

Н.А. Лепиков, П.А. Семенович
**ОБ ОЦЕНКЕ УРОВНЯ АФФИННОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО
ПРЕПАРАТА ГЕНТИФИНИБА С РЕЦЕПТОРОМ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО
ФАКТОРА РОСТА НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ
МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

Научный руководитель: ст. преп. С.Н. Чепелев
Кафедра патологической физиологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

N.A. Lepikov, P.A. Semenovich
**ON THE ASSESSMENT OF THE LEVEL OF AFFINITY OF THE ANTI-TUMOR
DRUG GENTIFINIB WITH THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR
BASED ON THE USE OF MOLECULAR MODELING METHODS**

Tutor: senior lecturer. S.N. Chepelev
Department of Pathological Physiology
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Целью исследования явилась оценка изменений средства гентифиниба к белку-мишени рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) при наиболее распространенных вариантах одно аминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату. Выявлено, что наиболее распространённых одно аминокислотных замен в EGFR не оказывают существенного негативного влияния на средство белка к препарату.

Ключевые слова: гентифиниб, рецептор эпидермального фактора роста, аффинность, гомологичное моделирование, рак легкого.

Resume. The aim of the study was to evaluate changes in the affinity of gentifinib for the target protein of the epidermal growth factor receptor (EGFR) with the most common variants of single amino acid substitutions in its structure in order to search for possible molecular mechanisms for the formation of resistance to this drug. It was found that the most common single amino acid substitutions in EGFR do not have a significant negative effect on the affinity of the protein to the drug.

Keywords: gentifinib, epidermal growth factor receptor, affinity, homology modeling, lung cancer.

Актуальность. Рак легкого остается ведущей причиной смертности от рака среди мужчин и женщин в развитых странах мира [1]. На долю рака легкого ежегодно приходится около 2 миллионов диагнозов и 1,8 миллиона смертей [2]. Новообразование легких является вторым по частоте онкологическим диагнозом у мужчин и женщин (после рака предстательной железы и молочной железы соответственно) [2]. С расширением доступа к табаку и индустриализацией в развивающихся странах заболеваемость раком легких растет во всем мире. Средний возраст постановки диагноза – 70 лет [3]. У мужчин в два раза чаще диагностируют рак легких, что в значительной степени отражает различия в потреблении табака, хотя женщины могут быть более восприимчивы из-за более высокой доли мутаций рецепторов эпидермального фактора роста и эффектов эстрогена [2].

Рак легкого делится на два широких гистологических класса, которые растут и распространяются по-разному: мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) [1]. Большинство из них (85%) приходится на НМРЛ [4].

Варианты лечения рака легких включают хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию и таргетную терапию. Одним из наиболее эффективных подходов к терапии данного заболевания является применение химиотерапевтических препаратов [5]. Одним из таких препаратов является гентифиниб, в основе механизма действия которого лежит взаимодействие с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), участника туморогенеза [6, 7]. Гефитиниб представляет собой низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы рецептора EGFR [8]. Эффективность гефитиниба у пациентов отличается [9]. Предполагается, что EGFR в клетках опухоли подвергается мутационной изменчивости, что влияет на его связывание с препаратом [10]. Известно, что аминокислотная последовательность определяет все ключевые свойства белковой молекулы. Её изменения, как генеративные, так и соматические в определенной клеточной линии злокачественных новообразований, приводят к изменению структуры активных центров и участков связывания препаратов, что потенциально может изменить течение и исходы химиотерапевтического лечения.

Таким образом, представляет интерес проведение оценки изменения сродства противоопухолевого препарата гентифиниба к белку-мишени EGFR при наиболее распространенных вариантах одно аминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату.

Цель: оценить изменение сродства противоопухолевого препарата гентифиниба к белку-мишени EGFR при наиболее распространенных вариантах одно аминокислотных замен в его структуре для поиска возможных молекулярных механизмов формирования устойчивости к данному препарату.

Задачи:

1. Получить трехмерные модели EGFR, содержащие наиболее часто встречающиеся одно аминокислотные замены;
2. Оценить способность гентифиниба связываться с измененным EGFR;
3. Оценить возможное влияние мутаций на изменение сродства препарата к мишени.

Материалы и методы. В работе использовались методы гомологичного моделирования структуры мутантного белка при помощи программного обеспечения MODELLER (США) с последующим докингем спроектированных 3-х мерных структур. Создание мутантных аминокислотных последовательностей осуществлялось в киназном домене EGFR с последующей обработкой при помощи программного кода на основе языка программирования Python. Подготовка полученных гипотетических структурных моделей проводилась с помощью AutoDock Tools и PyMol. Докинг осуществлялся в AutoDock Vina.

Мутантные аминокислотные последовательности создавались на основе киназного домена EGFR дикого типа (PDB:3POZ), отделённого от лигандов и низкомолекулярных соединений при помощи PyMol. Отбор мутаций осуществлялся из базы данных COSMICv95. Молекула была подобрана в открытой базе данных химических соединений PubChem с последующей обработкой в OpenBabel.

Результаты и их обсуждение. На основании гомологичного моделирования было получено 9 трёхмерных структур одно аминокислотных замен EGFR. В ходе докинга данных белков с молекулой гентифиниба были получены конформации белка-лиганда с наиболее отрицательными значениями изменения свободной энергии Гиббса (таблица 1).

