

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ ЛИГАНДНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛАКТАТА

В.И. Кузьмичева

аспирант,
кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой,
Самарский государственный медицинский университет
E-mail: bio-sam@yandex.ru

Ф.Н. Гильмиярова

засл. деятель науки РФ, д.м.н., профессор,
кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой,
Самарский государственный медицинский университет

Е.В. Авдеева

д.фарм.н., профессор,
кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
Самарский государственный медицинский университет

Актуальность. Изучение взаимодействий между белками и малыми молекулами является актуальным направлением современной фундаментальной науки. Расширение знаний в этой области во многом связано с появлением возможностей моделирования биологической активности соединений *in silico*.

Цель исследования – определить потенциальных белковых партнеров взаимодействия для лактата с применением компьютерной среды STITCH 5.0.

Методы. Для прогнозирования белковых партнеров лактата использована программа STITCH (<http://stitch.embl.de/>). Данная программа строит прогноз в отношении возможного взаимодействия с белками с помощью математического алгоритма, основанном на расчете константы ингибирования, используя при этом информацию, находящуюся в открытых библиотеках химических структур. Содержит 430 000 химических соединений, 9 600 000 белков, 2031 модельный организм. Выбрано графическое отображение полученных результатов в зависимости от аффинитета связи, со степенью вероятности $P_a > 0,5$.

Результаты. Выявлено 367 потенциальных белковых партнеров лактата. Предсказана возможность интермедиата взаимодействовать с митохондриальным переносчиком пирувата, аквапоринами, влиять на передачу гормонального сигнала и нервного импульса, оказывать нейпротекторное действие.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют об обширной неметаболической роли лактата в регуляции различных биологических процессов, что определяет новые подходы к формированию экспериментальных моделей для подтверждения прогнозируемых эффектов.

Ключевые слова: лактат, *in silico*, STITCH, компьютерное моделирование, взаимодействие белок-метаболит.

Для цитирования: Кузьмичева В.И., Гильмиярова Ф.Н., Авдеева Е.В. Компьютерное моделирование как инструмент изучения лигандного потенциала лактата. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(4):10–15.
<https://doi.org/10.29296/25877313-2020-04-02>

Взаимодействие биологически активных веществ, в частности низкомолекулярных лигандов и белков, представляет собой перспективную область фундаментальных исследований. Долгое время существующие данные о химических соединениях были не систематизированы и хранились в коммерческих базах данных с лимитированным правом доступа. Благодаря развитию открытых ресурсов стало возможно появление единых информационных платформ для проведения экспериментов *in silico* по изучению свойств биологически активных соединений [1].

Роль малых молекул в биологических системах во многом определяется тем, какие партнеры по белковому взаимодействию характерны для того или иного соединения. В 2008 г. Европейская лаборатория молекулярной биологии университета Цюриха и Швейцарский институт биоинформатики совместно разработали интегрированную базу данных, позволяющую моделировать взаимодействие конкретной молекулы с белковыми структурами – Search Tool for Interacting Chemicals (STITCH) [2]. Данная инициатива получила динамичное развитие, что привело к увеличению количества доступных

для моделирования химических соединений с 68 000 в 2008 г. до 430 000 в 2016 г., белковых партнеров – 9 600 000 из 2031 генома эукариот и прокариот, включая возможность выбора в качестве модельного организма *homo sapiens* [3].

В центре нашего интереса находится ключевой интермедиат – лактат, когда-то считавшийся тупиком анаэробного метаболизма. Сегодня же известно, что образование лактата происходит непрерывно в аэробных условиях [4]. Согласно данным литературы, лактат выполняет, по крайней мере, три важнейшие задачи: служит основным источником энергии, глюконеогенным прекурсором и сигнальной молекулой. Недавно опубликованные данные демонстрируют наличие гормоноподобных, рецепторных и сигнальных способностей у лактата [5, 6]. Вместе с тем недостаточно изученной остается область влияния этого метаболита на процессы фермент-субстратного и белок-белкового взаимодействия.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – в эксперименте *in silico* определить потенциальных белковых партнеров взаимодействия для лактата с применением компьютерной среды STITCH 5.0.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для моделирования отношений белок-лактат мы использовали программное обеспечение STITCH 5.0 (<http://stitch.embl.de/>). Данная программа объединяет информацию об имеющихся взаимодействиях между белками и малыми молекулами, большая часть известных взаимодействий переносится из крупных баз данных, таких как DrugBank, GPCR-лигандная база данных (GLIDA), Matador, база данных терапевтических мишеней (TTD), база данных сравнительной токсикогеномики (CTD), Киотская энциклопедия генов и геномов (KEGG), база данных NCI/Nature, Reactome и BioCyc. Другим крупным источником белково-лигандных связей являются экспериментально подтвержденные взаимодействия, к которым относится ChEMBL, PDSP Database, банк данных об белках (PDB). Всего на настоящий момент времени к моделированию доступно 430 000 химических соединений, 9 600 000 белковых молекул из 2031 эукариотических и прокариотических организмов [7].

