

ОБЗОРЫ

УДК 577.17

©Шпаков, Шпакова

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ ПЕПТИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ, СТРУКТУРНО СООТВЕТСТВУЮЩИХ СОПРЯЖЕННЫМ С G-БЕЛКАМИ РЕЦЕПТОРАМ

А.О. Шпаков^{1}, Е.А. Шпакова²*

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук,
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44; факс: +7 (812) 552 30 12;
эл. почта: alex_shpakov@list.ru

²Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук,
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

Регуляция сигнальных путей, вовлечённых в контроль множества физиологических функций, осуществляется через посредство сопряженных с гетеротримерными G-белками рецепторов (GPCR). Поиск эффективных и селективных регуляторов GPCR и сопряжённых с ними внутриклеточных сигнальных каскадов является одной из актуальных проблем современной фундаментальной и клинической медицины. В последние годы получены данные о том, что синтетические пептиды и их производные, соответствующие по структуре цитоплазматическим и трансмембранным участкам GPCR, способны с высокой эффективностью и селективностью взаимодействовать с гомологичными им рецепторами и влиять, таким образом, на функциональную активность внутриклеточных сигнальных каскадов и на протекание контролируемых ими фундаментальных клеточных процессов. GPCR-пептиды активны не только в условиях *in vitro*, но и *in vivo*. Они регулируют процессы кроветворения, ангиогенез, пролиферативную активность клеток, подавляют опухолевый рост и метастазирование, предупреждают развитие воспалительных заболеваний и септического шока. Эти данные свидетельствуют о больших перспективах в области разработки на основе GPCR-пептидов новых поколений лекарственных препаратов, способных регулировать жизненно важные функции организма.

Ключевые слова: ангиогенез, метастазирование, опухоль, пепдуцин, пептид, сепсис, сопряжённый с G-белком рецептор, трансмембранный участок, тромбоз, цитоплазматическая петля.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений молекулярной эндокринологии и нанобиотехнологии является пептидная стратегия, которая широко применяется для создания высоко селективных и высоко эффективных регуляторов гормональных сигнальных систем. В её основе лежит поиск и разработка пептидов, соответствующих

по структуре функционально важным участкам сигнальных белков – гормональных рецепторов, гетеротримерных G-белков, ферментов, генерирующих вторичные посредники [1, 2]. Эти пептиды способны специфично взаимодействовать с комплиментарными им участками сигнальных белков, регулировать и модулировать процессы передачи гормонального сигнала к внутриклеточным сигнальным каскадам и контролировать, таким образом, биохимические процессы

Принятые сокращения: AP – адренергический рецептор, C1ФЗ-Р – рецептор сфингозин-1-фосфата 3-го типа; TM – трансмембранный участок; ТТГ – тиреотропный гормон; ФЛСβ – фосфолипаза Сβ; ЦП – цитоплазматическая петля, GPCR – рецепторы, сопряжённые с G-белками (G protein-coupled receptors); PAR – активируемые протеазами рецепторы.

* - адресат для переписки

на клеточном и тканевом уровнях. Разработка регуляторов физиологических и биохимических функций организма на основе пептидов, производных структуры сигнальных белков, является одной из актуальных задач современной фармакологии и клинической эндокринологии.

Наиболее перспективным и бурно развивающимся направлением пептидной стратегии является синтез и изучение пептидов, производных рецепторов серпантинного типа, сопряжённых с гетеротримерными G-белками (GPCR, G protein-coupled receptors) [3–6]. GPCR являются ключевыми звеньями в большинстве гормональных сигнальных систем, поскольку на их уровне происходит опознавание гормонального сигнала и выбирается путь его передачи к внутриклеточным эффекторным белкам, мишеням действия гормона. GPCR семь раз пронизывают плазматическую мембрану, имеют три внеклеточные петли, внеклеточный N-концевой домен, три цитоплазматические петли (ЦП1–ЦП3) и внутриклеточный C-концевой домен, а также семь спирализованных трансмембранных участков (ТМ1–ТМ7), формирующих трансмембранный канал, в котором обычно локализован лигандсвязывающий сайт. Внеклеточные петли, в основном, участвуют в специфическом связывании гормона, цитоплазматические участки, в первую очередь ЦП-3, ответственны за селективное взаимодействие с G-белками, которые функционально сопряжены с ферментами, генерирующими вторичные посредники, и с G-белок-управляемыми ионными каналами.

