© КУТИХИН А. Г., АНТОНОВА Л. В., СЕВОСТЬЯНОВА В. В., ПОНАСЕНКО А. В., БАРБАРАШ Л. С.

УДК 616.13-77:577.11

DOI: 10.20333/2500136-2018-5-66-76

IN SILICO АНАЛИЗ АФФИННОСТИ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ VEGF, bFGF, SDF-1α К СООТВЕТСТВУЮЩИМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ/ОВЕЧЬИМ РЕЦЕПТОРАМ

А. Г. Кутихин, Л. В. Антонова, В. В. Севостьянова, А. В. Понасенко, Л. С. Барбараш

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, 650002, Российская Федерация

Цель исследования. Сравнение аффинности человеческих биоактивных факторов (VEGF, bFGF/FGF-2 и SDF-1α) к соответствующим человеческим и овечьим рецепторам (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4).

Материал и методы. По базам данных RCSB PDB, PDBe и PDBj были определены PDB-номера третичных структур указанных белков, а также UniProtKB-номера их аминокислотных последовательностей. Далее при помощи выравнивания и сравнения аминокислотных последовательностей в программе Geneious был проведен анализ гомологичности первичной и вторичной структуры человеческих и овечьих белков. Так как третичная структура анализируемых белков экспериментально расшифрована только для человека, в программе SwissModel было выполнено гомологичное моделирование третичной структуры соответствующих белков овцы. Молекулярный докинг-анализ был осуществлен при помощи программы PatchDock с целью общей оценки аффинности лиганда к рецептору и посредством программы ZDOCK для построения трехмерных моделей лиганд-рецепторных взаимодействий.

Результаты. Первичная и вторичная структура анализируемых человеческих и овечьих белков была идентична более чем на 90 %, что позволило предположить сходную аффинность биоактивных факторов к соответствующим рецепторам. Процент различий между условными показателями аффинности человеческих биоактивных факторов к овечьим рецепторам в сравнении с соответствующими условными показателями аффинности к человеческим рецепторам лишь незначительно превышал суммарный процент межвидовых различий первичной структуры данных белков. Трехмерное моделирование взаимодействий различных вариантов биоактивных факторов с их рецепторами показало, что вариант расшифровки третичной структуры биоактивного фактора (PDB-номер) практически не влияет на их взаимодействие с рецепторами внутри одного биологического вида.

Заключение. Аффинность человеческих биоактивных факторов (VEGF, bFGF, SDF-1α) к соответствующим овечьим и человеческим рецепторам (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4) различается незначительно.

Ключевые слова: сосудистые графты, овечья модель, VEGF, bFGF, SDF-1α, анализ in silico, молекулярный докинг-анализ, аффинность.

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

Для цитирования: Кутихин АГ, Антонова ЛВ, Севостьянова ВВ, Понасенко АВ, Барбараш ЛС. In Silico анализ аффинности человеческих VEGF, bFGF, SDF-1α к соответствующим человеческим/овечьим рецепторам. Сибирское медицинское обозрение. 2018;(5):66-76. DOI: 10.20333/2500136-2018-5-66-76

IN SILICO ANALYSIS OF HUMAN VEGF, bFGF, SDF-1α AFFINITY TO RELEVANT HUMAN / OVINE RECEPTORS

A. G. Kutikhin, L. V. Antonova, V. V. Sevostyanova, A. V. Ponasenko, L. S. Barbarash

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, 650002, Russian Federation

The aim of the research. Comparison of affinity of human bioactive factors (VEGF, bFGF / FGF-2 and SDF-1α) to the corresponding human and ovine receptors (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4).

Material and methods. PDB numbers of tertiary structures of the mentioned proteins, as well as UniProtKB-numbers of their amino acid sequences, were determined from the RCSB PDB, PDBe and PDBj databases. Further, by aligning and comparing the amino acid sequences in Geneious program, the homology of primary and secondary structure of human and ovine proteins were analyzed. Since the tertiary structure of the analyzed proteins was experimentally decoded only for humans, homologous modeling of tertiary structure of corresponding ovine proteins was performed in SwissModel program. Molecular docking analysis was carried out in PatchDock program in order to evaluate ligand affinity to the receptor and in ZDOCK program to construct 3D models of ligand-receptor interactions.

Results. Primary and secondary structure of the analyzed human and ovine proteins was identical for more than 90 %, that made it possible to suggest similar affinity of bioactive factors to relevant receptors. The percentage of differences between the conditional indices of the affinity of human bioactive factors and ovine receptors in comparison with relevant conditional indices of affinity for human receptors was only slightly higher than the combined percentage of interspecific differences in primary structure of these proteins. 3D modeling of interactions of different variants of bioactive factors with their receptors has shown that the variant of deciphering the tertiary structure of bioactive factor (PDB-number) practically does not affect their interaction with receptors within a single biological species.

