

порфириновых конъюгатов с моноклональными антителами и радиоактивными металлами можно использовать для лечения опухолей, путем выборочного облучения необходимых малигнизированных тканей.

Таким образом с использованием твердофазного конкурентного иммунохимического анализа определены константы взаимодействия полученных палладий-порфириновых конъюгатов с антигеном и установлено, что параметры антигенного связывания всех конъюгатов превосходят параметры взаимодействия с антигеном нативных моноклональных антител HSF 102 в 4–7 раз.

Определена оптимальная глубина модификации моноклональных антител при использовании данного модификатора, которая составляет 1 молекулу модификатора на одну молекулу иммуноглобулина.

Полученные модифицированные N-оксисукцинимидным эфиром Pd(II)капропорфирина I антитела, представляют собой иммунохимические реагенты с антигенсвязывающей активностью, увеличенной в результате возрастания конформационной подвижности всей молекулы антитела.

Функциональная активация антител при их модификации наилучшим образом отвечает целям получения порфириновых конъюгатов антител с максимальной иммунореактивностью и дает значительные преимущества при биомедицинском использовании таких конъюгатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Aguilar-Ortíz E. Porphyrins as Ligands: Background and Trends/ Aguilar-Ortíz E, Jalilian A, Avila-Rodriguez MA// Medicinal Chemistry Community. 2018. P. 1–5.*
2. *Banfi S. Photodynamic effects of porphyrin and chlorin photosensitizers in human colon adenocarcinoma cells / Banfi S, Caruso E, Caprioli S // Bioorganic and Med Chemistry. 2004.*
3. *Malatesty N. Synthesis and in vitro investigation of cationic 5,15-diphenyl porphyrin-monoclonal antibody conjugates as targeted photodynamic sensitizers / Malatesty N [et al] // International journal of Oncology. 2005. P. 1561–1568.*
4. *Smith K. Mono- and tri-cationic porphyrin-monoclonal antibody conjugates: photodynamic activity and mechanism of action / K. Smith [et al] // Immunology. 2010. P. 256–265.*
5. *Staneloudi C. Development and characterization of novel photosensitizer: scFv conjugates for use in photodynamic therapy of cancer / Staneloudi C [et al] // Immunology. 2007. 514–517 p.*

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСА P2Y12 РЕЦЕПТОРА ЧЕЛОВЕКА С МОЛЕКУЛОЙ R-138727

MOLECULAR MODELING OF THE P2Y12 COMPLEX OF HUMAN RECEPTOR WITH R-138727 MOLECULE

А. А. Морозова, А. В. Бакунович
A. A. Morozova, A. V. Bakunovich

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ
г. Минск, Республика Беларусь
a.a.morozova22@gmail.com

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus
a.a.morozova22@gmail.com

Ведущей причиной смерти человека во всем мире является атеротромбоз различной локализации. Ключевым моментом в борьбе с данной патологией является назначение антиагрегантов. Данные лекарственные средства отличаются между собой по механизму ингибирования активности тромбоцитов. Прасугрел - антиагрегант класса тиенопиридинов, является сильным ингибитором активации и агрегации тромбоцитов, опосредованной тромбоцитарными АДФ-рецепторами класса P2Y12.

The leading cause of human death throughout the world is atherosclerosis of various localization. The key point in the fight against this pathology is the appointment of antiplatelet agents. These drugs differ from each other in the mechanism of inhibiting platelet activity. Prasugrel, an antagonist of the thienopyridine class, is a potent inhibitor of platelet activation and aggregation mediated by platelet ADP receptors of the P2Y12 class.

Ключевые слова: прасугрел, P2Y12, агрегация тромбоцитов.

Keywords: Prasugrel, P2Y12, platelet aggregation.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-76-79>

Антиагреганты – лекарственные средства, препятствующие тромбообразованию за счет уменьшения функциональной активности тромбоцитов.

Существует около 20 препаратов, которые, действуют различными способами и подавляют агрегацию тромбоцитов. К основным антиагрегантным препаратам, показавшим свою эффективность в клинических испытаниях, а также широко применяемым в клинической практике, относят ацетилсалициловую кислоту, тиенопиридины и блокаторы гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов.

Производные тиенопиридина проявляют антитромбоцитарные свойства путем подавления агрегации тромбоцитов, инициируемой аденоzinидифосфатом (АДФ). АДФ выходит из тромбоцитов и в процессе их активации и взаимодействует с двумя типами рецепторов на поверхности тромбоцитов: P2Y1, P2Y12. Активация P2Y1-рецепторов способствует изменениям формы тромбоцитов, активация P2Y12-рецепторов поддерживает активность гликопротеиновых рецепторов и стимулирует агрегацию тромбоцитов.