Ещё два десятилетия назад появились первые сведения о том, что GPCR-пептиды, соответствующие ЦП, селективно взаимодействуют с G-белками, запускают сигнальные каскады в отсутствие гормона и влияют на передачу сигнала через гомологичный рецептор, действуя как внутриклеточные регуляторы сигнальной трансдукции [7–9]. Способность сравнительно коротких пептидов имитировать активированный гормоном полноразмерный рецептор определяется тем, что детерминанты, ответственные за взаимодействие с G-белком, сравнительно небольшие и, при удачном выборе последовательности для синтеза, полностью включены в структуру пептида. Для идентификации в рецепторе молекулярных детерминант, участвующих в связывании и активации G-белков, используют сайт-направленный мутагенез, конструирование химерных рецепторов, молекулярное моделирование и теоретический анализ внутриклеточных доменов GPCR.

Установлено, что определяющее значение для биологической активности GPCR-пептида, производного ЦП, имеет соответствие его конформации таковой в полноразмерном рецепторе, что в значительной степени определяется влиянием соседних гидрофобных ТМ спиралей. Модификация GPCR-пептидов фрагментами этих спиралей или гидрофобными радикалами, мимикрирующими ТМ рецептора, приводит к значительному повышению эффективности их действия [4, 10–13]. Причинами повышения биологической активности таких производных, названных пепдуцинами, являются: (1) их способность самостоятельно проникать через липидный бислой плазматической мембраны к внутриклеточным белкам-мишеням, (2) заякоривание пепдуцинов с внутренней стороны мембраны, что существенно повышает их концентрацию вблизи таких белков и стабилизирует оптимальную пространственную конфигурацию, позволяющую пепдуцинам эффективно взаимодействовать с ними.

Наиболее важным открытием, которое предопределило современные подходы для разработки и практического применения GPCR-пептидов, в том числе пепдуцинов, стало обнаружение того факта, что GPCR-пептиды проникают в клетку и там специфично взаимодействуют с комплементарными участками гомологичного рецептора или другого рецептора, образующего гетеродимерный комплекс с гомологичным им рецептором. Таким образом, действие GPCR-пептида может реализовываться только в присутствии гомологичного или комплементарного ему рецептора и характеризуется рецепторной и тканевой специфичностью, что и было доказано в целом ряде работ [4, 10–18]. Специфичность и направленность действия GPCR-пептидов, производных ЦП, а также обнаружение у них активности *in vitro* и *in vivo* открыло новые пути для создания на их основе регуляторов гормональных сигнальных систем. Следует отметить, что наряду с GPCR-пептидами, производными ЦП рецепторов, высокой активностью, в том числе *in vivo*, обладают пептиды, производные ТМ, которые самостоятельно встраиваются в липидный матрикс мембраны и с высокой специфичностью взаимодействуют с комплементарными им ТМ спиральями гомологичного рецептора.

Последним достижением в области разработки GPCR-пептидов, производных ЦП и ТМ рецепторов, а также перспективам их применения в клинической практике посвящён настоящий обзор, в котором обобщены и проанализированы собственные результаты и данные других авторов по этой проблеме.