Conclusion. Affinity of human bioactive factors (VEGF, bFGF, SDF-1 α) to the corresponding ovine and human receptors (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4) differs insignificantly.

Key words: vascular grafts, ovine model, VEGF, bFGF, SDF-1 α , in silico analysis, molecular docking analysis, affinity.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Kutikhin AG, Antonova LV, Sevostyanova VV, Ponasenko AV, Barbarash LS. In Silico analysis of human VEGF, bFGF, SDF-1 α affinity to relevant human / ovine receptors. *Siberian Medical Review*.2018;(5):66-76. DOI: 10.20333/2500136-2018-5-66-76

Введение

Причиной большинства (> 70 %) смертей от сердечно-сосудистых заболеваний является атеросклероз [1], клинически проявляющийся ишемической болезнью сердца, острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу и заболеваниями периферических артерий [2]. Другой актуальной проблемой кардиологии и кардиохирургии являются врожденные пороки крупных сосудов сердца (стеноз и атрезия), при которых артерии или вены сужены, заращены или вовсе отсутствуют вследствие внутриутробных дефектов развития [3]. Значительное место в кардиохирургии также занимает лечение травматических сосудистых поражений, где особенно важна скорость остановки кровотечения и восстановления кровоснабжения органов и тканей, зависящих от функционирования поврежденного сосуда [4].

В тех случаях, когда не имеет смысла или нет технической возможности расширить просвет сосуда путем проведения баллонной ангиопластики, альтернативными хирургическими способами восстановления кровоснабжения являются создание обходного пути для кровотока (шунтирование) или прямая замена оперируемого сосуда на аналогичный [5]. Оба данных способа подразумевают использование сосудистых протезов [5]. Несмотря на то, что использование аутографтов (собственной внутренней грудной артерии, лучевой артерии или большой подкожной вены) на данный момент являются «золотым стандартом» [6], как минимум у трети пациентов это не представляется возможным, поскольку указанные сосуды уже забирались для предыдущего хирургического вмешательства либо непригодны в силу распространенного атеросклеротического поражения, возрастной дегенерации или других факторов [7]. Кроме того, необходимость предварительного забора аутологичного графта увеличивает объем требуемого хирургического вмешательства [7]. Что касается сосудистых аллографтов и ксенографтов, то они показали лишь ограниченную эффективность вследствие целого ряда распространенных осложнений: иммунного отторжения, инфицирования и кальцификации [4, 8].

Синтетические сосудистые протезы из расширенного политетрафторэтилена, полиэтилентерефталата или полиуретанов применяются в клинической практике с 50-х годов XX века и показали свою пригодность для замещения артерий крупного и среднего калибра (> 6 мм), в которых высокая скорость кровотока и низкое сосудистое сопротивление являются основными причинами относительно низкого риска тромбоза и хорошей долговременной проходимости [6, 9-11]. В то же время синтетические сосудистые графты артерий малого диаметра ($\leq$ 6 мм) продемонстрировали достаточно низкую проходимость (40 % и 25 % через 6 месяцев и 3 года после имплантации соответственно) [6]. Причинами этого являются тромбоз и гипертрофия интимы, вызываемые отсутствием формирования монослоя эндотелиальных клеток, низкой скоростью кровотока и несовпадением комплаентности (изменения радиуса сосуда в соответствии с изменением давления) графта и аутологичной артерии [11, 12]. Другими причинами являются инфицирование, кальцификация и формирование псевдоаневризм [4, 13]. Еще одним важным недостатком таких биостабильных синтетических графтов является отсутствие способности к адаптивному росту, что зачастую требует повторного хирургического вмешательства, которое часто приводит к неблагоприятным исходам в отдаленном периоде [4, 6]. Особую важность это имеет у детей с пороками сердца, которым в силу возрастного роста часто требуется замена сосудистого протеза [6].

В настоящее время тканевая инженерия является одним из наиболее многообещающих подходов к созданию прочных и биосовместимых сосудистых протезов малого диаметра [4]. В частности, биодеградируемые полимерные каркасы пригодны выступать в качестве поверхности для адгезии, пролиферации, миграции и дифференцировки клеток с дальнейшим формированием новой сосудистой ткани и последующей деградацией каркаса [7]. Клиническая потребность в готовом к использованию биодеградируемом сосудистом графте малого диаметра покрывает практически все области сердечно-сосудистой хирургии:

сердечную хирургию (лечение ишемической болезни сердца), сосудистую хирургию (восстановление кровотока при ишемии нижних конечностей), нейрохирургию (восстановление кровоснабжения при остром нарушении мозгового кровообращения), детскую хирургию (лечение врожденных пороков сердца) и микрохирургию (травмы кистей) [4].