Сведения о малой молекуле вводятся с применением стандартной записи SMILES. Прогнозирование проводится с применением математической модели для расчета константы ингибирования исследуемого соединения на основании из-

вестных параметров, содержащихся в базе. Отображение сети взаимодействия может быть настроено по степени доказательности (evidence), уверенности (confidence), молекулярному действию (molecularaction) или аффинитету связи (bindingaffinity). В своей работе мы использовали настройку по аффинитету связи [7].

Полученные данные STITCH представляются графически в виде сети связей различных типов между исследуемым веществом и белковыми структурами. Связи могут быть активирующими, ингибирующими, также возможно прямое связывание, катализ и некоторые другие биохимические превращения. Пользователь сам может выбирать степень достоверности представленных результатов: высочайшая уверенность (highest confidence) > 0,9; высокая уверенность (high confidence) > 0,7; средняя уверенность (medium confidence) > 0,4; низкая уверенность (low confidence) < 0,4. Мы выбрали взаимосвязи, для которых вероятность взаимодействия (P_a) составила больше 0,5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количество предсказанных программой STITCH взаимодействий составило 367, среди которых были отмечены связи с ферментами, гормонами, белками-транспортёрами, рецепторами. На основании полученного прогноза строилась графическая модель, отражающая отношения между белками и лактатом (рис. 1, табл. 1).

Анализ данных компьютерного эксперимента показал, что имеющиеся сведения дополняют полученные нами ранее результаты при моделировании спектра биологической активности лактата в программе PASS [8]. Отличие заключается в том, что в ходе моделирования в PASS происходит определение не партнеров взаимодействия, а всего спектра биологической активности лактата с его направленностью (ингибитор/стимулятор) [9]. Особенный интерес представляют смоделированные молекулярные механизмы действия лактата, предсказывающие ингибирование активности ключевых ферментов метаболизма углеводов (лактатдегидрогеназа $P_a = 0,892$, малатдегидрогеназа $P_a = 0,78$), липидов (ацилглицероллипаза $P_a = 0,886$), белков (сериндегидрогеназа $P_a = 0,886$, аланинаминотрансфераза $P_a = 0,83$) [10]. Более полный прогноз взаимодействий белок-метаболит, основанный на анализе аффинитета связи представлен по результатам эксперимента *in silico* в программе STITCH.

Отмечена высокая способность лактата взаимодействовать с белками различных транспортных систем: семейством растворимых белков-переносчиков ($P_a = 0,994$), митохондриальным переносчиком пирувата ($P_a = 0,900$), аквапоринами ($P_a = 0,828$). Интересно, что лактат способен являться лигандами многих рецепторов, в числе которых HCAR1 ($P_a = 0,986$) и HCAR3 ($P_a = 0,900$). Свя-

зываясь с ними, исследуемый интермедиат может оказывать липолитический эффект через промежуточную активацию G-белка. Кроме этого, лактат, вероятно, может проявлять сродство к мускариновым холинэргическим рецепторам ($P_a = 0,900$), тем самым опосредуя ингибирование аденилатциклазного, инозитол-3-фосфатного путей передачи сигнала.