1. ВЛИЯНИЕ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

Тромбин-зависимая активация тромбоцитов усиливается после атеросклеротических разрывов бляшек, эрозии, в условиях чрезкожного коронарного вмешательства, что может привести к артериальному тромбозу, который является одной из основных причин инфаркта миокарда и ишемического инсульта. Тромбоциты налипают на повреждённые кровеносные сосуды, агрегируют между собой и вызывают выработку тромбина. Тромбин является сигнальной молекулой, которая активирует тромбоциты, и её действие реализуется через активируемые протеазами рецепторы 1-го и 4-го типов (PAR1 и PAR4), расположенные в плазматической мембране тромбоцитов и функционально сопряжённые с различными типами G-белков ($G_{i/o}$, $G_{q/11}$, $G_{12/13}$) [19]. Большинство своих регуляторных эффектов тромбин реализует через сигнальный путь, включающий $G_{q/11}$ -белки и фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу $C\beta$ (ФЛС β), которые сопряжены с PAR-рецепторами. Стимуляция тромбином ФЛС вызывает высвобождение катионов кальция из внутриклеточных депо и образование диацилглицерина, активирующего протеинкиназу C, следствием чего является активация и экспозиция на поверхность связывающих фибриноген интегринов $\alpha IIb\beta 3$, что, в свою очередь, усиливает агрегацию тромбоцитов на поздних стадиях их активации, приводит к высвобождению ADP, который связывается с пуриnergическими P2Y₁₂-рецепторами тромбоцитов, а также к выработке тромбоксана A₂, важнейшего медиатора агрегации и дегрануляции тромбоцитов. Обычно для предотвращения агрегации тромбоцитов при остром коронарном синдроме и чрезкожном коронарном вмешательстве применяют аспирин, снижающий продукцию тромбоксана A₂, антагонисты P2Y₁₂-рецепторов и ингибиторы тромбоцитарного гликопротеинового комплекса GPIIb/IIIa, который вовлечён в адгезию и агрегацию тромбоцитов. Однако, эти подходы не всегда эффективны и предотвращают менее 17% летальных исходов, вызываемых артериальным тромбозом, что в значительной степени объясняется способностью тромбина активировать тромбоциты в присутствии аспирина и P2Y₁₂-антагонистов [20]. Всё это делает актуальной задачу поиска новых эффективных препаратов, способных контролировать функции PAR1- и PAR4-рецепторов.

Рецепторы PAR1 и PAR4 в тромбоцитах образуют прочный гетеродимерный комплекс, в котором PAR1 выполняет функцию кофактора,

в значительной степени повышая активность PAR4, вследствие чего разрушение гетеродимерного комплекса PAR1–PAR4 и блокирование рецепторов с помощью антагонистов представляет один из путей предотвращения артериального тромбоза и других сосудистых патологий, вызванных агрегацией тромбоцитов. Пепдуцины, сконструированные на основе ЦП рецепторов PAR1 и PAR4, демонстрируют высокую биологическую активность *in vitro* и *in vivo*, как модуляторы передачи сигнала через эти рецепторы, что свидетельствует о перспективности разработки на их основе препаратов, контролирующих функции тромбоцитов.

Показано, что пепдуцин Pal-ATGAPRLPST (P4pal-i1), соответствующий ЦП-1 рецептора PAR4, селективно ингибирует передачу генерируемого тромбином сигнала через рецептор PAR4 *in vitro* и предотвращает окклюзию сонной артерии у морских свинок *in vivo* [21]. Пепдуцин P4pal-i1 также блокировал хемотактический ответ, реализуемый через рецептор PAR4, предотвращал агрегацию тромбоцитов, вызванную селективным PAR4-агонистом AYPGKF-амидом, не оказывая влияния на эти же процессы, реализуемые через PAR1-рецептор. Совместное применение пепдуцина P4pal-i1 и селективного PAR1-антагониста RWJ-56110 вызывало полное исчезновение эффекта тромбина, что свидетельствует в пользу эффективности одновременного блокирования PAR1- и PAR4-рецепторов [21]. Совместное применение пепдуцина P4pal-i1 и тромболитического препарата бивалирудина, действие которого основано на его специфическом связывании с молекулой тромбина, приводило к значительному повышению эффективности действия обоих агентов и полностью предотвращало агрегацию тромбоцитов, вызванную α -тромбином, взятым в субмаксимальной концентрации 10 нМ [21, 22]. В случае предварительной обработки тромбоцитов бивалирудином, пепдуцин P4pal-i1 блокировал эффекты ещё более высоких концентраций тромбина (12–16 нМ). На модели окклюзии сонной артерии у морских свинок показано, что пепдуцин P4pal-i1 (0,13 мг/кг) повышает время окклюзии, а при совместном применении с бивалирудином предотвращает артериальный тромбоз.