Поскольку в отсутствие предварительной биофункционализации сосудистые графты малого диаметра не показывают достаточно высокой проходимости [14], с целью улучшения адгезии стволовых и прогениторных клеток и их проникновения в стенку графта активно тестируется стратегия инкорпорирования биоактивных факторов в полимерные каркасы [8, 11, 15, 16]. В частности, нашими коллегами из НИИ КПССЗ изучается эффективность применения комбинации сосудистого эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), основного фактора роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF/FGF-2) и фактора стромальных клеток 1α (stromal cell-derived factor, SDF-1α) [17-19]. VEGF индуцирует миграцию, пролиферацию и дифференцировку эндотелиальных клеток, ускоряет синтез оксида азота и повышает проницаемость сосудов [11, 20, 21]. VEGF является наиболее мощным стимулятором неоваскуляризации среди всех факторов роста; в то же время слишком высокая доза VEGF вызывает образование незрелых окончатых капилляров, сходных с капиллярами опухолевой ткани [22]. bFGF/FGF-2 также способствует миграции и пролиферации эндотелиальных и гладкомышечных клеток [23]. В сравнении с VEGF, bFGF/FGF-2 не является мощным проангиогенным фактором, однако способствует формированию более зрелых сосудов [24]. SDF-1α/CXCL12 представляет собой еще один сильный хемотактант для эндотелиальных клеток, стимулирующий формирование множественных длинных капиллярных сетей [25]. Помимо этого, SDF-1α/CXCL12 способствует миграции мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, которые экспрессируют CXCR4 (рецептор для SDF-1α/CXCL12) и могут дифференцироваться в гладкомышечные клетки внутри стенки графта [26].

Внедрение сосудистых графтов малого диаметра в клиническую практику в обязательном порядке требует предварительного их тестирования на крупных животных [27, 28]. В частности, овечья модель на текущий момент является моделью выбора для оценки сердечно-сосудистых имплантатов *in vivo* [29]. Так, ягнячья модель рекомендована FDA (Food and Drug

Administration) для исследования сосудистых графтов с целью коррекции врожденных пороков сердца, которая в основном проводится в детском возрасте [30], а пожилые овцы предпочтительны для изучения сосудистых графтов для шунтирования, которое проводится главным образом у пожилых пациентов [29]. Овцы обладают схожей с человеком анатомией и физиологией сердечно-сосудистой системы, при этом особенно схожи механизмы гемостаза [27-29]. Значительная длина шеи овец обеспечивает доступность общей сонной артерии для имплантации графта диаметром 4-6 мм, а также для дальнейшего ультразвукового обследования [27-29]. То, что овцы быстро достигают своих максимальных размеров и далее не растут, делает их пригодной моделью для долговременной имплантации графтов [27, 28]. Также считается, что овцы пригодны для «моделирования наихудшего случая» вследствие повышенной склонности их сосудов к кальцификации, что позволяет провести максимально строгое тестирование графтов на предмет их дегенерации *in vivo* [29]. Кроме того, овцы относительно удобны для разведения и сравнительно неприхотливы в содержании [27, 28]. В целом, овцы считаются оптимальными модельными животными для оценки адаптивного роста, эндотелизации, тромборезистентности, проходимости и постимплантационной визуализации тканеинженерных сосудистых графтов малого диаметра [28].

Конструирование описанных графтов требует подбора гомологичных биоактивных факторов, которые не всегда коммерчески доступны и получение которых в собственной лаборатории затруднено вследствие необходимости наличия специализированного высокотехнологичного оборудования и поставленных стандартизированных методик с регулярным контролем качества. Данный вопрос имеет особую актуальность в случае с овечьей моделью, поскольку овечьи биоактивные факторы труднодоступны в получении и не тождественны человеческим в составе медицинского изделия (требующего обязательной сертификации сосудистого имплантата малого диаметра). Поэтому для тестирования сосудистых графтов на овечьей модели представляет интерес изучение гомологичности человеческих и овечьих биоактивных факторов, а также сравнение аффинности человеческих биоактивных факторов к соответствующим человеческим и овечьим рецепторам. Для решения этой проблемы целесообразно использовать анализ *in silico*, при котором биоинформатически сравниваются непосредственно аминокислотные последовательности овечьих

и человеческих биоактивных факторов (первичная структура белка) и проводится моделирование их трехмерной (третичной) структуры в сочетании с аналогичной процедурой для соответствующих рецепторов с последующим сравнением аффинности человеческих биоактивных факторов к данным рецепторам. Целью данного исследования было проведение подобного биоинформатического анализа.

