

PASS и STITCH в верификации неизвестных свойств пирувата и лактата. Обзор литературы и фрагменты собственных исследований

Колотьева Н.А.¹, Гильмиярова Ф.Н.², Гусякова О.А.², Семашкова Е.А.²

¹ Институт мозга, Научный центр неврологии
 Россия, 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, 80

² Самарский государственный медицинский университет (СамГМУ)
 Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

РЕЗЮМЕ

Цель исследования заключается в выявлении прогнозируемого спектра биологической активности пирувата и лактата с применением современных методов моделирования, определение потенциальных белковых партнеров для межмолекулярного взаимодействия.

Материалы и методы. Определение спектра биологической активности пирувата и лактата по структурной формуле проводили в программном обеспечении Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS). Прогнозирование потенциальных белковых партнеров взаимодействия для малых молекул выполняли в системе Search Tool for Interactions Chemicals (STITCH, инструмент поиска взаимодействующих химических веществ).

Результаты. Анализируя полученные результаты *in silico*, обращает на себя внимание проявление разнообразной биологической активности молекулярных механизмов, оказываемых фармакологических эффектов пирувата и лактата. Среди них регуляция липидного, белкового, углеводного обменов, влияние на активность ферментов, экспрессию генов. Приводятся данные антигипоксического, антиишемического, антиоксидантного, иммуномодулирующего, противовоспалительного, противовирусного, вазопротекторного и цитопротекторного действий. Спрогнозировано нейропротекторное, антинейротоксическое действие пирувата и лактата.

Заключение. Методами компьютерного моделирования раскрыт спектр биологической активности лактата и пирувата, а также охарактеризованы белки-партнеры по взаимодействию. Изучаемые нами малые молекулы выполняют координационную роль в функционировании и модуляции медиаторного, гормонального, рецепторного ответов, иммунологических, воспалительных, антибактериальных, противовирусных реакций, экспрессии генов. Обсуждается использование естественных интермедиатов в качестве терапевтических средств для лечения ишемического инсульта, острых неврологических расстройств, нейродегенерации, что имеет в своей основе стимулирующее действие метаболитов на процессы пластичности мозга. Проявление этих свойств, вероятно, реализуется через конформационную перестройку рецепторов, активных центров связывания, экспрессии множества генов, изменение функциональных проявлений каталитических и других белков. Полученные знания, очевидно, расширят наше понимание роли малых молекул в межмолекулярных взаимодействиях метаболит–белок.

Ключевые слова: малые молекулы, пируват, лактат, компьютерное моделирование, биологическая активность, PASS, STITCH

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Колотьева Н.А., Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Семашкова Е.А. PASS и STITCH в верификации неизвестных свойств пирувата и лактата. Обзор литературы и фрагменты собственных ис-

The role of PASS and STITCH in the verification of unknown properties of pyruvate and lactate. Literature review and fragments of authors' own research

Kolotyeva N.A.¹, Gilmiyarova F.N.², Gusyakova O.A.², Semashkova E.A.²

¹ Brain Research Institute, Research Center of Neurology
80, Volokolamskoye Highway, Moscow, 125367, Russian Federation

² Samara State Medical University
89, Chapayevskaya Str., Samara, 443099, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to identify the predicted spectrum of biological activity of pyruvate and lactate using modern computer modeling methods and to determine potential protein partners in intermolecular interaction.

Materials and methods. The biological activity spectrum of pyruvate and lactate by the structural formula was determined using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) software. Potential protein interaction partners for small molecules were predicted using the Search Tool for Interactions Chemicals (STITCH).

Results. Analyzing the obtained results *in silico* reveals that pyruvate and lactate exhibit diverse biological activities, molecular mechanisms, and pharmacological effects. These include regulation of lipid, protein, and carbohydrate metabolism and effects on enzyme activity and gene expression. The data on the antihypoxic, antiischemic, antitoxic, immunomodulatory, antiinflammatory, antiviral, vasoprotective, and cytoprotective effects are presented. The neuroprotective and antineurotoxic effects of pyruvate and lactate are predicted.

Conclusion. The spectrum of biological activities of lactate and pyruvate were revealed by computer modeling methods, and protein interaction partners were characterized. The small molecules we studied have a coordinating role in the functioning and modulation of mediator, hormonal, receptor, immune, inflammatory, antibacterial, and antiviral responses and gene expression. The use of natural intermediates as therapeutic agents for the treatment of ischemic stroke, acute neurological disorders, and neurodegeneration is discussed, which is underlain by the stimulating effect of metabolites on neuroplasticity. These properties may be manifested through conformational rearrangement of receptors, active binding centers, expression of multiple genes, and changes in the functional manifestations of catalytic and other proteins. The obtained data will obviously expand our understanding of the role of small molecules in intermolecular metabolite – protein interactions.

Keywords: small molecules, pyruvate, lactate, biological activity, computer modeling, PASS, STITCH

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Kolotyeva N.A., Gilmiyarova F.N., Gusyakova O.A., Semashkova E.A. The role of PASS and STITCH in the verification of unknown properties of pyruvate and lactate. Literature review and fragments of authors' own research. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(3):110–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-3-110-119>.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальным в настоящее время является изучение роли метаболитов в системах межклеточного взаимодействия. В частности, взаимодействия белок – малая молекула могут регулировать и контролировать разнообразные клеточные процессы: транспорт веществ, передачу сигналов, играя роль в поддержа-

нии клеточного гомеостаза [1–3]. Экспериментально оценить межмолекулярное взаимодействие миллионов химических соединений с тысячами лигандов сложно как с экономической, так и с практической точки зрения, поэтому целесообразным является проводить предварительную оценку биологической активности конкретных химических веществ *in silico* [4, 5].

Биологическая активность является ведущей характеристикой соединений с известной химической формулой, так как ее наличие может стать основой для использования вещества в медицине либо лимитировать его применение из-за проявления нежелательных побочных или токсических эффектов. Использование компьютерного моделирования может в десятки раз сократить объем необходимых экспериментов по сравнению со слепым поиском [6].