Пепдуцин Pal-SGRRYGHALR (P4pal-10), который соответствует ЦП-3 рецептора PAR4, был менее специфичен в сравнении с P4pal-i1, и проявлял свойства антагониста гомологичного ему рецептора и частичного агониста рецептора PAR1 [11]. Он блокировал стимуляцию ФЛС β

селективным PAR4-агонистом AYPGKF-амидом, но лишь на 36% снижал стимулирующий ФЛСβ эффект PAR1-агониста SFLLRN-амида. Наряду с этим, пептидин P4pal-10 на 45-70% снижал агрегацию тромбоцитов, вызванную AYPGKF-амидом, слабо влиял на их агрегацию, вызванную SFLLRN-амидом, и не влиял на агрегацию тромбоцитов, вызванную активацией рецепторов, не относящихся к семейству PAR [11]. Пептидин P4pal-10 был также активен *in vivo*, предотвращая тромбоз сонной артерии у мышей, индуцированный трёххлористым железом [12].

Пептидин Pal-RCLSSSAVANRS (P1pal-12) и его укороченный аналог P1pal-7, соответствующие ЦП-3 рецептора PAR1, ингибировали активацию ФЛСβ и подавляли повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , которые вызывались PAR1-агонистами [10, 11, 23]. В микромолярных концентрациях пептидин P1pal-12 на 75-95% снижал агрегацию тромбоцитов, вызванную PAR1-агонистом SFLLRN-амидом [10]. Наряду с этим, он снижал расслабляющий эффект PAR1-агониста TFLLR-амида на тонус аорты крыс, не оказывая заметного влияния на соответствующий эффект PAR2-агониста SLIGRL-амида [24]. Препарат PZ-128, который был создан на основе пептидина P1pal-7 и имел пространственную структуру, максимально приближенную к гомологичному ему N-концевому участку ЦП-3 в рецепторе PAR1, с высокой интенсивностью подавлял PAR1-зависимую агрегацию тромбоцитов и артериальный тромбоз у морских свинок и обезьян [25]. Его терапевтический эффект усиливался в присутствии клопидогрела, лекарственного препарата, который ингибирует связывание ADP с рецепторами тромбоцитов и активацию гликопротеинового комплекса GPIIb/IIIa, угнетая таким образом агрегацию тромбоцитов. Лечение препаратом PZ-128 приводило к полному восстановлению функций тромбоцитов в течение суток. Важно отметить отсутствие у препарата PZ-128 побочных эффектов, поскольку он не влиял на кровотечение и показатели свертывания крови у приматов, а также у пациентов с чрезкожным коронарным вмешательством. Основываясь на полученных данных, Zhang и соавторы заключили, что препарат PZ-128 является высоко эффективным внутриклеточным ингибитором PAR1-рецептора и может стать хорошей альтернативой низкомолекулярным антагонистам этого рецептора при лечении артериальных тромбозов [25].

Удлиненный с C-конца пептидин Pal-RCLSSSAVANRSKKSRLF (P1pal-19), напротив, проявлял свойства селективного

внутриклеточного PAR1-агониста, который мимикрировал действие гомологичного ему рецептора, и стимулировал активность G_q - и $G_{i/o}$ -белков и сопряженных с ними внутриклеточных сигнальных каскадов. Его регуляторные эффекты были близки таковым PAR1-агонистов, TFLLR-амида и SFLLRN-амида [10, 11, 24]. Таким образом, модификация пептидина может не только повлиять на эффективность и селективность его действия, но и способна изменить направленность этого действия.

2. ВЛИЯНИЕ НА АНГИОГЕНЕЗ, РАЗВИТИЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ

Чувствительные к тромбину сигнальные каскады, включающие PAR1-рецепторы, играют важную роль в регуляции ангиогенеза в тканях злокачественных опухолей, где он протекает постоянно и очень интенсивно, и, таким образом, непосредственно вовлечены в опухолевый рост и метастазирование. PAR1-рецепторы находятся под контролем промотора опухолевого роста – фермента металлопротеиназы-1, селективного PAR1-агониста, а плотность этих рецепторов на опухолевых и низкодифференцированных клетках намного выше, чем на высокодифференцированных клетках [26, 27]. PAR1-рецептор вовлечен в развитие таких опухолей, как меланома, рак молочной железы, яичников, легких, толстой кишки и предстательной железы, причём PAR1-агонисты усиливают опухолевый рост и метастазирование, в то время как PAR1-антагонисты, напротив, их подавляют [26, 28].

