED OSTEOCLASTOGENESIS
IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC PERIODONTITIS.
IMMUNOTHERAPY IN SILICO**

Tutor: assistant F.D. Yakovlev
Department of Pathological Physiology
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В работе описывается сигнальный путь активации остеокластогенеза, опосредованного интерлейкином-17, и его значение в патогенезе периодонтита. Также представлены результаты молекулярного докинга между ИЛ-17 и антителами, смоделированными на основе соответствующего В-клеточного рецептора, которые позволяют предположить, что указанные антитела против ИЛ-17 могут быть эффективны в патогенетической терапии периодонтита.

Ключевые слова: интерлейкин, остеокластогенез, молекулярный докинг, периодонтит.

Resume. In the work was described the signaling pathway of activation of osteoclastogenesis mediated by interleykin-17 and its significance in the pathogenesis of periodontitis. The results of molecular docking between IL-17 and antibodies modeled on the basis of the corresponding B-cell receptor are also presented, which suggest that these antibodies against IL-17 can be effective in the pathogenetic therapy of periodontitis.

Keywords: interleukin, osteoclastogenesis, molecular docking, periodontitis.

Актуальность. Хронический периодонтит представляет собой распространенное инфекционно-воспалительное заболевание, которое часто встречается среди взрослого населения и пожилых людей. Согласно оценкам ВОЗ, тяжелая форма заболевания в настоящее время затрагивает до 19% населения мира [1]. Одним из наиболее серьезных и долгосрочных последствий хронического периодонтита является резорбция альвеолярной кости, что в конечном итоге приводит к расшатыванию и потере зубов. Недавние исследования отмечают важную роль гиперреактивности иммунной системы в патогенезе заболевания, что сопровождается повышенным уровнем экспрессии интерлейкина-17 (IL-17) [2].

Цель: выяснить роль IL-17 в патогенезе хронического периодонтита и в качестве перспективной мишени для соответствующей иммунотерапии.

Задачи:

1. Описать сигнальный путь трансформации моноцитов крови в остеокласты при активации интерлейкином-17.

2. Провести молекулярный докинг между белком-мишенью и предполагаемыми антителами для оценки перспективы их применения в терапии заболевания.

3. Оценить полученные значения с энергией связывания с эндогенным лигандом.

Материалы и методы. С использованием сайта IEDB для IL-17A были найдены 2 паратопа в составе В-клеточного рецептора. На основании полученных аминокислотных последовательностей с использованием веб-сервиса IMGT был осуществлен поиск подходящего гена, кодирующего тяжелую цепь потенциального антитела. Скрининг схожих последовательностей и моделирование соответствующих белков осуществлялось и использованием сервисом NCBI Blast и SwissModel. Для докинга целевого белка (PDB: 4HR9) и отобранных лигандов-антител использовалась программа HEX 8.0.0 [3].

Результаты и их обсуждение. Первопричинным этиологическим факторов в развитии периодонтита является развитие дисбактериоза с преобладанием патогенной микрофлоры в десневой борозде или при инфицировании периодонтальной связки при пульпите. В ответ на это развивается типовой патологический процесс – воспаление, направленное на элиминацию патогенного фактора, которое сопровождается увеличением продукции иммунокомпетентными клетками цитокинов, включая IL-6, TGF- β , IL-23. Последние играют важную роль в дифференцировке Th0 в Th17-клетки, которые в указанных условиях значительно увеличивают секрецию IL-17, приводя к развитию ряда патологических процессов [4]. IL-17 находится преимущественно в форме димера (в соответствии с субъединицами выделяют AA, BB, CC, EE, FF, AF; роль интерлейкина-DD и его механизмы действия остаются невыяснены). В контексте остеокластогенеза наибольшее значение имеют IL-17AA, IL-17AF, IL-17FF и соответствующий рецептор IL-17RA/C [5] (рис. 1).

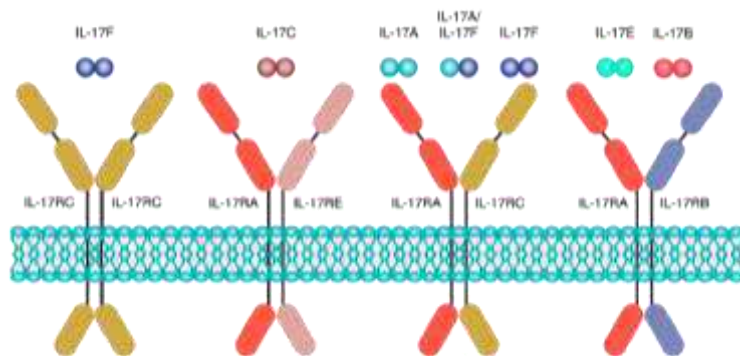


Рис. 1 – Многообразие интерлейкина-17 и его рецепторов

IL-17 связывается с соответствующей субъединицей А своего рецептора на поверхности моноцитов (макрофагов), после чего объединяется с субъединицей С, образуя гетеродимер. К данному комплексу рекрутируется и фосфорилируется белок Act1, активная форма которого является убиквитин-лигазой. Присоединяющийся впоследствии TRAF6 подвергается убиквитинированию по остатку Lys63, что