В фокусе нашего внимания являются малые молекулы пируват и лактат. Одним из важнейших промежуточных компонентов метаболизма и источником энергии для митохондрий является пируват, который участвует в процессах ремоделирования клеточного матрикса [7, 8]. Лактат больше не рассматривается как «тупик» анаэробного метаболизма. Являясь энергетическим субстратом, играет важную роль в регуляции функции многих клеток, участвуя в процессах пролиферации и дифференцировки тканей, ангиогенеза [9, 10].

Статья посвящена актуальной тематике – моделированию *in silico*, выяснению биологической активности молекулярных механизмов, лежащих в основе описания структуры молекул, с учетом поиска зависимостей «структура–свойство». Наше понимание передачи сигналов клетками могут способствовать выяснению новых взаимодействий лактата и пирувата с белками.

Цель исследования заключается в выявлении прогнозируемого спектра биологической активности пирувата и лактата с применением современных компьютерных технологий, определение потенциальных белковых партнеров для межмолекулярного взаимодействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Программное обеспечение Prediction of Activity Spectra for Substances версии 1.917 (PASS) предназначено для предсказания спектра биологической активности соединения по его структурной формуле на основе анализа зависимостей «структура–активность» с применением обучающей выборки соединений. В программе имеется информация о структурах и известных видах биологической активности более миллиона молекул. Предсказание биологической активности для новых соединений осуществляется с использованием дескрипторов атомных окрестностей (Multilevel Neighborhoods of Atoms), которые необходимы для описания структуры молекул органического соединения с учетом поиска зависимостей «структура–свойство» для гетерогенных выборок [6].

Спектр биологической активности, прогнозируемый компьютерной системой PASS, включает в

себя фармакологические эффекты, специфическую токсичность, побочное действие, влияние молекул на метаболизм, молекулярный транспорт, генную экспрессию, определение нежелательных мишеней, молекулярные механизмы действия. Результат прогноза представляется в виде вероятностей P_a «быть активным» («to be active») и P_i «быть неактивным» («to be inactive»), имеющих значения от 0 до 1 [11]. Мы приняли P_a более 0,5 за оптимальное значение вероятности наличия активности. Прогноз спектра биологической активности получили в виде упорядоченного списка оценок вероятностей P_a и P_i .

Определение потенциальных белковых партнеров взаимодействия для малых молекул выполняли в системе Search Tool for Interactions Chemicals (STITCH, инструмент поиска взаимодействующих химических веществ) версии 5.0. Платформа STITCH включает более 9,6 млн белков из 2 031 эукариотического и прокариотического генома, 430 тыс. химических соединений. Данная программа объединяет данные об имеющихся взаимодействиях между белками и малыми молекулами из библиотек Drug Bank, баз данных GPCR ligand (GLIDA), Matador, терапевтических целей (TTD), сравнительной токсикогеномики (CTD), взаимодействий природных путей (NCI), Reactome, BioCyc, Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG).

Так как между разными наборами данных, созданными вручную, могут возникать совпадения, в STITCH учитываются повторяющиеся взаимодействия только один раз. Другими крупными источниками межмолекулярных связей являются наборы данных экспериментально подтвержденных взаимодействий, которые включают данные из библиотек ChEMBL, PDSP Ki Database, Protein Data Bank. Источники белково-химических взаимодействий дополняются автоматизированным анализом текста и методом прогнозирования на основе структуры. Конвейер интеллектуального анализа текста включает в себя совместное копирование и обработку всех рефератов MEDLINE, а также доступные полнотекстовые статьи PubMed Central с открытым доступом, учитывались рефераты грантов NIH RePORTER [1].

Чтобы оценить эффект и достоверность связывания белок–лиганд, а также изменчивость аффинности известных лигандов, важно знать способность связывания между соединением и его мишенью. Обычно это сродство связывания количественно определяют, как константу ингибирования K_i , также учитывается значение IC_{50} – половина максимальной ингибирующей концентрации [12].

Для поиска по идентификаторам и общим названиям химических веществ, которые хранятся в

базе данных сведений о малой молекуле, применяли стандартную запись SMILES. Программой рассчитывается параметр p – вероятность взаимодействия малой молекулы и белка. В STITCH сеть взаимодействия может быть отображена и настроена с использованием разных настроек: по степени доказательности, уверенности, молекулярному действию или аффинитету связи. В своей работе мы использовали показатель аффинитета связи. Программой прогнозируются межмолекулярные взаимодействия в пороге достоверности от 0 до 1 (низкий, средний, высокий, высочайший), нами использовался средний порог достоверности $p > 0,4$ [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Программа PASS для оценки биологической активности малых молекул. В компьютерной среде PASS существует возможность проанализировать всего 2 736 видов биологической активностей. Ана-

лизируя полученные данные, можно отметить наибольшее количество спрогнозированных биологических активностей для пирувата, чем для лактата (1 926 и 1 792 соответственно). Следует отметить, что у пирувата наблюдается большая способность проявления молекулярных механизмов действия, способность оказывать фармакологические эффекты, у лактата проявляется больше побочных, токсических, метаболически опосредованных действий.

Изученные спрогнозированные проявления малых молекул и экспериментально подтвержденные данные представлены в табл. 1. Полученные сведения свидетельствуют о том, что пируват и лактат влияют на клеточные процессы: выступают в качестве цитопротекторов, стимуляторов лейко- и эритропоэза, агрегации тромбоцитов, ингибиторов тромбопоэза и адгезии тромбоцитов, за счет способности активировать сигнальный путь фактор индуцируемый гипоксией 1 (HIF-1 α) – эритропоэтин (EPO) [13].