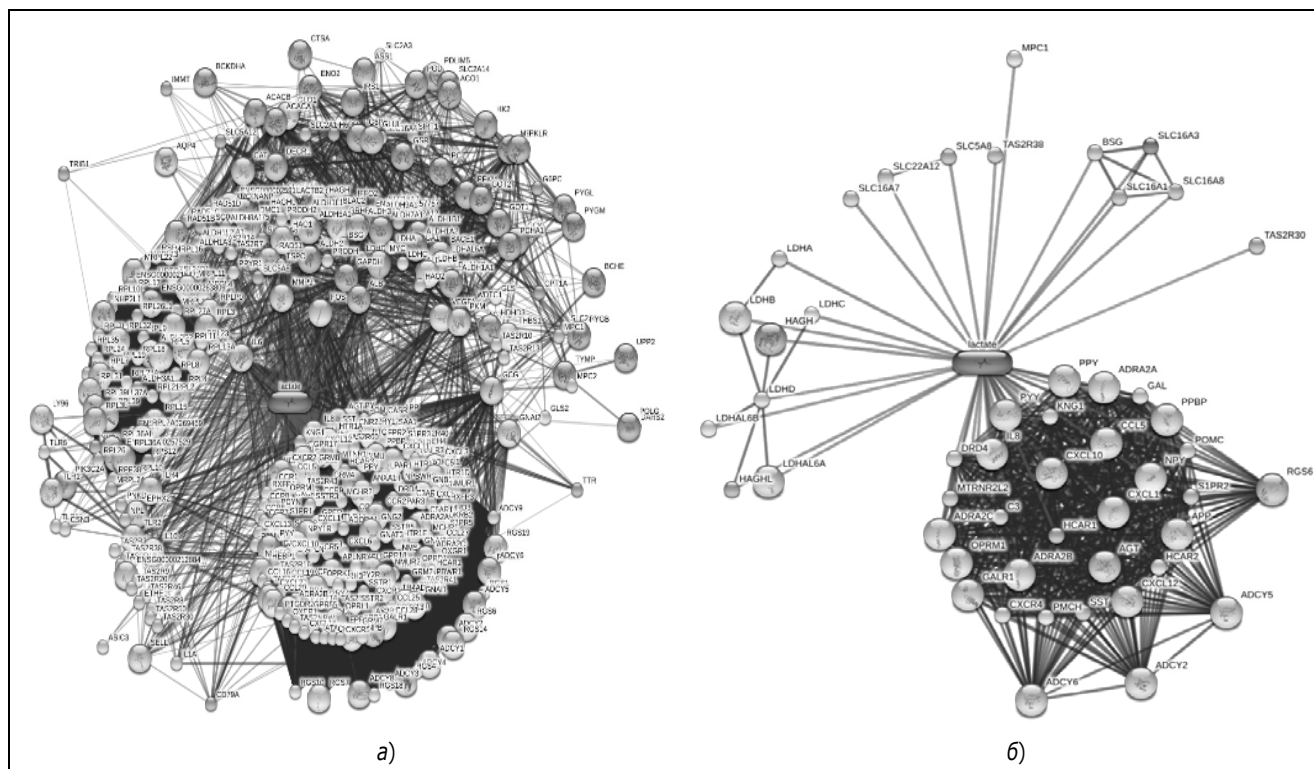


Рис. 1. Сеть смоделированных взаимодействий лактат-белок (STITCH 2016). Молекула лактата представлена в центре в виде эллипса. Шарами обозначены предсказанные белковые партнеры взаимодействия. Линиями показаны связи между различными группами белков и метаболитом: а – вероятность $P_a > 0,5$; б – вероятность $P_a > 0,9$

Исследуемый метаболит способен с одинаковой и неизменно высокой степенью вероятности вступать во взаимодействие с дофаминовыми, серотониновыми и глутаматными рецепторами ($P_a = 0,900$), что говорит об активности лактата в отношении процессов передачи нервного импульса и позволяет выдвинуть предположение о том, что он является важной частью микроокружения нейронов и выполняет множество неметаболических функций в центральной нервной системе. В поддержку этой гипотезы приведем работы группы ученых [11], которые показали, что лактат является не только энергетическим субстратом астроцитов, но и играет роль транмиттера. Высокое его содержание было зарегистрировано в клетках locus coeruleus ствола мозга.