сопровождается фосфорилированием TAK1 (TGF- β -активируемая киназа 1), обладающей киназной активностью. Данная киназа приводит ковалентной модификации β -субъединицы ИКК-комплекса (ингибитор κ B-киназы) и I κ B (ингибитор NF- κ B). Присоединение фосфатной группы к последнему индуцирует его фосфорилирование с последующей протеосомальной деградацией репрессирующего фрагмента, что, в свою очередь сопровождается активацией транскрипции соответствующих генов. Кроме того, TAK1 активирует митоген-активируемые протеинкиназы: MAPK1, MAPK3, MAPK14, которые участвует в дерепрессии AP-1 (активирующий белок-1) и NfATc1 (ядерный фактор активации Т-клеток семейства C1). Транслокация указанных факторов в ядро индуцирует транскрипцию соответствующих генов, в частности RANK (рецептор активатора NF- κ B) [6, 7, 8, 9]. Рецепторы к IL-17 имеет ряд других клеток, включая остеобласты, в которых происходит усиление экспрессии RANKL. Взаимодействие последних с RANK (непрямое действие в механизме остеокластогенеза) на поверхности мононуклеарных фагоцитов дополнительно активирует сигнальные пути NF- κ B и MAPK, что приводит к их фенотипической поляризации в остеокласты, выживанию и активации процессов резорбции костной ткани [10] (рис. 2).

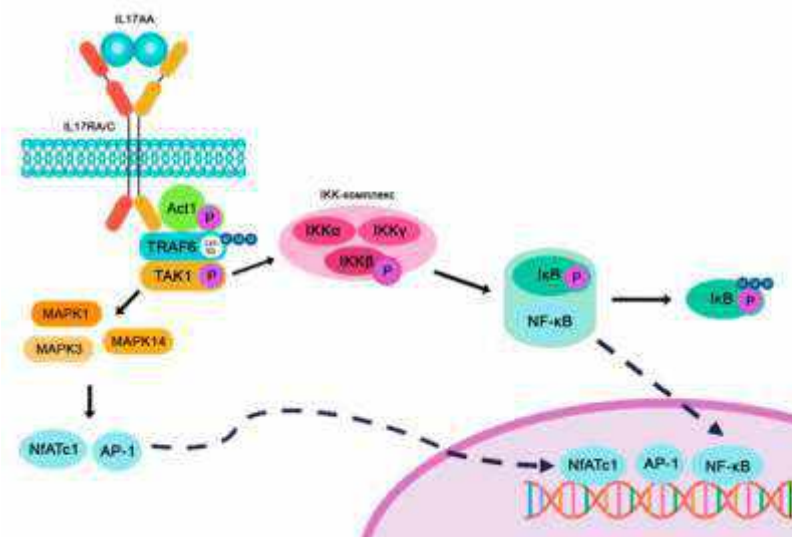


Рис. 2 – Сигнальный путь IL-17-опосредованной дифференцировки моноцитов/макрофагов в остеокласты

Одним из наиболее современных и активно развивающихся методов таргетного лечения является иммунотерапия с применением антител, обладающих высокой селективностью в отношении специфического лиганда. Для определения потенциальных белков-ингибиторов, структура В-клеточного рецептора к IL-17A была проанализирована для выявления фрагментов, вносящих наибольший вклад в межмолекулярные взаимодействия с соответствующим эндогенным лигандом. Таким образом, были выявлены следующие 2 аминокислотные последовательности: ARDLINGVTRN, QTYDPYSVV. На основании последних, с использованием веб-сервиса IMGT был осуществлен ретроспективный поиск гена, кодирующий структуру вариабельного V-домена тяжелой цепи IgG, имеющий соответствующую