Таблица 1

Прогнозируемые эффекты пирувата и лактата в программе PASS					
Фармакологический эффект	P_a лак	P_i лак	P_a пир	P_i пир	Экспериментально подтвержденные данные
Фибринолитический	0,716	0,024	0,812	0,004	[14]
Регулятор обмена липидов	0,784	0,008	0,812	0,006	[15]
Гиперхолестеринемический	0,727	0,019	0,757	0,003	
Стимулятор лейкопоэза	0,803	0,003	0,727	0,005	[13]
Стимулятор агрегации тромбоцитов	0,353	0,009	0,706	0,005	
Стимулятор эритропоэза	0,673	0,007	0,698	0,005	[13, 16]
Цитопротектор	0,554	0,017	0,670	0,009	[17]
Противовирусный (риновирус)	0,623	0,009	0,663	0,005	[18]
Антигипоксический	0,743	0,004	0,650	0,002	[19]
Нейропротекторный	0,646	0,066	0,648	0,05	[16, 20–24]
Антиишемический	0,414	0,154	0,611	0,005	[17, 19, 25, 26]
Восстановитель	0,480	0,019	0,610	0,011	[27]
Противовирусный (пикорнавирус)	0,588	0,027	0,605	0,018	[18]
Противовоспалительный	0,614	0,026	0,600	0,004	[19, 28]
Ингибитор адгезии тромбоцитов	0,592	0,001	0,592	0,014	
Вазопротектор	0,681	0,024	0,564	0,025	[29]
Иммуномодулятор	0,811	0,023	0,554	0,04	[15]
Антинейротоксический	0,639	0,044	0,545	0,06	[17, 23, 30]
Ингибитор тромбоцитопоэза	0,854	0,006	0,519	0,004	
Антиоксический	0,599	0,006	0,516	0,012	[27]

Примечание. P_a – вероятность наличия; P_i – вероятность отсутствия здесь и в табл. 2, 3.

Пируват и лактат оказывают противовоспалительное, антиишемическое действия, повышают сократительную способность, энергетическое состояние миокарда, защищают ткани от ишемического повреждения, окислительного стресса благодаря усилению саркоплазматического ретикулярного транспорта Ca^{2+} , увеличения продукции НАДФН для поддержания окислительно-восстановительного состояния глутатиона [19].

Пируват проявляет нейропротекторное действие, предотвращая гибель клеток постишемических астроцитов, подавляя утечку лактатдегидрогеназы, уменьшая окислительно-восстановительное отношение, сдерживая активацию апоптотических событий, таких как высвобождение митохондриального цитохрома с и фрагментация каспазы-3 и поли(АДФ-рибозил)полимеразы. Пируват может ускорять собственный метаболизм за счет повыше-

ния активности пируватдегидрогеназы и, таким образом, восстанавливать клеточные уровни АТФ в постишемических астроцитах [17, 20]. По мнению В.Н. Ярцева, вазопротекторный эффект пирувата и лактата, вероятно, реализуется за счет непосредственного влияния на нейрогенный тонус кровеносных сосудов [29]. Благодаря этим спрогнозированным и экспериментально подтвержденным свойствам, в исследованиях D. Frank пируват применялся в качестве терапевтического средства для лечения инсульта и острых неврологических расстройств [25].

Обращает на себя внимание смоделированное противовирусное действие пирувата и лактата в отношении риновируса, пикорнавируса. У лактата отмечается с большой вероятностью противовирусное влияние на арбовирусы, папилломавирусы. Существует предположение, что вирус теряет инфекционную активность в связи с конформационными перестройками в структуре и потерей репликационной активности [18].

Имеются данные об участии данных интермедиатов в различных видах обмена: липидном, белковом, углеводном (табл. 2). Нами выявлено влияние пирувата и лактата на регуляцию обмена липидов, с существенным гиперхолестеринемическим эф-

фектом. Обращает внимание, что указанные малые молекулы ингибируют транс-2-еноил-КоА редуктазу, которая участвует в биосинтезе ненасыщенных жирных кислот и в элонгации жирных кислот митохондрий. Экспериментально было показано, что адипоциты являются основным источником лактата в белой жировой ткани. Уровень лактата составляет 0,35–9,67 мМ при плотности жировой ткани 0,9 г/мл. Отмечается, что лактат, полученный из адипоцитов, представляет собой сигнальный метаболит, который способствует активации воспалительных макрофагов путем прямого связывания с каталитическим доменом пролилгидроксилазного домена 2, что подчеркивает взаимосвязь между иммунологическими процессами и метаболизмом при ожирении [15].

Нами выявлено, что пируват и лактат оказывают ингибирующее действие на ферменты белкового обмена: аланинтрансаминазу, серин-3-дегидрогеназу, гамма-глутамилтрансферазу, триптофантрансаминазу. Известно действие данных интермедиатов на ряд ферментов углеводного обмена: глицерол-3-фосфатдегидрогеназу, L- и D-формы лактатдегидрогеназы, НАД-зависимую малатдегидрогеназу, НАДФ-зависимую декарбоксилирующую малатдегидрогеназу, малатоксидазу, пируватдегидрогеназный комплекс [16].