Начало действия тиенопиридинов отсроченное. Это связано с необходимостью их превращения в области печени в активные метаболиты, которые осуществляют воздействие на тромбоциты.

P2Y1-подобные рецепторы, сгруппированные вокруг предполагаемого положения отрицательно заряженной фосфатной группы агониста АДФ. P2Y12R регулирует активацию тромбоцитов и образование тромбов, а также несколько антитромботических препаратов, нацеленных на P2Y12R, включая пролекарства клопидогрел и прасугрел, которые метаболизируются и ковалентно связываются.

Действие прасугрела обусловлено необратимым связыванием его активного метаболита с тромбоцитарными АДФ-рецепторами класса P2Y12.

P2Y12R человека содержит 342 аминокислотных остатка в том числе 4 внеклеточных остатка Cys в положениях 17, 97, 175 и 270. Cys 97 и Cys 175 связаны дисульфидным мостиком и важны для рецепторной экспрессии [1]. Имеются два потенциальных N-связанных сайта гликозилирования на внеклеточном амино-конце, которые могут модулировать его активность. Большинство из семи трансмембранных спиралей P2Y12R не перпендикулярны плоскости мембраны, и могут быть наклоненными или изогнутыми. В свою очередь, VIII карбоксиконцевая спираль параллельна липидному бислою мембраны [2].

Прасугрел является пролекарством, которому необходимо ферментативное преобразование в печени в его активный метаболит R-138727. R-138727 необратимо связывается с рецепторами АДФ типа P2Y12 на тромбоцитах, предотвращая активацию рецепторного комплекса GPIb / IIIa. Абсорбция и метаболизм после приема внутрь проходят быстро, составляя 79% и более. Максимальная концентрация активного метаболита в плазме крови достигается примерно через 30 мин после приема препарата.

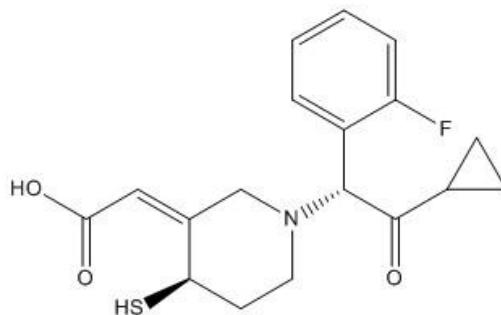


Рис. 1 – Химическая структура активного метаболита прасугрела (R-138727)

Прасугрел не определяется в плазме после приема внутрь. Он быстро гидролизуется в кишечнике до тиолактона, который затем превращается в активный метаболит. Активный метаболит подвергается дальнейшей биотрансформации путем S-метилирования или конъюгации с цистеином с образованием 2 неактивных соединений. Активный метаболит прасугрела быстро появляется в крови после приема внутрь, заметный эффект проявляется через 15 мин. со средним временем для достижения 20% ингибиции тромбоцитов агрегация через 30 мин после введения. Максимальный эффект прасугрела наступает через 1 час. Стат составляют около 500 нг/мл⁻¹ после ударной дозы 60 мг. Подавление агрегации тромбоцитов достигает устойчивого состояния через 2–4 дн. Метаболит выводится в виде неактивных метаболитов приблизительно 68% дозы с мочой и 27% – с калом. Период полувыведения активного метаболита составляет около 7,4 ч (2–15 ч).

Для визуализации результатов использованы химические пакеты ChemOffice2016, Molinspiration, PrankWeb, Molegro Virtual Docker.

Для молекулярного моделирования использовали 3D структуру рецептора P2Y12 (pdb 4NTJ) человека полученную методом рентгеноструктурного анализа. Из указанной структуры удаляли молекулы воды и фосфат-ионы и в расчетах учитывались только координаты атомов белковой части P2Y12R.

Для устранения недочетов модели молекулы R-138727 выполнялся расчет минимизации энергии в среде MM2 до достижения глобального минимума полной энергии. MM2 чаще всего рекомендуется для расчета свойств небольших органических моделей.

С помощью интернет ресурса Molinspiration рассчитаны: объем молекулы, площадь молекулярной полярной поверхности, модулятор ионного канала, ингибитор киназы, протеазы, ингибитор фермента.

