

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЛАВОНОИДА КВЕРЦЕТИНА С TOLL-ПОДОБНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Зайцев В. Г.¹, Желтова А. А.², Никоненко А. А.¹

¹ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет»; ²ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Волгоград, Россия

Проведено молекулярное моделирование связывания кверцетина с внутри- и внеклеточными доменами Toll-подобных рецепторов человека (TLR1-TLR10). Показано, что у различных типов TLRs предполагаемые участки предпочтительного связывания кверцетина локализованы либо во внеклеточном (TLR4, TLR5, TLR7, TLR8), либо в цитозольном домене (TLR1·TLR2, TLR2·TLR6).

Ключевые слова: регуляция иммунного ответа, Toll-подобные рецепторы, флавоноиды, кверцетин, докинг

Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLRs) играют важную роль в развитии и регуляции иммунного ответа, обеспечивая распознавание разнообразных антигенов (липолисахариды, пептидогликаны, пептиды, РНК и ДНК) и последующую активацию клеток иммунной системы. В ходе TLR-зависимой активации клетки секретируют различные цитокины и приобретают способность к эффективной презентации антигенов и активации Т-клеток. Фактически, TLRs выполняют ключевую регуляторную роль во врожденном и приобретенном иммунитете. Изменения в активности TLR-зависимых сигнальных систем могут быть связаны с различными заболеваниями, поэтому их ингибиторы и активаторы рассматриваются в качестве перспективных фармакологических агентов. В частности, полагают, что лиганды TLRs и соответствующих сигнальных киназ могут быть использованы для лечения инфекционных, аутоиммунных, сердечно-сосудистых, респираторных и онкологических заболеваний [1].

Перспективным источником поиска модуляторов активности TLR-зависимых сигнальных путей являются соединения природного происхождения [2], в частности, флавоноиды, поступающие в организм человека с растительной пищей [3]. Кверцетин, один из самых широко распространенных флавоноидов, в экспериментах продемонстрировал способ-

ность влиять на клеточный ответ, опосредуемый по крайней мере четырьмя типами TLRs (из одиннадцати, обнаруженных у человека). В то же время, механизм действия кверцетина (как и других флавоноидов) остается в значительной мере невыясненным [4]. Эта проблема связана как со способностью флавоноидов воздействовать одновременно на различные мишени из состава TLR-зависимых сигнальных путей [3], так и с определенными сложностями установления молекулярных механизмов действия флавоноидов на клеточном уровне.

Целью нашей работы было предсказать вероятность непосредственного взаимодействия флавоноида кверцетина с различными типами TLRs человека, используя молекулярное моделирование взаимодействия между белком и низкомолекулярным лигандом (докинг).

Несмотря на широкое применение докинга в современных исследованиях, этот подход не гарантирует хорошего согласия между результатами молекулярного моделирования и реальным взаимодействием между белком и лигандом, а сами результаты моделирования могут зависеть от многих факторов, включая используемый расчетный алгоритм [5]. Для уменьшения вероятности артефактов, связанных с особенностями алгоритмов моделирования, мы проводили докинг одних и тех же пар белок-лиганд с помощью Autodock Vina (из пакета ADT4) и EAdock DSS (через

онлайн-сервис SwissDock). Моделирование производилось как с запретом, так и с разрешением конформационных изменений лиганда и ключевых аминокислот белка (rigid- и flexible-моделирование). Для оценки величин показателей скоринга, соответствующих эффективному связыванию, проводили редокинг комплексов кверцетин-белок, для которых доступны данные рентгеноструктурного анализа (РСА) (1E8W, 2O3P, 3LM5, 4LMU, 5AUW). В качестве критического значения выбирали наименьшую среди всех комплексов величину скоринг-функции, при которой для каждой конкретной программы с определенными настройками лиганд помещался в позицию, максимально близкую к рассчитанной из данных РСА.

Докинг кверцетина в TLRs человека (TLR1-TLR10) проводили изолированно для внеклеточного домена и для цитозольного TIR-домена. Для пространственных моделей TLRs (или их отдельных доменов) использовали данные РСА, доступные через сервис Uniprot, а в случае отсутствия таковых модели формировали с помощью соответствующих инструментов сервиса SwissModel, используя в качестве шаблона TLRs с известной конформацией. Дополнительно учитывался факт наличия рецепторной активности *in vivo* у некоторых типов TLRs только в составе гетеродимеров (TLR1·TLR2, TLR2·TLR6). В качестве виртуального эталона моделирования использовали докинг белкового комплекса TLR4·MD2 с соединением CLI-095, являющимся специфическим блокатором цитозольного домена TLR4.

Результаты докинга в Vina показывают, что наиболее вероятно высокоэффективное связывание кверцетина с TIR-доменом TLR1, TLR2, TLR6, TLR7, TLR8; EAdock DSS предсказывает эффективное связывание с цитозольным доменом TLR2, TLR5, TLR7, TLR8. Докинг с допустимой конформационной подвижностью (flexible) давал более высокие величины скоринг-функций. В случае TLR4 расчетные величины скоринг-функции для кверцетина оказа-

лись выше, чем для специфического ингибитора этого рецептора CLI-095. По данным молекулярного ингибирования кверцетин и CLI-095 взаимодействуют с несовпадающимися и перекрывающимися участками TLR4, что согласуется с экспериментальными данными об аддитивном ингибировании TLR4-зависимого сигнального пути этими веществами [4].