Таблица 2

Вероятные молекулярные механизмы действия пирувата и лактата					
Молекулярный механизм действия	Шифр фермента	Pa пир	Pi пир	Pa лак	Pi лак
Ингибитор фосфоенолпируват протеинфосфотрансферазы	EC 2.7.3.9	0,91	0,001	0,922	0,001
Ингибитор пируватдекарбоксилазы	EC 4.1.1.1	0,887	0,002	0,938	0,001
Ингибитор аспартат-фенилпируваттрансаминазы	EC 2.6.1.70	0,854	0,003	0,816	0,004
Ингибитор глутамин-фенилпируваттрансаминазы	EC 2.6.1.64	0,83	0,004	0,807	0,005
Ингибитор пируватдегидрогеназы цитохрома	EC 1.2.2.2	0,812	0,002	0,59	0,005
Ингибитор фенилпируватдекарбоксилазы	EC 4.1.1.43	0,808	0,002	0,614	0,004
Ингибитор пируватдегидрогеназы	EC 1.2.4.1	0,799	0,002	0,856	0,002
Ингибитор L-лактатдегидрогеназы	EC 1.1.2.3	0,778	0,001	–	–
Ингибитор фосфоенолпируваткарбоксикиназы	EC 4.1.1.38	0,769	0,002	0,8	0,002
Ингибитор D-лактатдегидрогеназы	EC 1.1.2.4	0,765	0,001	0,783	0,002
Ингибитор оксалоацетат таутомеразы	EC 5.3.2.2	0,723	0,001	0,881	0,001
Ингибитор глицерол-3-фосфатоксидазы	EC 1.1.3.21	0,705	0,002	0,616	0,004
Ингибитор малатдегидрогеназы	EC 1.1.1.37	0,674	0,005	0,705	0,004
Ингибитор оксалоацетат декарбоксилазы	EC 4.1.1.3	0,674	0,002	0,742	0,003
Ингибитор глицерол-3-фосфатдегидрогеназы	EC 1.1.1.8	0,669	0,003	0,698	0,003
Ингибитор акцептора малатдегидрогеназы	EC 1.1.1.37	0,62	0,011	0,594	0,018
Ингибитор малатоксидазы	EC 1.1.3.3	0,567	0,008	0,522	0,016
Ингибитор D-малат декарбоксилирующей дегидрогеназы	EC 1.1.1.83	0,557	0,003	0,723	0,002
Ингибитор НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы	EC 1.1.1.40	0,529	0,003	0,5	0,003
Ингибитор лактат-малат трансгидрогеназы	EC 1.1.99.7	0,524	0,001	0,808	0,001
Ингибитор НАДФ-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназы	EC 1.1.1.82	0,471	0,002	0,522	0,003

Обращает на себя внимание влияние естественных интермедиатов на экспрессию генов (табл. 3). Пируват и лактат усиливают экспрессию гена *HMOX1*, кодирующего стресс-индуцированный белок гемо-

ксигеназу-1, который регулирует жизнеспособность, пролиферацию и дифференцировку многих типов клеток. В исследованиях R.A. Zager и соавт. (2014) использование пирувата приводило к увеличению

цитопротекторной матричной РНК оксигеназы 1 и IL-10, избирательному снижению провоспалительных MCP-1 и TNF- α и повышению уровня АТФ [31]. Пируват ослабляет секрецию белка амфотерина в клетках путем индукции гемоксигеназы-1 за счет активации пути фосфатидилинозитол-3-киназы, протеинкиназы и ядерного фактора 2 [32].

Интересным представляется тот факт, что пируват и лактат усиливают экспрессию гена *TP53* – транскрипционного фактора, регулирующего клеточный цикл. Как известно, белок p53 выполняет функцию супрессора образования злокачественных опухолей, благодаря чему гену *TP53* приписывают свойства антионкогена [33]. Предсказано ингибирующее влияние пирувата на экспрессию гена *MMP9* белка семейства матричных металлопротеиназ. Повышение уровня белка p53 способствует ингибированию роста клеточной культуры немелкоклеточного рака легких, приостанавливает инвазию, миграцию и индуцирует апоптоз [34]. Пируват уменьшает экспрессию гена *TNF* фактора некроза опухоли (TNF). Известно, что этот ген кодирует многофункциональный провоспалительный цитокин, который в основном секретруется макрофагами и участвует в регуляции пролиферации клеток, дифференцировки, апоптоза. Показано, уменьшение инфильтрации легочной ткани при радиационно-индуцированной травме легких за счет снижения уровня провоспалительных факторов интерлейкина (IL) -1 β , IL-6, TNF- α , GM-CSF, M-CSF, TGF- β 1 и HMGB1 [31, 35].

Таблица 3

Влияние пирувата и лактата на экспрессию генов				
Влияние на экспрессию генов	<i>P_a</i> пир	<i>P_i</i> пир	<i>P_a</i> лак	<i>P_i</i> лак
Ингибитор экспрессии гена <i>BRAF</i>	0,724	0,003	–	–
Усилитель экспрессии гена <i>TP53</i>	0,676	0,031	0,507	0,022
Ингибитор экспрессии гена <i>MMP9</i>	0,606	0,015	0,15	0,065
Ингибитор экспрессии гена <i>TNF</i>	0,589	0,014	0,163	0,084
Усилитель экспрессии гена <i>HMOX1</i>	0,549	0,027	0,553	0,017
Ингибитор экспрессии гена <i>EIF4E</i>	0,544	0,005	0,015	0,005
Ингибитор экспрессии гена <i>TERT</i>	–	–	0,621	0,016

Компьютерной программой PASS спрогнозировано ингибиторное действие пирувата на экспрессию гена *EIF4E* эукариотического фактора инициации трансляции 4E, его активация связана с канцерогенезом. Пируват ингибирует экспрессию гена *BRAF*. Белок B-Raf – протоонкоген, является частью сиг-

нального пути RAS/MAPK, который регулирует рост, пролиферацию, дифференцировку, миграцию и апоптоз клеток [36]. Предсказано, что лактат ингибирует экспрессию гена *TERT* – теломеразной обратной транскриптазы, которая является каталитической субъединицей фермента. Ген *TERT* проявляет свою активность в основном в прогениторных и раковых клетках, в меньшей степени в соматических клетках, играя важную роль в старении.

Система STITCH для определения белковых партнеров взаимодействия с малыми молекулами. В программе STITCH нами осуществлен поиск межмолекулярных партнеров для пирувата и лактата. Количество взаимодействий для пирувата составило 109, для лактата 384 при использовании среднего порога достоверности *p* более 0,4. Отмечаются взаимодействия исследуемых малых молекул с рецепторами, белками-переносчиками, гормонами, ферментами, на основании которых были построены молекулярные модели. В таблице 4 предсказаны с высокой степенью достоверности общие для пирувата и лактата белки-партнеры. Подтверждается факт взаимодействия пирувата и лактата в качестве субстратов с лактатдегидрогеназой и ее различными изоформами.