Для предсказания сайтов связывания лиганда и его непосредственного визуального анализа использовали веб-серверную программу PrankWeb [3]. Моделирование молекулярного докинга осуществлялось с помощью пакета 1-Click Docking сервера MCULE.

Molegro Virtual Docker использовали для изучения и анализа взаимодействия R-138727 с P2Y12R путем и визуализации модели, определения активных центров и связывания с лигандом, а также оценки связей между ними.

Оптимизация молекулы R-138727 (активного метаболита прасугрела) осуществлялась в силовом поле MM2. При этом, показатели оптимизированной молекулы составили: для дальних сил ван-дер-Ваальса – -3.4972; для сил ван-дер-Ваальса разделенных двумя атомами – 16.7145. Энергия диполь/дипольных взаимодействий составила 2.7509. А общая энергия оптимизированной молекулы R-138727 составила 26.3669 kcal/mol.

С помощью программы PrankWeb было обнаружено 5 сайтов связывания в молекуле P2Y12, которые были ранжированы по активности и вероятности связывания. Самый активный сайт (из 5 обнаруженных) имеет соответственно значения 6,32 и 0,178. Данный сайт находится в пределах данных аминокислот: SER 101; VAL 102; TYR 105; PHE 106; TYR 109; LEU 155; SER 156; ASN 159; HIS 187; VAL 190; ASN 191; CYS 194; GLN 195; PHE 252; ALA 255; ARG 256; TYR 259; LYS 280; GLN 98; GLY 1064; PHE 1065; ILE 1072; LYS 1095.

Молекулярный докинг молекулы R-138727 с P2Y12 рецептором представлен на рисунке 2.

Анализ полученной молекулярной модели взаимодействия R-138727 с P2Y12R показал, что молекула R-138727 способна формировать водородные связи с HIS 187 и GLN 98, а также стерические взаимодействия с LYS 280; TYR 105; SER 101; THR 76; THR 100; PHE 104; LYS 80; TYR 32; LEU 284; GLU 281; SER 83; CYS 97; ASP 84 (рисунок 3).

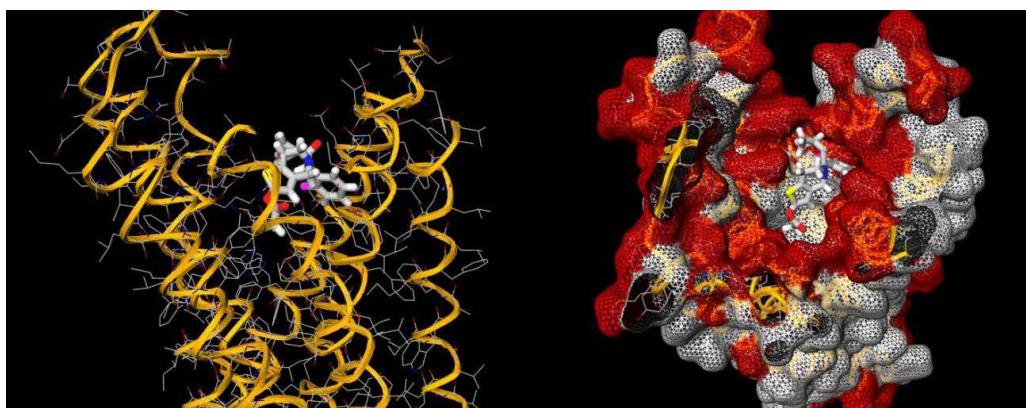


Рис. 2 – Молекулярная модель комплекса P2Y12 рецептора человека с молекулой R-138727

Оценка связей между P2Y12 рецептором человека и молекулой R-138727 показала, что суммарная энергия атомов равна -77,045. Энергия водородных связей и сильных электростатических взаимодействий составила -0,606. Длина – 3.47882 Å. Энергия взаимодействия рецептора с лигандом – -76,737. А общая энергия системы составила – -69.742.