Обсуждается роль лактата как нейропротективного фактора ($P_a = 0,900$). Предполагается, что, связываясь с белком MTRNR2L2, метаболит снижает образование преамилоидного пептида, тем самым уменьшая активность нейродегенеративных процессов. Отметим, что амилоидная теория развития таких заболеваний, как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера сегодня занимает ведущую позицию [12].

Также представляет интерес возможность лактата взаимодействовать с ангиотензиногеном ($P_a = 0,907$) и сосудистым эндотелиальным фактором роста ($P_a = 0,879$) – белковыми структурами, участвующими в поддержании сосудистого тонуса.

Таблица 1. Прогнозируемые взаимодействия белок-лактат ($P_a > 0,9$)

Белок	Вероятность взаимодействия	Пояснительный текст
Лактатдегидрогеназа	0,998	Фермент, осуществляет обратимый катализ пирувата в лактат
SLC16A1	0,994	Семейство растворимых белков-переносчиков. Отвечают за быстрый транспорт веществ через мембрану.
SLC16A7	0,969	
SLC16A3	0,969	
SLC5A8	0,954	
SLC16A8	0,943	
SLC22A12	0,935	Растворимый белок-переносчик. Регулирует абсорбцию и выведение уратов, расположен в почках.
HCAR1	0,986	Выполняет роль рецептора для L-лактата, опосредует антилиполитический эффект через G-белок.
Соматостатин	0,936	Гормон белковой природы, подавляет секрецию гормонов гипофизом, обладает ингибирующим действием на гормонально активные пептиды желудочно-кишечного тракта
Проопиомеланокортин	0,931	Прогормон передней доли гипофиза, не проявляет гормональной активности
Панкреатический полипептид	0,927	Снижает секрецию сока поджелудочной железы, усиливает образование желудочного сока
Интерлейкин-8	0,924	Провоспалительный хемокин
α -Адренорецепторы	0,922	Разновидность адренорецепторов
Кининоген	0,921	Ингибитор тиоловой протеазы, участвует в коагуляционном каскаде
Опиодные рецепторы	0,917	Рецепторы нервной системы
Нейропептид Y	0,916	Отвечает за чувство насыщения, регулирует уровень гастроинтестинальной секреции
GALR1	0,913	Ингибитор аденилатциклазы
CCL5	0,910	Опосредует хемотаксис моноцитов, Т-хелперов, эозинофилов.
CXCR4	0,909	Рецептор, участвующий в переносе сигнала посредством увеличения внутриклеточного кальция.
Пептид YY	0,909	Ингибирует экзокринную панкреатическую секрецию, кишечную моторику
PPBP	0,909	Стимулирует синтез ДНК, митоз, гликолиз, синтез простагландина E2, синтез гиалуроновой кислоты и гликозаминогликанов
Аденилатциклаза	0,908	Вторичный посредник передачи сигнала в клетку
MPC1	0,908	Митохондриальный переносчик пирувата
APP	0,908	Предшественник амилоидного белка
DRD4	0,917	Рецептор дофамина
Ангиотензиноген	0,907	Предшественник ангиотензина, мощного вазопрессора
C3 компонент комплемента	0,907	Опосредует реакции иммунной защиты
MTRNR2L2	0,900	Нейропротективный фактор, подавляет апоптоз клеток и секрецию APP, увеличивает активность фагоцитов в отношении APP
SIRP2	0,900	Рецептор сфингозина
RGS6	0,900	Регулятор G-белка

Обращает на себя внимание предсказанная возможность лактата взаимодействовать с гормонами и гормоноподобными субстанциями. С гормонами белковой структуры, по-видимому, лактат может связываться непосредственно (соматостатин ($P_a = 0,900$), глюкагон ($P_a = 0,638$)), в то время как для стероидов смоделировано взаимодействие по рецептор-опосредованному механизму, например, рецептор эйкозаноидов первого типа (ОХЕ 1) и рецептор простагландина E ($P_a = 0,900$).

Неожиданно низкая активность показана в отношении некоторых ферментов – глутаминаза ($P_a = 0,690$), каталаза ($P_a = 0,655$), глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа ($P_a = 0,549$), аспаратами-нотрансфераза ($P_a = 0,547$), в то время как для мышечной изоформы пируваткиназы ($P_a = 0,898$) и глиоксилазы ($P_a = 0,717$) отмечаются высокие показатели.