Предсказана вероятность пирувата и лактата связываться с каталитическим белком пируваткиназой, которая стимулирует POU5F1-опосредованную активацию транскрипции и играет общую роль в каспазо-независимой гибели опухолевых клеток. Соотношение между высокоактивной тетрамерной формой и почти неактивной димерной формой пируваткиназы определяет, будет ли углерод глюкозы направляться в процессы биосинтеза или использоваться для производства гликолитического АТФ. Переход между двумя формами способствует контролю гликолиза, важен для пролиферации и выживания опухолевых клеток [37].

Пируват и лактат с одинаково высокой степенью вероятности вступают во взаимодействие с белками семейства транспортеров растворенных веществ (Solute Carrier Family, SLC16, SLC5), митохондриальным переносчиком пирувата (MPC) 1-го и 2-го типов. Действуя через лактатные рецепторы HCAR1/GPR81 или будучи транспортируемыми монокарбоксилатными транспортерами MCT через мембрану клеток, метаболиты оказывают влияние на функциональную активность клеток различных тканей (эндотелий, клетки жировой ткани, нейроны), что приводит к изменению метаболизма, пролиферации, дифференцировки [38, 39].

Изучаемые естественные интермедиаты пируват и лактат с высокой степенью вероятности выступают лигандом для эндотелиального сосудистого фак-

тора (VEGF). В частности, интересны эффекты лактата как проангиогенного фактора, действующего за счет увеличения экспрессии VEGF. В некоторых тканях лактат поглощается и окисляется макрофагами, а лактат-опосредованная поляризация макрофа-

гов способствует ревазуляризации и регенерации мышц. Была установлена способность лактата изменять морфогенез и перфузию сосудов опухоли, тем самым определена связь между метаболизмом в опухолевых тканях и ангиогенезом [39, 40].

Таблица 4

Белки-партнеры взаимодействия с пируватом и лактатом			
Белок	Описание	<i>p</i> пир	<i>p</i> лак
PKM	Пируваткиназа мышечная	0,985	0,898
HAO1	Гидроксикислота оксидаза	0,973	0,717
LDHA	L-лактатдегидрогеназа цепь А	0,969	0,998
LDHC	L-лактатдегидрогеназа цепь С	0,968	0,990
LDHB	L-лактатдегидрогеназа цепь В	0,968	0,986
LDHAL6A	Лактатдегидрогеназа А типа 6А	0,960	0,929
LDHAL6B	Лактатдегидрогеназа А типа 6В	0,957	0,915
LDHD	Лактатдегидрогеназа D	0,910	0,911
SLC16A1	Семейство транспортеров растворенных веществ 16, участник 1	0,909	0,994
SLC16A3	Семейство транспортеров растворенных веществ 16, участник 3	0,909	0,969
SLC16A 7	Семейство транспортеров растворенных веществ 16, участник 7	0,900	0,969
SLC5A8	Семейство транспортеров растворенных веществ 5, участник 8	0,900	0,954
MPC1	Митохондриальный переносчик пирувата 1	0,900	0,908
MPC2	Митохондриальный переносчик пирувата 2	0,900	0,900
VEGFA	Сосудистый эндотелиальный фактор роста А	0,814	0,879

p – вероятность взаимодействия малой молекулы и белка.

В таблице 4 представлены белки, указывающие на факт взаимодействия пирувата с такими белками-ферментами, как пируват карбоксилаза, митохондриальная фосфоенолпируваткарбоксикиназа, дигидролипоамиддегидрогеназа и дигидролипоамид-трансацилаза – компоненты пируватдегидрогеназного комплекса. Спрогнозировано взаимодействие пирувата с различными изоформами малатдегидрогеназы: цитозольной НАДФ-зависимой изоформы (ME1), митохондриальной НАДФ-зависимой изоформы (ME3) и митохондриальной НАД-зависимой изоформы (ME2). Имеются данные о взаимосвязи пирувата с глицерол-3-фосфатдегидрогеназой и фосфолипазой А2, которая катализирует кальций-зависимый гидролиз 2-ацильных групп в 3-*sn*-фосфоглицеридах. При этом высвобождаются глицерофосфолипиды и арахидоновая кислота, которые сами являются предшественниками сигнальных молекул.

Предсказана возможность пирувата быть лигандом цистатион гамма-лиазы, которая осуществляет сульфидирование метионина; активирует сульфур-трансферазу, выполняющей детоксификацию цианида и биосинтез тиосульфатов. Оба эти белка генерируют эндогенную форму сероводорода, являющейся синаптическим модулятором, сигнальной молекулой, нейропротектором, регулятором артериального давления [41]. Пируват способен вступать во вза-

имодействие с цитохромом b5, представляющим собой мембраносвязанный гемопротейн, который функционирует в качестве переносчика электронов для нескольких мембраносвязанных оксигеназ.

Интересными являются данные о взаимосвязи лактата со многими рецепторами, в числе которых рецепторы гидроксикарбоновой кислоты HCAR1, HCAR2, HCAR3, проявляющие свои эффекты с использованием G-белок опосредованного пути. Кроме этого, показано, что лактат может взаимодействовать с альфа-2 адренергическими рецепторами ADRA2A, ADRA2B, ADRA2C, опосредующими катехоламиновое ингибирование аденилатциклазы под действием G-белков. С высокой степенью изучаемый интермедиат вступает во взаимодействие с опиоидными, дофаминовыми, мускариновыми холинэргическими, брадикининовыми, глутаматными, рецепторами лизофосфатидной кислоты, G-белок-связанным рецептором, что говорит об участии лактата в передаче нервного импульса [21]. Нейропротекторный эффект, вероятно, связан с белком MTRNR2, благодаря чему уменьшается продукция бета-амилоидного пептида при болезни Альцгеймера [22]. Стоит отметить функцию лактата выступать лигандом для нейромедиаторов: глутамат, дофамин, ацетилхолин, гистамин, простагландин E2.