Результаты моделирования связывания кверцетина с различными доменами TLRs позволяют предполагать, что для части рецепторов более вероятным является связывание с внутриклеточными доменами (TLR1·TLR2, TLR2·TLR6), а для других – с внеклеточными доменами (TLR4, TLR5, TLR7, TLR8). Наиболее высокую аффинность внеклеточных доменов TLRs по отношению к кверцетину по результатам докинга можно предполагать у TLR7 и TLR8.

Таким образом, использование методов молекулярного докинга позволило предположить наиболее вероятные участки связывания кверцетина с внутри- и внеклеточными доменами различных типов TLRs человека. Показано, что, в зависимости от типа TLR, более вероятно связывание кверцетина с внутриклеточным или с цитозольным доменом рецептора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tartey S., Takeuchi O. Pathogen recognition and Toll-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells. *Int. Rev. Immunol.* 2017, 36(2), 57-73.
2. Chen L., Yu J. Modulation of Toll-like receptor signaling in innate immunity by natural products. *Int. Immunopharmacol.* 2016, 37, 65-70.
3. Pérez-Cano F.J., Massot-Cladera M., Rodríguez-Lagunas M.J., Castell M. Flavonoids affect host-microbiota crosstalk through TLR modulation. *Antioxidants (Basel)* 2014, 3(4), 649-670.
4. Bhaskar S., Helen A. Quercetin modulates toll-like receptor-mediated protein kinase signaling pathways in oxLDL-challenged human PBMCs and regulates TLR-activated atherosclerotic inflammation in hypercholesterolemic rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2016, 423(1-2), 53-65.
5. Chen Y.C. Beware of docking! *Trends Pharmacol. Sci.* 2015, 36(2), 78-95.

MOLECULAR MODELLING OF FLAVONOID QUERCETIN TARGETING TO THE TOLL-LIKE RECEPTORS

Zaitsev V. G.¹, Zheltova A. A.², Nikonenko A. A.¹

¹Volgograd State University; ²Volgograd State Medical University,
Volgograd, Russia

Molecular modelling of quercetin targeting to the extracellular and cytosolic domains of human Toll-like receptors (TLR1-TLR10) was performed. We showed that quercetin can be targeted to various TRLs preferably either in extracellular domain sites (TLR4, TLR5, TLR7, TLR8) or in cytosolic domain sites (TLR1·TLR2, TLR2·TLR6).

Key words: immunoregulation, Toll-like receptors, flavonoids, quercetin, docking

ХОРИОНИЧЕСКИЙ ГОНАДОТРОПИН В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ

Заморина С. А.^{1,2}

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; ²Пермский
государственный национальный исследовательский университет,
Пермь, Россия

Изучали влияние хорионического гонадотропина (ХГ) на апоптоз и продукцию IL-10 и TGF- β 1 изолированными пулами естественных Т-регуляторных лимфоцитов (nTreg, CD4⁺CD25^{bright}) и предшественниками адаптивных Treg (aTreg, CD4⁺CD25⁻) в системе *in vitro*. В итоге, мы продемонстрировали, что ХГ индуцирует апоптоз nTreg, и препятствует апоптозу aTreg, не влияя на продукцию IL-10 и TGF- β 1 этими клетками.

Ключевые слова: хорионический гонадотропин (ХГ), Т-регуляторные лимфоциты (Treg), TGF- β 1, IL-10, апоптоз

Плацентарный гормон хорионический гонадотропин (ХГ) обладает плейотропными эффектами, реализуемыми, в том числе и на уровне иммунной системы. Максимальная концентрация ХГ во время беременности (~100 МЕ/мл) совпадает с экспрессией антигенов МНС I класса эмбриональными клетками (I триместр), распознавание которых приводит к процессам иммунного отторжения. Известно, что полиморфизмы в структуре генов (CGB5 и CGB8) β -субъединицы ХГ связаны с повторяющимися самопроизвольными абортами [1]. Некоторые миссенс-мутации в структуре этих генов приводят к потере биологической активности ХГ, вследствие чего у носительниц таких миссенс-мутаций в анамнезе верифицируются повторяющиеся самопроизвольные аборт [1].

В целом, ХГ считается одним из основных факторов, формирующих иммунную толерантность во время беременности [2]. Иммунная толерантность тесно ассоциирована с активностью Т-регуляторных лимфоцитов (Treg), которые позиционируются как истинные иммуносупрессоры. Известно, что ХГ повышает содержание Treg на периферии, и привлекает их непосредственно в зону фето-плацентарного взаимодействия [3]. В отношении Treg ранее нами было установлено, что ХГ индуцирует генерацию адаптивных Treg (aTreg) и их функциональную активность, ассоциированную с экспрессией CTLA-4 в культуре активированных CD4⁺-клеток [4]. Однако, эффекты гормона на уровне изолированных культур естественных Treg (nTreg) ранее не изучались.