Материал и методы

На первом этапе работы проводился поиск PDB-номеров третичных структур белков (VEGF, bFGF, SDF-1 α , VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4), определенных методами рентгеновской кристаллографии и спектроскопии ядерно-магнитного резонанса, по базам данных RCSB PDB, PDBe и PDBj. С целью сравнения гомологичности указанных человеческих и овечьих белков для определения их аминокислотных последовательностей производился поиск их номеров по базе данных UniProtKB, при этом при наличии нескольких номеров для одного и того же белка приоритет отдавался reviewed-номерам и номерам с наибольшим annotation score (наивысшей надежностью и точностью определения аминокислотной последовательности). Анализ гомологичности выполнялся путем выравнивания и сравнения идентифицированных аминокислотных последовательностей с параллельным моделированием вторичной структуры белков в программе Geneious 11 (Biomatters). Поскольку третичная структура анализируемых белков на данный момент экспериментально определена только для человека (*Homo sapiens*), было выполнено гомологичное моделирование третичной структуры соответствующих белков овцы (*Ovis aries*) при помощи программы SwissModel. Собственно анализ аффинности человеческих биоактивных факторов к соответствующим человеческим и овечьим рецепторам (VEGF – VEGFR2, bFGF – FGFR1, bFGF – FGFR2, SDF-1 α – CXCR4) осуществлялся при помощи программы PatchDock с целью общей оценки аффинности лиганда к рецептору (рассматривалось 20 вариантов, отличающихся наивысшей аффинностью лиганда к рецептору, внутри которых оценивались минимальные и максимальные условные показатели аффинности) и посредством программы ZDOCK для построения трехмерных моделей взаимодействия лиганда с рецептором. При этом анализировались взаимодействия всех возможных вариантов третичной структуры каждого лиганда со всеми возможными вариантами третичной структуры соответствующего рецептора.

Результаты и обсуждение

Путем поиска по базам данных RCSB PDB, PDBe и PDBj были выявлены расшифрованные методами рентгеновской кристаллографии и спектроскопии ядерно-магнитного резонанса варианты третичной структуры человеческих белков VEGF (номера 3qtk, 1vpf, 2vpf), VEGFR2 (номер 3v2a), bFGF (номера 4fgf, 2fgf, 2bfh, 1bfg, 1fga), FGFR1 (номер 5a46), FGFR2 (номера 1nun и 2psq), SDF-1 α (номера 1sdf, 1vmc, 3hp3, 1a15, 1qg7, 2ked, 2kec, 2kee, 2sdf) и CXCR4 (номер 3oe0). Анализ гомологичности человеческих и овечьих биоактивных факторов и рецепторов к ним выявил, что схожесть первичной структуры VEGF между данными биологическими видами составляет 92,2 % (номера UniProtKB P15692 и P50412), VEGFR2 – 91,4 % (номера P35968 и W5NSG6), bFGF – 98,1 % (номера P09038 и P20003), FGFR1 – 98,7 % (номера P11362 и W5NU11), FGFR2 – 93,8 % (номера P21802 и W5P5S2), SDF-1 α – 93,3 % (номера P48061 и W5NYD5), а CXCR4 – 92,9 % (номера P61073 и W5PLA4). Таким образом, первичная, а также вторичная структура указанных человеческих и овечьих белков была идентична более чем на 90%, что явилось обоснованием для дальнейшего моделирования их третичной структуры с целью анализа лиганд-рецепторных взаимодействий. Сравнение гомологичности человеческих и овечьих белков (включая сопоставление их смоделированной вторичной структуры) представлено на рисунке 1.

Так как третичная структура анализируемых белков на данный момент экспериментально определена только для человека (*Homo sapiens*), для определения третичной структуры соответствующих белков овцы (*Ovis aries*) был применен метод гомологичного моделирования с генерацией трехмерных моделей в виде PDB-файлов. Анализ аффинности человеческих биоактивных факторов к соответствующим человеческим и овечьим рецепторам при помощи программы PatchDock (табл. 1) выявил, что процент различий между минимальными и максимальными условными показателями аффинности человеческого VEGF к овечьему VEGFR2 в сравнении с соответствующими условными показателями аффинности к человеческому VEGFR2 (2,5 % – 20,0 %) лишь незначительно превышает сочетанный процент межвидовых различий первичной структуры данных белков (7,8 % для VEGF и 8,6 % для VEGFR2). Схожие результаты были получены относительно аффинности человеческого bFGF к овечьим FGFR1 и FGFR2 в сравнении с аффинностью к человеческим FGFR1 и FGFR2 (6,5 % - 20,9 % для FGFR1

Рисунок 1. Сравнение первичной и вторичной структуры человеческих и овечьих биоактивных факторов (VEGF, bFGF, SDF-1α), а также первичной и вторичной структуры человеческих и овечьих рецепторов к биоактивным факторам (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4).