Таким образом, спрогнозирована и экспериментально доказана метаболическая роль лактата в

уменьшении развития нейродегенеративных процессов, рядом ученых лактат рассматривается в качестве медиатора или гормона, участвующего в формировании памяти и нейропротекции [23]. Обсуждается применение лактата в клинических исследованиях при лечении ишемии и нейродегенеративных заболеваний, что имеет в своей основе стимулирующее действие лактата на процессы пластичности мозга. В частности, интересна роль лактата в качестве нейропротекторного фактора при болезни Альцгеймера, что определяется его способностью обеспечивать метаболическое сопряжение между астроцитами и нейронами в активных регионах мозга и участвовать в регуляции церебрального ангиогенеза [24, 26].

Нами была отмечена высокая вероятность взаимодействия лактата с адреналином, соматостатином, мелатонином, полипептидом поджелудочной железы, промеланин-концентрирующий гормоном. Также лактат может взаимодействовать по рецептор-опосредованному механизму с серотониновыми рецепторами, рецепторами гормонов галанина и простагландина E.

Обращает на себя внимание высокая способность лактата и пирувата воздействовать на иммунологические и воспалительные процессы, как было спрогнозировано с помощью платформы PASS. Лактат связывается с интерлейкинами (IL) -8, IL-6 – мощными индукторами острой фазы, участвующими в окончательной дифференцировке В-клеток, лимфоцитов и моноцитов; IL-10, ингибирующим синтез цитокинов (гамма-интерферон, IL-2, IL-3, TNF и GM-CSF); IL-1 α , участвующим в воспалительном ответе и стимулирующим высвобождение простагландина и коллагеназы из синовиальных клеток. Пируват, в свою очередь, выступает лигандом для рецептора IL-31.

Эти данные подтверждены в ряде экспериментальных работ *ex vivo* и *in vivo*. Показано, что внутриклеточное содержание пирувата положительно коррелирует с уровнями IL-1 β и IL-10 у пациентов с внебольничной пневмонией. Повышение уровня пирувата частично поддерживает способность гипореактивных моноцитов к продукции цитокинов [42]. Отмечен противовоспалительный и потенциальный терапевтический эффект пирувата в экспериментальной модели аппендицита у крыс [43]. Обсуждается клиническое применение и лечебное действие назального спрея с пируватом при аллергическом рините [44, 45].

Отмечена способность лактата быть партнером взаимодействия для различных групп хемокинов. Так, хемокин CCL5 является аттрактантом для моноцитов крови, Т-хелперов и эозинофилов, вызывает выброс гистамина из базофилов. Связываясь с хемокинами CCR1, CCR3, CCR4 и CCR5, является одним из ос-

новных ВИЧ-супрессивных факторов, продуцируемых CD8⁺ Т-клетками. Хемокин CXCL1 обладает активностью для нейтрофилов и может играть роль в воспалении, оказывая свое влияние на эндотелиальные клетки. В работе D. Zhang и соавт. (2019) показано, что лактирование остатков лизина служит эпигенетической модификацией, которая непосредственно стимулирует транскрипцию генов хроматина макрофагов. Лактирование гистонов способствует пониманию функций лактата и его роли в различных патофизиологических проявлениях инфекционной и неинфекционной природы, что может указывать на тесную функциональную взаимосвязь метаболического статуса и экспрессионного профиля клеток [46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методами компьютерного моделирования был раскрыт спектр биологической активности лактата и пирувата, а также охарактеризованы белки-партнеры по взаимодействию. Изучаемые нами малые молекулы выполняют координационную роль в функционировании и модуляции медиаторного, гормонального, рецепторного ответов, иммунологических, воспалительных, антибактериальных, противовирусных реакций, экспрессии генов. Обсуждается использование естественных интермедиатов в качестве терапевтических средств для лечения ишемического инсульта, острых неврологических расстройств, нейродегенерации, что имеет в своей основе стимулирующее действие метаболитов на процессы пластичности мозга.

Проявление этих свойств, вероятно, реализуется через конформационную перестройку рецепторов, активных центров связывания, экспрессии множества генов, изменение функциональных проявлений каталитических и других белков. Полученные знания, очевидно, расширят наше понимание роли малых молекул в межмолекулярных взаимодействиях метаболит–белок. Публикации в этом направлении начали появляться только в 2009 г. и были обобщены в систематическом обзоре X. Li и соавт. [45]. В 2022 г. была высказана оригинальная точка зрения о связи малых молекул с белковыми мультимерами. С легкой руки авторов вводится термин «метаболическая запутанность», предстоит расшифровать наличие лиганд-связывающих карманов в белковых структурах для малых молекул, что даст возможность к интеграции метаболомики и белковой интерактомики [46].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kuhn M., Szklarczyk D., Pletscher-Frankild S., Blicher T.H., von Mering C., Jensen L.J. et al. STITCH 4: integration of protein-chemical interactions with user data. *Nucleic Acids Res.* 2014; 2:D401–407. DOI: 10.1093/nar/gkt1207.