Как отмечалось выше, пептидин P1pal-7 (PZ-128), соответствующий ЦП-3 рецептора PAR1, действует как PAR1-антагонист и обладает выраженными тромболитическими свойствами. Сравнительно недавно было обнаружено, что он также подавляет рост и снижает выживаемость клеток рака молочной железы, яичников и легких [26, 27, 29]. В отношении вовлечения рецептора PAR1 в развитие рака молочной железы необходимо отметить, что он отсутствует в нормальном эпителии молочных желез и начинает интенсивно экспрессироваться только в опухолевых эпителиальных клетках, блокируя механизмы апоптоза и обеспечивая высокую выживаемость малигнизированных клеток. Пептидин P1pal-7 ингибировал Akt-киназу, важнейший антиапоптотический белок, восстанавливал апоптоз и подавлял метастазирование раковых клеток на 88%. Комбинированная терапия пептидином P1pal-7 и противоопухолевым

препаратом Taxotere снижала метастазирование еще в большей степени – на 95% и более [29]. *In vitro* пепдуцин P1pal-7 и его удлиненный аналог P1pal-12 снижали миграцию OVCAR-4-клеток карциномы яичников к асцитной жидкости, полученной от пациентов с раком яичников, на 90-94%, IGROV-1-клеток карциномы яичников – на 80%, SKOV-3-клеток карциномы яичников – на 33-70% [26]. Ежедневные внутрибрюшинные инъекции пепдуцина P1pal-7 в течение 6 недель в дозе 3 мг/кг мышам с опухолью яичников, вызванной имплантацией раковых клеток OVCAR-4, приводили к снижению плотности кровеносных сосудов в центре и на краю опухоли на 84-96%. Лечение пепдуцином в комбинации с доцетакселом, цитостатическим препаратом растительного происхождения из группы таксанов, на 73-92% снижало плотность кровеносных сосудов во всех локусах опухоли в сравнении с мышами, которых лечили только одним доцетакселом. При лечении мышей с карциномой яичников, вызванной имплантацией раковых клеток SKOV-3, даже одним пепдуцином P1pal-7 плотность сосудов снижалась на 90% [26]. Эти данные свидетельствуют о выраженном ингибирующем эффекте пепдуцина P1pal-7 на ангиогенез в опухолях яичников, что приводит к резкому снижению выживаемости раковых клеток.

Пепдуцины, производные ЦП рецептора PAR1, могут быть эффективны при лечении рака лёгкого. Следует отметить, что экспрессия PAR1-рецепторов, но не других типов PAR, сильно повышается в клеточных культурах рака лёгкого, полученных от пациентов, страдающих этим заболеванием. Обнаружено, что пепдуцины с активностью PAR1-антагонистов, производные ЦП-1 и ЦП-3 PAR1-рецептора, существенно снижают миграцию клеток, которая регулируется через посредство PAR1-рецептора, причём этот эффект выявляется как в первичных культурах клеток рака лёгкого, полученных от пациентов, страдающих этим заболеванием, так и в перевиваемых культурах [16]. Наиболее эффективный пепдуцин P1pal-7 на 75-95% снижал инвазивное прорастание в трёхмерные матрицы клеток карциномы лёгких Льюис, метастазирующей опухоли мышей [27]. Он также тормозил опухолевый рост, вызываемый PAR1-агонистами через активацию ими каскада митогенактивируемых протеинкиназ. Терапевтический эффект пепдуцина P1pal-7 при лечении мышей с раком лёгкого составил 75% от такового бевацизумаба – противоопухолевого препарата, представляющего собой рекомбинантные гиперхимерные моноклональные IgG1 антитела,

которые селективно связываются и ингибируют биологическую активность фактора роста эндотелия сосудов [16].

Пепдуцин Pal-AVANRSKKSRLF (P1pal-13), селективный агонист PAR1-рецептора, напротив, обладал сильно выраженным проангиогенным эффектом в тесте с повреждением сосудов у мышей, вызванным перевязкой сонной артерии. При лечении им мышей на протяжении 21 дня в дозе 2,5 мг/кг наблюдалась сильно выраженная гиперплазия неоинтимы в повреждённой сонной артерии [30]. Область неоинтимы при обработке пепдуцином P1pal-13 увеличивалась в 13 раз в сравнении с контролем, что приводило к полному стенозу сонной артерии. Тот факт, что у мышей, нокаутных по генам, кодирующим PAR1-рецептор, проангиогенное действие пепдуцина не выявлялось, указывает на определяющую роль гомологичного ему рецептора в молекулярных механизмах действия пепдуцина. Гиперпластический эффект пепдуцина P1pal-13 также отсутствовал у мышей, нокаутных по гену PAR2-рецептора, что свидетельствует о необходимости образования гетеродимерных PAR1-PAR2 комплексов для функциональной активности PAR1-рецептора [30].