Figure 1. Comparison of primary and secondary structure of human and ovine bioactive factors (VEGF, bFGF, SDF-1α), primary and secondary structure of human and ovine receptors to bioactive factors (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4).

Таблица 1

Сравнение аффинности человеческих биоактивных факторов (VEGF, bFGF, SDF-1 α) к соответствующим человеческим и овечьим рецепторам согласно программе PatchDock (h – human, человеческий, o – ovine, овечий)

Table 1

Comparison of human bioactive factors (VEGF, bFGF, SDF-1 α) affinity to the relevant human and ovine receptors according to PatchDock program (h-human, human, o-ovine, ovine)

hVEGF/hVEGFR2 hVEGF/oVEGFR2	3v2a (человеческий)	3v2a (овечий)	Процент различий
3qtk	16642 – 21118	15100 – 17414	9,3% – 17,5%
1vpf	15798 – 21312	14316 – 17042	9,4% – 20,0%
2vpf	16870 – 19774	16188 – 19272	4,0% – 2,5%
hFGF/hFGFR1 hFGF/oFGFR1	5a46 (человеческий)	5a46 (овечий)	Процент различий
4fgf	11616 – 13170	10674 – 12318	8,1% – 6,5%
2fgf	11638 – 15214	10460 – 12028	10,1% – 20,9%
2bfh	11882 – 18472	10664 – 12542	10,2% – 32,1%
1bfg	11368 – 13764	10400 – 12354	8,5% – 10,2%
1fga	11750 – 12854	10726 – 11964	8,7% – 6,9%
hFGF/hFGFR2 hFGF/oFGFR2	1nup (человеческий)	1nup (овечий)	Процент различий
4fgf	11746 – 15904	11224 – 12942	4,4% – 18,6%
2fgf	11582 – 14058	10990 – 13056	5,1% – 7,1%
2bfh	11754 – 12658	11166 – 12178	5,0% – 3,8%
1bfg	11458 – 13598	11116 – 12308	3,0% – 9,5%
1fga	11520 – 15408	11598 – 12848	0,7% – 16,6%
hFGF/hFGFR2 hFGF/oFGFR2	2psq (человеческий)	2psq (овечий)	Процент различий
4fgf	11476 – 13770	10840 – 12840	5,5% – 6,8%
2fgf	11130 – 12644	10698 – 12366	3,9% – 2,2%
2bfh	12018 – 13816	10956 – 12662	8,8% – 8,3%
1bfg	11270 – 13498	10722 – 11920	4,9% – 11,7%
1fga	11386 – 13158	11172 – 12932	1,9% – 1,7%
hSDF-1 α /hCXCR4 hSDF-1 α /oCXCR4	3oe0 (человеческий)	3oe0 (овечий)	Процент различий
1sdf	12160 – 14496	11924 – 13634	1,9% – 5,9%
1vmc	11788 – 13350	10972 – 13206	6,9% – 1,1%
3hp3	15994 – 24108	14958 – 16496	6,5% – 31,6%
1a15	12502 – 15550	11808 – 13412	5,5% – 13,7%
1qg7	13044 – 15328	11910 – 13536	8,7% – 11,7%
2ked	12612 – 15280	11770 – 14796	6,7% – 3,2%
2kec	12406 – 14460	12030 – 13494	3,0% – 6,7%
2kee	12000 – 14554	11170 – 12972	6,9% – 10,9%
2sdf	11758 – 14242	11496 – 12756	2,2% – 10,4%

Рисунок 2. Взаимодействие различных вариантов структуры человеческого VEGF (PDB-номера 3qtk, 1vpf, 2vpf) с человеческим и овечьим VEGFR2 (3v2a). Серым цветом обозначен рецептор, цветом – лиганд.

Figure 2. Interaction of different variants of human VEGF structure (PDB numbers 3qtk, 1vpf, 2vpf) with human and ovine VEGFR2 (3v2a). Receptor is indicated in grey, ligand is coloured.

и 0,7 % – 18,6 % для FGFR2) при проценте межвидовых различий первичной структуры данных белков в 1,9 % (bFGF), 1,3 % (FGFR1) и 6,2 % (FGFR2). Наконец, процент различий аффинности человеческого SDF-1α к овечьему CXCR4 и человеческому CXCR4 также составил лишь 1,9 % – 13,7 % при проценте межвидовых различий первичной структуры данных белков в 6,7 % (SDF-1α) и 7,1% (CXCR4). Моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий в программе ZDOCK продемонстрировало схожесть взаимодействий лиганда с рецептором внутри одного биологического вида независимо от варианта их третичной структуры (PDB-номера), за исключением варианта 3hr3 SDF-1α, который отличался от остальных вариантов данного биоактивного фактора в отношении взаимодействия с CXCR4 (рис. 2-4). Полученные результаты указывают на относительно незначительные различия в аффинности анализируемых человеческих биоактивных факторов (VEGF, bFGF, SDF-1α) к соответствующим овечьим и человеческим рецепторам (VEGFR2, FGFR1, FGFR2, CXCR4), что позволяет предположить возможность использования человеческих VEGF, bFGF и SDF-1α в изготовлении тканеинженерных сосудистых графтов малого диаметра для имплантации овцам.