2. Li S., Shui W. Systematic mapping of protein-metabolite interactions with mass spectrometry-based techniques. *Current Opinion in Biotechnology*. 2020;64:24–31. DOI: 10.1016/j.copbio.2019.09.002.
3. Tsukidate T., Li Q., Hang H.C. Targeted and proteome-wide analysis of metabolite-protein interactions. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2020; 54:19–27. DOI: 10.1016/j.cbpa.2019.10.008.
4. Lipinski C., Hopkins A. Navigating chemical space for biology and medicine. *Nature*. 2004; 16;432(7019):855–861. DOI: 10.1038/nature03193.
5. Zhao T., Liu J., Zeng X., Wang W., Li S., Zang T. et al. Prediction and collection of protein-metabolite interactions. *Briefings in Bioinformatics*. 2021;22(5):bbab014. DOI: 10.1093/bib/bbab014.
6. Филимонов Д.А., Дружилловский Д.С., Лагунин А.А., Глориева Т.А., Рудик А.В., Дмитриев А.В. и др. Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности химических соединений: возможности и ограничения. *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. 2018;1(1):e00004. DOI: 10.18097/BMCRM00004.
7. Elia I., Rossi M., Stegen S., Broekaert D., Doglioni G., van Gorsel M. et al. Breast cancer cells rely on environmental pyruvate to shape the metastatic niche. *Nature*. 2019;568(7750):117–121. DOI: 10.1038/s41586-019-0977-x.
8. Karsy M., Guan J., Huang L.E. Prognostic role of mitochondrial pyruvate carrier in isocitrate dehydrogenase-mutant glioma. *Journal of Neurosurgery*. 2018;130(1):56–66. DOI: 10.3171/2017.9.JNS172036.
9. Brooks G.A. Lactate: link between glycolytic and oxidative metabolism. *Sports Medicine*. 2007;37(4-5):341–343. DOI: 10.2165/00007256-200737040-00017.
10. Brooks G.A. Energy flux, lactate shuttling, mitochondrial dynamics, and hypoxia. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016;903:439–455. DOI: 10.1007/978-1-4899-7678-9_29.
11. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Ihlenfeldt W.D., Glorizova T.A., Lagunin A.A., Borodina Y.V. et al. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2003;43(1):228–236. DOI: 10.1021/ci020048r.
12. 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):D380–384. DOI: 10.1093/nar/gkv1277.
13. Wang Y., Huang Y., Yang J., Zhou F.Q., Zhao L., Zhou H. Pyruvate is a prospective alkalizer to correct hypoxic lactic acidosis. *Mil. Med. Res.* 2018;5(1):13. DOI: 10.1186/s40779-018-0160-y.
14. Maekawa K., Sugita C., Yamashita A., Moriguchi-Goto S., Furukoji E., Sakae T. et al. Higher lactate and purine metabolite levels in erythrocyte-rich fresh venous thrombus: Potential markers for early deep vein thrombosis. *Thromb. Res.* 2019;177:136–144. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.03.011.
15. Feng T., Zhao X., Gu P., Yang W., Wang C., Guo Q. et al. Adipocyte-derived lactate is a signalling metabolite that potentiates adipose macrophage inflammation via targeting PHD2. *Nature Communications*. 2022;13(1):5208. DOI: 10.1038/s41467-022-32871-3.
16. Gray L.R., Tompkins S.C., Taylor E.B. Regulation of pyruvate metabolism and human disease. *Cell Mol. Life Sci.* 2014;71(14):2577–2604. DOI: 10.1007/s00018-013-1539-2.
17. Sharma A.B., Barlow M.A., Yang S.H., Simpkins J.W., Mallet R.T. Pyruvate enhances neurological recovery following cardiopulmonary arrest and resuscitation. *Resuscitation*. 2008;76(1):108–119. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2007.04.028.
18. Жирнов О.П., Манькин А.А. Ph-зависимые перестройки в структуре вируса гриппа. *Вопросы вирусологии*. 2014;59(3):41–46.
19. Mallet R.T., Olivencia-Yurvati A.H., Bünger R. Pyruvate enhancement of cardiac performance: Cellular mechanisms and clinical application. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2018;243(2):198–210. DOI: 10.1177/1535370217743919.
20. Moro N., Ghavim S.S., Harris N.G., Hovda D.A., Sutton R.L. Pyruvate treatment attenuates cerebral metabolic depression and neuronal loss after experimental traumatic brain injury. *Brain Res.* 2016;1642:270–277. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.04.005.
21. Zhang J.J., Zhang Z.Z., Ke J.J., He X.H., Zhan J., Chen D.L. et al. Protection against intestinal injury from hemorrhagic shock by direct peritoneal resuscitation with pyruvate in rats. *Shock*. 2014;42(5):464–471. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000230.
22. Sharma P., Mongan P.D. Hypertonic sodium pyruvate solution is more effective than Ringer's ethyl pyruvate in the treatment of hemorrhagic shock. *Shock*. 2010;33(5):532–540. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181cc02b3.
23. Proia P., Di Liegro C.M., Schiera G., Fricano A., Di Liegro I. Lactate as a metabolite and a regulator in the central nervous system. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(9):1450. DOI: 10.3390/ijms17091450.
24. Zhang J., Muri J., Fitzgerald G., Gorski T., Gianni-Barrera R., Masschelein E. et al. Endothelial lactate controls muscle regeneration from ischemia by inducing M2-like macrophage polarization. *Cell Metab.* 2020;31(6):1136–1153.e7. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.05.004.
25. Zhang M., Wang Y., Bai Y., Dai L., Guo H. Monocarboxylate transporter 1 may benefit cerebral ischemia via facilitating lactate transport from glial cells to neurons. *Front Neurol*. 2022;13:781063. DOI: 10.3389/fneur.2022.781063.
26. Sag S., Elemen L., Masrabaci K., Recber S.F., Sonmez Y., Aydin S. et al. Potential therapeutic effects of ethyl pyruvate in an experimental rat appendicitis model. *J. Pediatr. Surg.* 2022;57(10):457–462. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2021.11.016.
27. Seo M.S., Kim H.J., Kim H., Park S.W. Ethyl pyruvate directly attenuates active secretion of HMGB1 in proximal tubular cells via induction of heme oxygenase-1. *J. Clin. Med.* 2019;8(5):629. DOI: 10.3390/jcm8050629.
28. Otto N.A., Butler J.M., Schuurman A.R., Brands X., Haak B.W., Klarenbeek A.M. et al. Intracellular pyruvate levels positively correlate with cytokine production capacity in tolerant monocytes from patients with pneumonia. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2022;1868(11):166519. DOI: 10.1016/j.bbadis.2022.166519.
29. Ярцев В.Н. Парадоксальное действие ацидоза на нейрогенный тонус кровеносных сосудов в условиях низкой температуры. *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2014;4:84–85.