Активация PAR1-рецептора металлопротеиназой-1, которая выполняет функции PAR1-агониста, в фолликулярных клетках яичников приводила к усилению секреции соседними эндотелиальными клетками ангиогенных хемокинов, в первую очередь, интерлейкина-8 и хемокина CXCL1/GRO- α , и к повышению экспрессии чувствительных к ним хемокиновых рецепторов CXCR1 и CXCR2 [31]. Известно, что рецепторы CXCR1 и CXCR2 вовлечены в контроль выживания, пролиферации и ангиогенеза клеток эндотелия сосудов. Пепдуцин Pal-RTLFKAHMGQKHRAMR (X1/2pal-i3), соответствующий высоко консервативной в этих рецепторах ЦП-3, в концентрации 300 нМ подавлял пролиферацию эндотелиальных клеток, вызванную обработкой интерлейкином-8 и GRO- α , и снижал вызываемую металлопротеиназой-1 пролиферацию эндотелиальных клеток HUVEC с экспрессированным в них PAR1-рецептором. Пепдуцин X1/2pal-i3 и модифицированный с N-конца литохоловой кислотой пепдуцин Lit-YSRVGRSVTD (X1/2LCA-i1), производный ЦП-1 CXCR1/2-рецепторов, ингибировали образование клетками эндотелия трубок, инициированное обработкой интерлейкином-8, GRO- α и средой, полученной от стимулированных металлопротеиназой-1 клеток OVCAR-4 карциномы яичников. Ингибирующий эффект

пепдуцина X1/2pal-i3 на формирование кровеносных сосудов в опухоли яичников OVCAR-4 был сопоставимым с таковым, вызываемым противоопухолевым препаратом бевацизумабом. Длительное, на протяжении трёх недель, лечение мышей пепдуцином X1/2pal-i3 в пять раз снижало интенсивность ангиогенеза в опухолях яичников OVCAR-4 и приводило к подавлению роста опухолей [31].

Другой хемокиновый рецептор, CXCR4, также интенсивно экспрессируется во многих опухолях, включая злокачественные новообразования мозга, рак яичников, лимфомы и лимфоцитарные лейкозы. Клетки опухоли и её микроокружения в больших количествах вырабатывают стромальный фактор – хемокин CXCL12/SDF-1, селективный CXCR4-агонист, которому принадлежит ведущая роль в проникновении опухолевых клеток сквозь межтканевые барьеры, что лежит в основе метастазирования опухолей. Вследствие этого, селективные CXCR4-антагонисты, в том числе созданные на основе пепдуцинов, представляют большой интерес как противораковые препараты, действие которых основано на прерывании сигналов, генерируемых активацией рецептора CXCR4 [17, 32]. Обнаружено, что пепдуцины, производные ЦП-1 и ЦП-3 рецептора CXCR4, полностью блокируют опосредуемую этим рецептором миграцию клеток лимфоцитарного лейкоза и лимфомы [33]. Несмотря на то, что проапоптотическое действие ретуксимаба, моноклональных антител к CD20-антигену, который экспрессируется в В-клетках лимфомы, полностью блокировалось обработкой этих клеток стромальным фактором CXCL12/SDF-1, при совместном действии ретуксимаба и CXCR4-пепдуцинов их проапоптотический эффект в присутствии фактора CXCL12/SDF-1 сохранялся. Пепдуцины как при монотерапии, так и в сочетании с ретуксимабом, также эффективно подавляли развитие и метастазирование трансплантантов лимфомы и лимфоцитарного лейкоза [33].