имеет не только собственно докинг-анализ, но и идентификация структуры самих белков, что еще больше увеличивает погрешность биоинформатического подхода.

Наиболее распространенным способом минимизации отрицательных эффектов подобных методологических недостатков является использование нескольких программ с разными алгоритмами докинга (к примеру, в данной работе были применены программы PatchDock и ZDOCK), что позволяет повысить надежность получаемых результатов. Кроме того, PatchDock дает возможность количественной оценки аффинности, в то время как ZDOCK визуализирует результат докинг-анализа в виде трехмерных моделей лиганд-рецепторных взаимодействий. Тем не менее, полученные путем анализа *in silico* результаты моделирования в будущем также должны быть подтверждены экспериментально.

Расшифровка трехмерной структуры биоактивных факторов осуществляется как рентгеновской кристаллографией, так и спектроскопией ядерного магнитного резонанса. Учитывая, что как человеческие, так и овечьи VEGF и bFGF, а также человеческий SDF-1α коммерчески доступны и обладают достаточной высокой химической чистотой для дальнейшей

Одной из проблем биоинформатического моделирования третичной структуры белков и молекулярного докинг-анализа (анализа аффинности лиганда к рецептору) является его вероятностный характер, закономерным следствием которого является ограниченная точность разрабатываемых моделей. Данная проблема приобретает особую значимость при гомологичном моделировании, поскольку структура овечьих белков (как лигандов, так и рецепторов) в этом случае не расшифровывается экспериментально при помощи рентгеновской кристаллографии или спектроскопии ядерного магнитного резонанса, а моделируется *in silico* на основе уже определенной данными методами структуры соответствующих человеческих белков. Таким образом, вероятностный характер

Взаимодействие bFGF с FGFR1

Взаимодействие bFGF с FGFR2 (1nun)

Взаимодействие bFGF с FGFR2 (2psq)

Рисунок 3. Взаимодействие различных вариантов структуры человеческого bFGF (PDB-номера 4fgf, 2fgf, 2bfh, 1bfg, 1fga) с человеческим и овечьим FGFR1 (5a46) и FGFR2 (1nun и 2psq). Серым цветом обозначен рецептор, цветом – лиганд.

Figure 3. Interaction of different variants of structure of human bFGF (PDB numbers 4fgf, 2fgf, 2bfh, 1bfg, 1fga) with human and ovine FGFR1 (5a46) and FGFR2 (1nun and 2psq). Receptor is indicated in grey, ligand is coloured.

Взаимодействие SDF-1α с CXCR4

Человеческий CXCR4 (3oe0)

Овечий CXCR4 (3oe0)

Рисунок 4. Взаимодействие различных вариантов структуры человеческого SDF-1α (PDB-номера 1sdf, 1vmc, 3hp3, 1a15, 1qg7, 2ked, 2kes, 2kee, 2sdf) с человеческим и овечьим CXCR4 (3oe0). Серым цветом обозначен рецептор, цветом – лиганд.

Figure 4. Interaction of different variants of structure of human SDF-1α (PDB-numbers 1sdf, 1vmc, 3hp3, 1a15, 1qg7, 2ked, 2kes, 2kee, 2sdf) with human and ovine CXCR4 (3oe0). Receptor is indicated in grey, ligand is coloured.

пробоподготовки с целью спектроскопии ядерного магнитного резонанса, в будущем представляется перспективным применить подобный экспериментальный подход для верификации результатов биоинформатического моделирования их взаимодействия с соответствующими рецепторами.

Заключение

В том случае, если при создании тканеинженерных сосудистых графтов малого диаметра для их биофункционализации используется стратегия инкорпорирования биоактивных факторов внутрь стенки графта, при тестировании графтов на овечьей модели возможно и целесообразно применять человеческие биоактивные факторы (в частности, VEGF, bFGF и SDF-1α) вместо аналогичных овечьих. Тем не менее, данный вывод сделан на основании *in silico* моделирования лиганд-рецепторных взаимодействий и оценки аффинности лигандов к рецепторам и поэтому требует экспериментального подтверждения (в частности, путем определения трехмерной структуры указанных овечьих белков рентгеновской кристаллографией или спектроскопией ядерного магнитного резонанса).