Табл. 1. Изменение свободной энергии Гиббса при связывании вариантов EGFR с гентифинибом

Мутация	Максимальное изменение энергии Гиббса	Минимальное значение	Среднее значение энергии Гиббса
дикий тип	-8,5	-7.6	-7,94
T790M	-8,1	-7,5	-7,78
L858R	-7.9	-7.0	-7.3
G719A	-8.6	-8.0	-8.33
G719C	-9.1	-7.5	-8.188
G719D	-8.6	-6.8	-7.488
G179S	-8.8	-7.4	-8.122
L861Q	-8.1	-6.9	-7.355
L861R	-8.7	-7.4	-7.944

На основании полученных данных был составлен график изменения свободной энергии Гиббса при связывании молекулы гентифиниба с различными вариантами EGFR (рисунок 1).

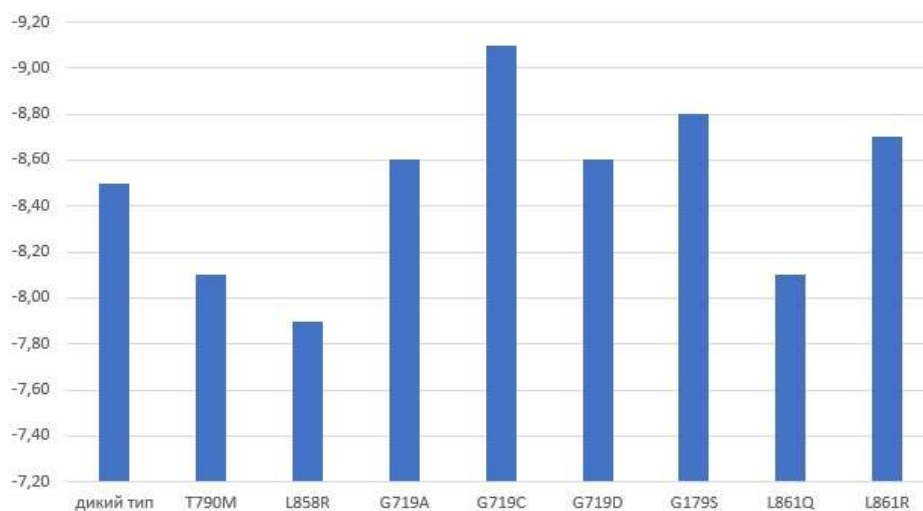


Рис. 1 – Диаграмма максимального изменения свободной энергии Гиббса при связывании различных вариантов EGFR с гентифинибом

В дальнейшем полученные данные были сопоставлены с имеющейся информацией в научной литературе по устойчивости данных мутаций к ингибиторам протеинкиназ, в частности гентифинибу.

В ходе докинга молекул вариантов EGFR с гентифинибом средние, минимальные и максимальные значения изменения свободной энергии Гиббса незначительно отличались от результатов докинга белка дикого типа. Однако данный вариант аминокислотных замен EGFR в научной литературе известен как вызывающий резистентность клеток плоскоклеточного рака легкого к гентифинибу.

На основании этих данных нами было выдвинуто предположение о вероятной причине расхождения данных докинга и литературы.

Мы провели второй раунд докинга, используя АТФ – конкурентный субстрат за активный центр киназного домена EGFR с гентифинибом.

Было показано, что T790M имеет на 11% большее сродство к АТФ, чем молекула дикого типа.

Выводы:

1. Большинство наиболее распространённых одно аминокислотных замен в EGFR не оказывают существенного негативного влияния на сродство белка к препарату;

2. Мутации группы G719 повышает сродство к гентифинибу;

3. Мутация рецептора T790M сопровождается снижением его сродства к гентифинибу;

4. Механизм такого взаимодействия, согласно полученным нами данным, заключается в повышенном связывании рецептором АТФ. Последний конкурирует с гентифинибом за центр связывания в EGFR.

Литература

1. Lung cancer: Biology and treatment options / H. Lemjabbar-Alaoui [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2015. – Vol. 1856, № 2. – P. 189–210.

2. Epidemiology of lung cancer / K. C. Thandra [et al.] // *Contemp Oncol (Pozn)*. – 2021. – Vol. 25, № 1. – P. 45–52.

3. Sharma, R. Mapping of global, regional and national incidence, mortality and mortality-to-incidence ratio of lung cancer in 2020 and 2050 / R. Sharma // *Int J Clin Oncol*. – 2022. – Vol. 27, № 4. – P. 665–675.

4. Abandoning the Notion of Non-Small Cell Lung Cancer / V. Relli [et al.] // *Trends Mol Med*. – 2019. – Vol. 25, № 7. – P. 585–594.

5. Mithoowani, H. Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology / H. Mithoowani, M. Febbraro // *Curr. Oncol*. – 2022. – Vol. 29, № 3. – P. 1828–1839.

6. The Role of Gefitinib in Patients with Non-small-cell Lung Cancer in India / A. A. Mehta [et al.] // *Indian J Palliat Care*. – 2013. – Vol. 19, № 1. – P. 48–53.

7. Tumor response and health-related quality of life in clinically selected patients from Asia with advanced non-small-cell lung cancer treated with first-line gefitinib: post hoc analyses from the IPASS study / Y. L. Wu [et al.] // *Lung Cancer*. – 2013. – Vol. 81, № 2. – P. 280–287.

8. Gefitinib as first-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer with activating epidermal growth factor receptor mutation: Review of the evidence / C. Gridelli [et al.] // *Lung Cancer*. – 2011. – Vol. 71, № 3. – P. 249–257.

9. Gefitinib: An Updated Review of its Role in the Cancer Management, its Nanotechnological Interventions, Recent Patents and Clinical Trials / P. Kumar [et al.] // *Recent Pat Anticancer Drug Discov*.

– 2023. – Vol. 18, № 4. – P. 448–469.

10. Furmonertinib (AST2818) versus gefitinib as first-line therapy for Chinese patients with locally advanced or metastatic EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (FURLONG): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 study / Y. Shi [et al.] // *Lancet Respir Med.* – 2022. – Vol. 10, № 11. – P. 1019–1028.