нуклеотидную последовательность. С учетом полученной кодирующей цепи был проведен скрининг для выявления генов, имеющих при выравнивании наибольшую степень сходства. Таким образом были получены 52 различные нуклеотидные последовательности, которые были применены для построения белковых молекул с использованием веб-сервиса SwissDock в формате pdb., представляющих собой потенциальные антитела. Оценка энергии связывания при белок-белковых взаимодействиях между IL-17A и подходящими лигандами осуществлялась в программе HEX 8.0.0. При расчет энергии учитывались конформационные и электростатические взаимодействия между белками, а также DARS (позволяет сгенерировать наиболее вероятные варианты связывания на основании данных известных комплексов). В качестве ориентира для оценки полученных данных, использовались результаты, полученные при проведении докинга между IL17A и субъединицей А своего рецептора (-189,8 ккал/моль). Более высокая аффинность отмечалась у 4 белков: -190,99 ккал/моль (PDB: 4XHJ), -194,14 ккал/моль (PDB: 6RCV), -194,66 ккал/моль (PDB: 7PHU), максимальное значение – -218,9 ккал/моль (PDB: 7PS3) (рис. 3).

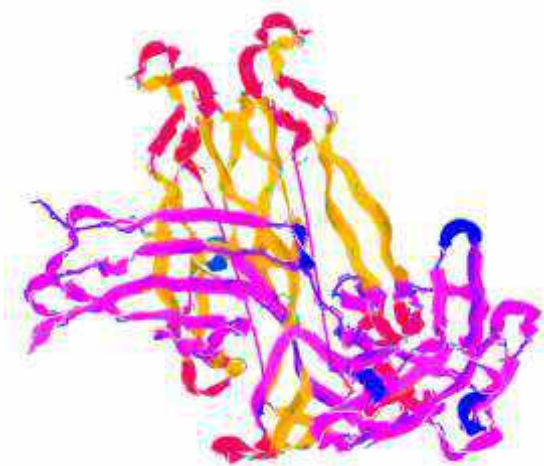


Рис. 3 – Комплекс IL-17/7PS3 (IL-17 – желто-малиновый; 7PS3 – фиолетово-синий), полученный при молекулярном докинге

Данные соединения потенциально могут оказывать ингибирующий эффект в отношении IL-17A, таким образом элиминируя патогенетический фактор при ряде аутоиммунных заболеваний, а также в случае хронического периодонтита.

Выводы:

1. IL-17 играет важную роль в дифференцировке моноцитов и макрофагов в остеокласты путем индукции NF-κB и MAPK-зависимых факторов транскрипции.
2. Различные звенья каскадного механизма передачи сигнала при активации данного процесса могут служить мишенями для дизайна соответствующих лекарственных средств. IL-17, а также его рецептор, могут использоваться в таргетной иммунотерапии с применением высокоселективных антител, о чем свидетельствует большее значение энергии связывания по сравнению с взаимодействием с эндогенным лигандом.

Литература

1. Oral health (who.int) [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – ВОЗ, 2023. – Режим доступа: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health#:~:text=Periodontal%20disease%20affects%20the%20tissues,loose%20and%20sometimes%20fall%20out> (дата обращения: 20.03.2023).
2. Kübra, B. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases [Текст]* / B. Kübra // Int J Mol Sci. – 2019. – № 20(14) – P. 3394.
3. Ritchie, D. W. Recent progress and future directions in protein-protein docking [Текст]* / D. W. Ritchie // Curr. Prot. Rep. Sci. – 2008. – № 9(1) – P. 1-15.
4. Niedźwiedzka-Rystwej, P. [Characteristics of T lymphocyte subpopulations] [Текст]* / P. Niedźwiedzka-Rystwej // Postepy Hig Med Dosw. – 2013. – № 67 – P. 371-379.
5. Loreto, A. IL-17; overview and role in oral immunity and microbiome [Текст]* / A. Loreto // Oral Dis. – 2017. – № 23(7) – P. 854-865.
6. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks [Текст]* / S. A. Dulshara, Y. Hyeongseok, K. Sumi et. al. // Immune Netw. – 2018. – № 18(1) – P. 1-8.
7. Interleukin-17 regulates the expressions of RANKL and OPG in human periodontal ligament cells via TRAF6/TBK1-JNK/NF-κB pathways [Текст]* / L. Danping, L. Li, S. Ying et. al. // Immunology. – 2015. – № 144(3) – P. 472-485.
8. Epithelial TRAF6 drives IL-17-mediated psoriatic inflammation [Текст]* / M. Reiko, D. Teruki, T. Soken et. al. // JCI Insight. – 2018. – № 3(15) – P. 1-15.
9. TRAF6/ERK/p38 pathway is involved in interleukin-17-mediated autophagy to promote osteoclast precursor cell differentiation [Текст]* / S. Yeqi, W. Zhongxiu, T. Jingyi et. al. // Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2021. – № 50(2) – P. 162-170.
10. Vanja, N. The RANKL-RANK Story [Текст]* / N. Vanja // Gerontology. – 2015. – № 61(6) – P. 534-542.