30. Rauckhorst A.J., Taylor E.B. Mitochondrial pyruvate carrier function and cancer metabolism. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2016;38:102–109. DOI: 10.1016/j.gde.2016.05.003.
31. Frank D., Kuts R., Tsenter P., Gruenbaum B.F., Grinshpun Y., Zvenigorodsky V. et al. The effect of pyruvate on the development and progression of post-stroke depression: A new therapeutic approach. *Neuropharmacology.* 2019;155:173–184. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.05.035.
32. Zager R.A., Johnson A.C., Becker K. Renal cortical pyruvate depletion during AKI. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014;25(5):998–1012. DOI: 10.1681/ASN.2013070791.
33. Chavez-Perez V.A., Strasberg-Rieber M., Rieber M. Metabolic utilization of exogenous pyruvate by mutant p53 (R175H) human melanoma cells promotes survival under glucose depletion. *Cancer Biol. Ther.* 2011;12(7):647–656. DOI: 10.4161/cbt.12.7.16566.
34. Liu Q., Huo Y., Zheng H., Zhao J., Jia L., Wang P. Ethyl pyruvate suppresses the growth, invasion and migration and induces the apoptosis of non-small cell lung cancer cells via the HMGB1/RAGE axis and the NF- κ B/STAT3 pathway. *Oncol. Rep.* 2019;42(2):817–825. DOI: 10.3892/or.2019.7176.
35. Chen B., Na F., Yang H., Li R., Li M., Sun X. et al. Ethyl pyruvate alleviates radiation-induced lung injury in mice. *Biomed. Pharmacother.* 2017;92:468–478. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.05.111.
36. Delgado-Goni T., Miniotti M.F., Wantuch S., Parkes H.G., Marais R., Workman P. et al. The BRAF inhibitor vemurafenib activates mitochondrial metabolism and inhibits hyperpolarized pyruvate-lactate exchange in BRAF-mutant human melanoma cells. *Mol. Cancer Ther.* 2016;15(12):2987–2999. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0068.
37. Luo W., Hu H., Chang R., Zhong J., Knabel M., O'Meally R. et al. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1. *Cell.* 2011;145(5):732–744. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.054.
38. Halestrap A.P., Wilson M.C. The monocarboxylate transporter family-role and regulation. *IUBMB Life.* 2012;64(2):109–119. DOI: 10.1002/iub.572.
39. Zhang L., Gui X., Zhang X., Dai Y., Wang X., Tong X. et al. Endothelial cell: lactate metabolic player in organ regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2021;9:701672. DOI: 10.3389/fcell.2021.701672.
40. Song J., Lee K., Park S.W., Chung H., Jung D., Na Y.R. et al. Lactic acid upregulates VEGF expression in macrophages and facilitates choroidal neovascularization. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2018;59(8):3747–3754. DOI: 10.1167/iovs.18-23892.
41. Kuo M.M., Kim D.H., Jandu S., Bergman Y., Tan S., Wang H. et al. MPST but not CSE is the primary regulator of hydrogen sulfide production and function in the coronary artery. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2016;310(1):H71–79. DOI: 10.1152/ajpheart.00574.2014.
42. Tang F., Lane S., Korsak A., Paton J.F., Gourine A.V., Kasparov S. et al. Lactate-mediated glia-neuronal signalling in the mammalian brain. *Nature Communications.* 2014;5:3284. DOI: 10.1038/ncomms4284.
43. Zhang M., Cheng X., Dang R., Zhang W., Zhang J., Yao Z. Lactate deficit in an alzheimer disease mouse model: the relationship with neuronal damage. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2018;77(12):1163–1176. DOI: 10.1093/jnen/nly102.
44. Li L.S., Wang R.Q., Guan K. Treatment effect of sodium pyruvate nasal spray on allergic rhinitis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2017;31(2):103–106. In Chinese. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1781.2017.02.006.
45. Martin A., Lupfer C., Amen R. Sodium pyruvate nasal spray reduces the severity of nasal inflammation and congestion in patients with allergic rhinitis. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2022;35(6):291–295. DOI: 10.1089/jamp.2022.0025.
46. Zhang D., Tang Z., Huang H., Zhou G., Cui C., Weng Y. et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature.* 2019;574(7779):575–580. DOI: 10.1038/s41586-019-1678-1.
47. Li X., Wang X., Snyder M. Systematic investigation of protein-small molecule interactions. *IUBMB Life.* 2013;65(1):2–8. DOI: 10.1002/iub.1111.
48. Skolnick J., Zhou H. Implications of the essential role of small molecule ligand binding pockets in protein-protein interactions. *J. Phys. Chem. B.* 2022;126(36):6853–6867. DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c04525.

Информация об авторах

Колотьева Наталия Александровна – д-р мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, отдел молекулярных и клеточных механизмов нейропластичности, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, kolotyeva.n@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Гильмиярова Фрида Насыровна – д-р мед. наук, профессор, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, заслуженный деятель науки РФ, СамГМУ, г. Самара, kaf_biohim@samsmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5992-3609>

Гусьякова Оксана Анатольевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, СамГМУ, г. Самара, o.a.gusyakova@samsmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Семашкова Екатерина Александровна – ассистент, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, СамГМУ, г. Самара, e.a.semashkova@samsmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5023-9031>

(✉) Колотьева Наталия Александровна, kolotyeva.n@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.06.2022;
одобрена после рецензирования 10.03.2023;
принята к публикации 23.03.2023