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое

обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Литература / References

1. GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017;390(10100):1151-210. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32152-9
2. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circulation Research*. 2014;114(12):1852-66. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.114.302721
3. Patterson JT, Gilliland T, Maxfield MW, Church S, Naito Y, Shinoka T, Breuer CK. Tissue-engineered vascular grafts for use in the treatment of congenital heart disease: from the bench to the clinic and back again. *Regenerative Medicine*. 2012;7(3):409-19. DOI: 10.2217/rme.12.12
4. Palumbo VD, Bruno A, Tomasello G, Damiano G, Lo Monte AI. Bioengineered vascular scaffolds: the state of the art. *International Journal of Artificial Organs*. 2014;37(7):503-12. DOI: 10.5301/ijao.5000343

5. Benrashid E, McCoy CC, Youngwirth LM, Kim J, Manson RJ, Otto JC, Lawson JH. Tissue engineered vascular grafts: Origins, development, and current strategies for clinical application. *Methods*. 2016;(99):13-9. DOI: 10.1016/j.jymeth.2015.07.014
6. Rocco KA, Maxfield MW, Best CA, Dean EW, Breuer CK. In vivo applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: a review. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*. 2014;20(6):628-40. DOI: 10.1089/ten.TEB.2014.0123
7. Tara S, Rocco KA, Hibino N, Sugiura T, Kurobe H, Breuer CK, Shinoka T. Vessel bioengineering. *Circulation Journal*. 2014;78(1):12-9. DOI: 10.1253/circj.CJ-13-1440
8. Sankaran KK, Subramanian A, Krishnan UM, Sethuraman S. Nanoarchitecture of scaffolds and endothelial cells in engineering small diameter vascular grafts. *Biotechnology Journal*. 2015;10(1):96-108. DOI: 10.1002/biot.201400415
9. Roll S, Müller-Nordhorn J, Keil T, Scholz H, Eidt D, Greiner W, Willich SN. Dacron vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery--systematic review and meta-analysis. *BMC Surgery*. 2008;(8):22. DOI: 10.1186/1471-2482-8-22
10. Chlupáč J, Filová E, Bacáková L. Blood vessel replacement: 50 years of development and tissue engineering paradigms in vascular surgery. *Physiological Research*. 2009;58 (2):119-39.
11. Ren X, Feng Y, Guo J, Wang H, Li Q, Yang J, Hao X, Lv J, Ma N, Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chemical Society Reviews*. 2015;44(15):5680-742. DOI: 10.1039/c4cs00483c
12. Chong DS, Lindsey B, Dalby MJ, Gadegaard N, Seifalian AM, Hamilton G. Luminal surface engineering, 'micro and nanopatterning': potential for self endothelialising vascular grafts? *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2014;47(5):566-76. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.02.007
13. Niu G, Sapoznik E, Soker S. Bioengineered blood vessels. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2014;14(4):403-10. DOI: 10.1517/14712598.2014.880419
14. Antonova LV, Mukhamadiyarov RA, Mironov AV, Burago AY, Velikanova EA, Sidorova OD, Kudryavtseva YuA, Barbarash OL, Barbarash LS. A morphological investigation of the polyhydroxybutyrate/valerate and polycaprolactone biodegradable small-diameter vascular graft biocompatibility. *Genes&Cells*. 2015;10(2):71-7.
15. Ingavle GC, Leach JK. Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*. 2014;20(4):277-93. DOI: 10.1089/ten.TEB.2013.0276
16. Woods I, Flanagan TC. Electrospinning of biomimetic scaffolds for tissue-engineered vascular grafts: threading the path. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2014;12(7):815-32. DOI: 10.1586/14779072.2014.925397
17. Antonova LV, Seifalian AM, Kutikhin AG, Sevostyanova VV, Krivkina EO, Mironov AV, Burago AY, Velikanova EA, Matveeva VG, Glushkova TV, Sergeeva EA, Vasyukov GY, Kudryavtseva YA, Barbarash OL, Barbarash LS. Bioabsorbable bypass grafts biofunctionalised with RGD have enhanced biophysical properties and endothelialisation tested in vivo. *Frontiers in Pharmacology*. 2016;(7):136. DOI: 10.3389/fphar.2016.00136
18. Antonova LV, Sevostyanova VV, Kutikhin AG, Mironov AV, Krivkina EO, Shabaev AR, Matveeva VG, Velikanova EA, Sergeeva EA, Burago AY, Vasyukov GY, Glushkova TV, Kudryavtseva YA, Barbarash OL, Barbarash LS. Vascular Endothelial Growth Factor Improves Physico-Mechanical Properties and Enhances Endothelialization of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Poly(ϵ -caprolactone) Small-Diameter Vascular Grafts In vivo. *Frontiers in Pharmacology*. 2016;(7):230. DOI: 10.3389/fphar.2016.00230
19. Antonova LV, Seifalian AM, Kutikhin AG, Sevostyanova VV, Matveeva VG, Velikanova EA, Mironov AV, Shabaev AR, Glushkova TV, Senokosova EA, Vasyukov GY, Krivkina EO, Burago AY, Kudryavtseva YA, Barbarash OL, Barbarash LS. Conjugation with RGD Peptides and Incorporation of Vascular Endothelial Growth Factor Are Equally Efficient for Biofunctionalization of Tissue-Engineered Vascular Grafts. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(11). pii: E1920. DOI: 10.3390/ijms17111920
20. Azimi-Nezhad M. Vascular endothelial growth factor from embryonic status to cardiovascular pathology. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*. 2014;2(2): 59-69.
21. Thanigaimani S, Kichenadasse G, Mangoni AA. The emerging role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in vascular homeostasis: lessons from recent trials with anti-VEGF drugs. *Current Vascular Pharmacology*. 2011;9(3):358-80. DOI: 10.2174/157016111795495503
22. Jain RK. Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. *Seminars in Oncology*. 2002;29(6 Suppl 16):3-9. DOI: 10.1053/sonc.2002.37265
23. Yang X, Liaw L, Prudovsky I, Brooks PC, Vary C, Oxburgh L, Friesel R. Fibroblast growth factor signaling in the vasculature. *Current Atherosclerosis Reports*. 2015;17(6):509. DOI: 10.1007/s11883-015-0509-6