Выводы

Проведенный анализ прогнозируемых активностей лактата в программах PASS и STITCH позволил сформировать целостное представление о потенциальных множественных и разнонаправленных эффектах описываемого метаболита. Полученные методом моделирования *in silico* результаты дают возможность определить спектр наиболее вероятных белковых партнеров лактата (SLC16, HCAR1, MTRNR2L2) для взаимодействия, что служит первым этапом при планировании экспериментов *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kim E.S. The Future of Molecular Medicine: Biomarkers, BATTLEs, and Big Data. Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book. 2015;22–27. doi:10.14694/EdBookAM.2015.35.22.
2. Kuhn M., von Mering C., Campillos M., Jensen L.J., Bork P. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins. Nucleic. Acids Res. 2008;36 (Database issue):D684–D688. doi:10.1093/nar/gkm795.
3. Kuhn M., Szklarczyk D., Pletscher-Frankild S., von Mering C., Jensen L.J., Bork P. STITCH 4: integration of protein-chemical interactions with user data. Nucleic Acids Res. 2014; 42(Database issue):D401–D407. doi:10.1093/nar/gkt1207.
4. Brooks G.A. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. Cell Metab. 2018; 27(4):757–785. doi:10.1016/j.cmet.2018.03.008.
5. Taher M., Leen W.G., Wevers R.A., Willemsen M.A. Lactate and its many faces. Eur. J. Paediatr. Neurol. 2016; 20(1):3–10. doi: 10.1016/j.ejpn.2015.09.008. Epub. 2015. Oct. 9.
6. Rawat D., Chhonker S.K., Naik R.A., Mehrotra A., Trigun S.K., Koiri R.K. Lactate as a signaling molecule: Journey from dead end product of glycolysis to tumor survival. Front Biosci (Landmark Ed). 2019; 24:366–381.
7. Szklarczyk D., Santos A., von Mering C., Jensen L.J., Bork P., Kuhn M. STITCH 5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. Nucleic. Acids. Res. 2016; 44(D1):D380–D384. doi:10.1093/nar/gkv1277.
8. Гильмиярова Ф.Н., Колотьева Н.А., Рыскина Е.А., Радомская В.М., Гусякова О.А., Потехина В.И., Горбачева И.В. Структурно-регуляторный потенциал лактата. Современные проблемы науки и образования. 2016; 2:1–10.
9. Поройков В.В., Филимонов Д.А., Глориозова Т.А., Лагунин А.А., Дружиловский Д.С., Степанчикова А.В. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика. Информационный вестник ВОГиС. 2009; 13(1):137–143.
10. Гильмиярова Ф.Н., Колотьева Н.А., Потехина В.И., Баушева Г.М., Рыскина Е.А. Роль лактата в межмолекулярной регуляции взаимодействия белковых структур. Медицинский альманах. 2017; (2):99–101. <https://doi.org/10.21145/2499-9954-2017-2-99-101>.
11. Tang F., Lane S., Korsak A., Paton J., Gourine A., Kasparov S., Teschemacher A.G. Lactate-mediated glia-neuronal signaling in the mammalian brain. Nature Commun. 2014; 5:3284 DOI:10.1038/ncomms4284.
12. Di Liegro C.M., Schiera G., Proia P., Di Liegro I. Physical Activity and Brain Health. Genes (Basel). 2019; 10(9):720. doi:10.3390/genes10090720.

Поступила после доработки 2 марта 2020 г.

COMPUTER SIMULATION AS A TOOL TO STUDY LIGAND POTENTIAL OF LACTATE

© Authors, 2020

V.I. Kuzmicheva

Post-graduate Student,

Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University

E-mail: bio-sam@yandex.ru

F.N. Gilmiyarova

Honored Scientist of the Russian Federation, Dr.Sc. (Med.), Professor,

Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University

E.V. Avdeeva

Dr.Sc. (Pharm.), Professor,

Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, Samara State Medical University

The study of the protein-small molecule interaction of the is an actual direction of modern fundamental science. The expansion of knowledge in this area is largely due to the emergence of possibilities for modeling the biological activity of compounds *in silico*.

The aim of the study is to identify potential protein partners for lactate interaction using the computer software STITCH 5.0.