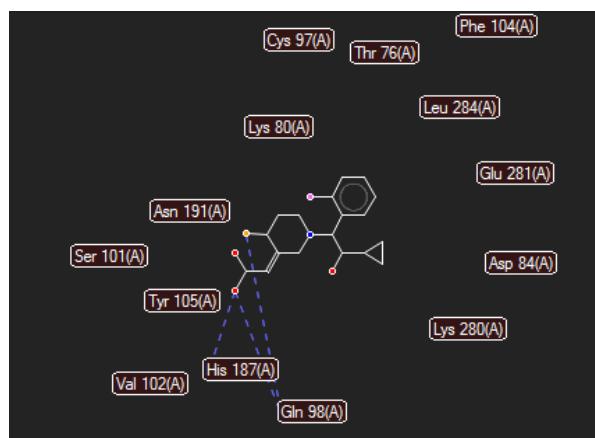


Рис. 3 – водородные и стерические взаимодействия молекулы R-138727 в активном центре P2Y12R

Оценка биоактивности метаболита прасугрела R-138727

Лекарственное сходство определяется сложным балансом различных молекулярных свойств и особенностей структуры, которые определяют, будет ли конкретная молекула является сходной с известными лекарственными средствами. К таким свойствам относится гидрофобность, электронное распределение, характеристики водородных связей, размер и гибкость молекул и, конечно же, наличие различных фармакофорных свойств влияют на

поведение молекулы в живом организме, включая биодоступность, транспортные свойства, сродство к белкам, реактивность, токсичность, метаболическую стабильность и многие другие.

Оценка биоактивности препаратов основывается на коэффициентах ресурса Molinspiration. Так, если значение коэффициента меньше 0 – это говорит о том, что активность соединения низкая; значение от 0 до 0,2 – средняя, от 0,2 и выше – высокая.

Анализ структуры метаболита прасугрела показал, что R-138727 имеет низкую активность в качестве, ингибитора киназ и модулятора ионного канала, составляющие соответственно -0.24 и -0.13. Как лиганд рецепторов, сопряжённых с G-белком, ингибитор протеаз и ингибитор ферментов молекула имеет среднее значение, составляя 0.15, 0.19, 0.10 соответственно.

Из литературных данных известно, что антиагрегантный препарат прасугрел является пролекарством и быстро метаболизируется в печени до активного метаболита – R-138727. При молекулярном моделировании метаболита с P2Y12 рецептором человека была подтверждена его способность связываться в активном центре фермента. Данное исследование подтверждает, что метаболит R-138727 обладает биоактивностью в организме человека, а также возможность использования прасугрела в качестве антитромбического препарата для профилактики атеротромбических осложнений, инфаркта миокарда, инсульта и других заболеваний сердечно-сосудистой системы связанных с повышенной реактивностью тромбоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cattaneo. M. The platelet P2Y12 receptor for adenosine diphosphate: congenital and drug-induced defects / M.Cattaneo // Blood. – 2011. – Vol. 117, № 7. – P. 2102–2112.
2. Zhong X. N-linked glycosylation of platelet P2Y12 ADP receptor is essential for signal transduction but not for ligand binding or cell surface expression / X. Zhong [et al.] // FEBS Lett. – 2004. – Vol. 562, iss. 1-3. – P. 111-117.
3. Jendele, L. PrankWeb: a web server for ligand binding site prediction and visualization / L. Jendele [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47, iss. 1. – P. 345-349.

THE COMPARISON OF INTRAEPITHELIAL LYMPHOCYTES IN SMALL AND LARGE INTESTINE OF CROHN'S DISEASE PATIENTS

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ТОНКОЙ И ТОЛСТОЙ КИШКИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

A. Mohammad¹, A. Starastsin², D. Nizheharodava^{1,2}

A. Мухаммед¹, А. Старостин², Д. Нижегородова^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь
alijassim419@gmail.com

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

The changes in intraepithelial lymphocytes phenotype of the small and large intestine were established in patients with Crohn's disease what may be used as a hallmark of immune inflammation in the gut and make intraepithelial lymphocytes ideal candidate for targeting in further immunoregulation of mucosal adaptive immune response against autoantigens.

У пациентов с болезнью Крона установлены фенотипические изменения интраэпителиальных лимфоцитов тонкой и толстой кишки, что может являться биомаркером иммунного воспаления в желудочно-кишечном тракте и позволяет рассматривать интраэпителиальные лимфоциты в качестве терапевтической мишени при иммунорегуляции адаптивного мукозального иммунного ответа на аутоантигены.

Ключевые слова: Интраэпителиальные лимфоциты, тонкая кишка, толстая кишка, Болезнь Крона, аутоиммунное воспаление.

Keywords: Intraepithelial lymphocytes, small intestine, colon, Crohn's disease, autoimmune inflammation.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-79-82>

Introduction. Intestinal intraepithelial lymphocytes (IELs) are a heterogeneous population of lymphoid cells, which localizes between the intestinal epithelial cells that form the intestinal mucosal barrier. IELs distributed in the small intestine and large intestine; the small intestine contains at least ten times more IELs than the colon. The classification of IELs