24. Pike DB, Cai S, Pomraning KR, Firpo MA, Fisher RJ, Shu XZ, Prestwich GD, Peattie RA. Heparin-regulated release of growth factors in vitro and angiogenic response in vivo to implanted hyaluronan hydrogels containing VEGF and bFGF. *Biomaterials*. 2006;27(30):5242-51. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.05.018

25. Salcedo R, Oppenheim JJ. Role of chemokines in angiogenesis: CXCL12/SDF-1 and CXCR4 interaction, a key regulator of endothelial cell responses. *Microcirculation*. 2003;10(3-4):359-70. DOI: 10.1038/sj.mn.7800200

26. Schober A, Zernecke A. Chemokines in vascular remodeling. *Thrombosis and Haemostasis*. 2007;97(5):730-7. DOI: 10.1160/TH07-02-0085

27. Thomas LV, Lekshmi V, Nair PD. Tissue engineered vascular grafts--preclinical aspects. *International Journal of Cardiology*. 2013;167(4):1091-100. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.069

28. Swartz DD, Andreadis ST. Animal models for vascular tissue-engineering. *Current Opinion in Biotechnology*. 2013;24(5):916-25. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.05.005

29. Ahmed M, Hamilton G, Seifalian AM. The performance of a small-calibre graft for vascular reconstructions in a senescent sheep model. *Biomaterials*. 2014;35(33):9033-40. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.008

30. Breuer CK. The development and translation of the tissue-engineered vascular graft. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011;46(1):8-17. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2010.09.058

Сведения об авторах

Кутихин Антон Геннадьевич, к.м.н., Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; адрес: Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6; тел.: +79609077067; e-mail: antonkutikhin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>

Антонова Лариса Валерьевна, к.м.н., Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; адрес: Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6; тел.: +79059060451; e-mail: antonova.la@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8874-0788>

Севостьянова Виктория Владимировна, к.м.н., Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; адрес: Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6; тел.: +79069356076; e-mail: sevostyanova.victoria@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0195-8803>

Понасенко Анастасия Валерьевна, к.м.н., Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; адрес: Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6; тел.: +79515910550; e-mail: ponasenkov@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>

Левонид Семенович Барбараш, д.м.н., проф., Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; адрес: Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6; тел.: +7(3842)643308; e-mail: barbls@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

Author information

Anton G. Kutikhin, Cand.Med.Sci., Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +79609077067; e-mail: antonkutikhin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>

Larisa V. Antonova, Cand.Med.Sci., Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +79059060451; e-mail: antonova.la@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8874-0788>

Victoria V. Sevostyanova, Cand.Med.Sci., Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +79069356076; e-mail: sevostyanova.victoria@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0195-8803>

Anastasia V. Ponasenkov, Cand.Med.Sci., Head of the Laboratory for Genomic Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +79515910550; e-mail: ponasenkov@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>

Leonid S. Barbarash, Dr.Med.Sci., Leading Researcher, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +7(3842)643308; e-mail: barbls@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

Поступила 03.04.2018 г.
Принята к печати 11.09.2018 г.

Received 03 April 2018
Accepted for publication 11 September 2018