Methods. The STITCH program (<http://stitch.embl.de/>) was used to predict the protein partners of the lactate. This program builds a prognosis for possible interaction with proteins based on a mathematical algorithm calculated on the inhibition constant, as well as using information available in open libraries of chemical structures. Contains 430 000 chemical compounds, 9 600 000 proteins, 2031 model organism. We chose to graphically display the obtained results depending on the affinity of the bond, with the degree of probability of $P_a > 0.5$.

Results. A total of 367 potential lactate protein partners were identified. The possibility of intermediate interaction with mitochondrial pyruvate carrier, aquaporines, influence on hormonal signal and nerve impulse transmission, and have a neuroprotective effect was predicted.

Conclusion. The data obtained indicate an extensive nonmetabolic role of lactate in the regulation of various biological processes, which determines new approaches to the formation of experimental models to confirm the predicted effects.

Key words: *lactate, in silico, STITCH, computer simulation, protein-metabolite interaction.*

For citation: Kuzmicheva V.I., Gil'miyarova F.N., Avdeeva E.V. Computer simulation as a tool to study ligand potential of lactate. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020;23(4):10–15. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-04-02>

REFERENCES

1. Kim E.S. The Future of Molecular Medicine: Biomarkers, BATTLEs, and Big Data. Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book. 2015:22–27. doi:10.14694/EdBookAM.2015.35.22.
2. Kuhn M., von Mering C., Campillos M., Jensen L.J., Bork P. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins. Nucleic. Acids Res. 2008;36 (Database issue):D684–D688. doi:10.1093/nar/gkm795.
3. Kuhn M., Szklarczyk D., Pletscher-Frankild S., von Mering C., Jensen L.J., Bork P. STITCH 4: integration of protein-chemical interactions with user data. Nucleic Acids Res. 2014; 42(Database issue):D401–D407. doi:10.1093/nar/gkt1207.
4. Brooks G.A. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. Cell Metab. 2018; 27(4):757–785. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.008.
5. Taher M., Leen W.G., Wevers R.A., Willemsen M.A. Lactate and its many faces. Eur. J. Paediatr. Neurol. 2016; 20(1):3–10. doi: 10.1016/j.ejpn.2015.09.008. Epub. 2015. Oct. 9.
6. Rawat D., Chhonker S.K., Naik R.A., Mehrotra A., Trigun S.K., Koiri R.K. Lactate as a signaling molecule: Journey from dead end product of glycolysis to tumor survival. Front Biosci (Landmark Ed). 2019; 24:366–381.
7. Szklarczyk D., Santos A., von Mering C., Jensen L.J., Bork P., Kuhn M. STITCH 5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. Nucleic. Acids. Res. 2016; 44(D1):D380–D384. doi:10.1093/nar/gkv1277.
8. Gil'miyurova F.N., Kolot'eva N.A., Ryuskina E.A., Radomskaya V.M., Gussyakova O.A., Potekhina V.I., Gorbacheva I.V. Strukturno-regulyatornyui potential laktata. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2016; 2:1–10.
9. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Glorizova T.A., Lagunin A.A., Druzhilovskii D.S., Stepanchikova A.V. Komp'yuternoe predskazanie biologicheskoi aktivnosti khimicheskikh veshchestv: virtual'naya khemogenomika. Informatsionnyui vestnik VOGIS. 2009; 13(1):137–143.
10. Gil'miyurova F.N., Kolot'eva N.A., Potekhina V.I., Baisheva G.M., Ryuskina E.A. Rol' laktata v mezhmolekulyurnoi regulyatsii vzaimodeistviya belkovyukh struktur. Meditsinskii al'manakh. 2017; (2):99–101. <https://doi.org/10.21145/2499-9954-2017-2-99-101>.
11. Tang F., Lane S., Korsak A., Paton J., Gourine A., Kasparov S., Teschemacher A.G. Lactate-mediated glia-neuronal signaling in the mammalian brain. Nature Commun. 2014; 5:3284 DOI:10.1038/ncomms4284.
12. Di Liegro C.M., Schiera G., Proia P., Di Liegro I. Physical Activity and Brain Health. Genes (Basel). 2019; 10(9):720. doi:10.3390/genes10090720.