Таким образом, сразу две группы пепдуцинов, производных ЦП PAR1-рецептора и хемокиновых рецепторов CXCR1, CXCR2 и CXCR4, проявляют противоопухолевые свойства и сопоставимы, а в ряде случаев и превосходят, известные в настоящее время препараты, используемые для лечения рака репродуктивной системы и лёгких, лимфоцитарных лейкозов и других злокачественных новообразований. Действие пепдуцинов заключается в усилении апоптоза клеток, подвергшихся малигнизации, в нарушении агрегации и хемотаксиса этих клеток, а также в подавлении прорастания опухоли кровеносными сосудами, что, в конечном

итоге, приводит к снижению темпов роста опухоли или полному прекращению этого роста. Важно подчеркнуть, что с помощью пепдуцинов удалось расшифровать ранее неизвестные механизмы онкогенеза и метастазирования, включая вовлеченность в эти процессы PAR1-рецептора и ряда хемокиновых рецепторов, что открывает новые возможности для контроля и лечения злокачественных новообразований.

Среди пептидов, производных ЦП GPCR, следует выделить пептид, сконструированный на основе ЦП-2 рецептора сфингозин-1-фосфата 3-го типа (C1Ф3-P), обладающий проангиогенной активностью. Он не относится к классу пепдуцинов, поскольку не модифицирован гидрофобным остатком жирной кислоты, но при этом демонстрирует высокую биологическую активность *in vitro* и *in vivo* [34]. В экспериментах на аорте крыс показано, что C1Ф3-P-пептид обладает сильной проангиогенной активностью, подобной той, которая характерна для сфингозин-1-фосфата, и его эффект усиливается в присутствии другого проангиогенного агента – фактора роста фибробластов. Пептид с высокой специфичностью взаимодействовал с гомологичным ему рецептором, не влияя при этом на активность близкородственного рецептора сфингозин-1-фосфата 1-го типа. Способность C1Ф3-P-пептида стимулировать ангиогенез и усиливать действие проангиогенных факторов свидетельствует о возможности его применения для лечения заболеваний периферических сосудов и ишемической болезни сердца [34].

3. ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕПДУЦИНОВ

Наряду с регуляцией процессов свёртываемости крови, ангиогенеза и малигнизации, PAR1-рецептор участвует в контроле воспалительных реакций и состояний, в том числе сепсиса. Его активация PAR1-агонистами вызывает мощный противовоспалительный эффект, защищающий эндотелиальные клетки от разрушения [35]. Следует, однако, отметить, что пролонгированная и сильно выраженная активация PAR1-рецептора, наблюдаемая при действии тромбина, который в больших количествах вырабатывается при сепсисе, может оказывать и противоположный эффект, нарушая функции эндотелиальных клеток, усугубляя развитие заболевания и повышая смертность от него [36].

Для исследования влияния PAR1-пепдуцинов на развитие сепсиса использовали модель экспериментального перитонита у мышей,

инициированного проколом прямой кишки. Пепдуцины вводили одновременно с проколом или спустя 4 ч или 8 ч. На седьмой день эксперимента пепдуцин P1pal-12S, антагонист PAR1-рецептора, при его введении в дозе 2,5 мг/кг одновременно с индукцией перитонита, повышал выживаемость мышей двух линий, CF-1 и C57BL/6, до 50-60% в сравнении с контролем, где смертность достигала 90-100%; в то же время, при его введении через 4 ч он не влиял на исход заболевания [35]. Напротив, пепдуцин P1pal-13 с активностью агониста PAR1-рецептора, взятый в той же дозе, был неэффективен при введении в момент прокола кишечника, но повышал выживаемость мышей линии CF-1 до 80% при его инъекции спустя 4 ч после индукции заболевания, когда сепсис уже активно развился. У мышей, нокаутных по PAR1-рецептору, оба пепдуцина никак не влияли на сепсис, что свидетельствует о рецепторной специфичности их действия. Одним из самых тяжёлых проявлений сепсиса является септический шок, который характеризуется снижением перфузии тканей, нарушением сердечного ритма, повышением минутного объёма сердца, снижением объёма внутрисосудистой жидкости и переходом гнойной инфекции в лёгкие и другие ткани. Ранняя блокада PAR1-рецептора с помощью пепдуцина P1pal-12S или отставленная (спустя 4 ч) обработка мышей с перитонеальным сепсисом с помощью PAR1-агониста пепдуцина P1pal-13 обеспечивали эффективную защиту от септического шока и предупреждали заполнение лёгких жидкостью. При этом запоздалое, спустя 8 ч, введение пепдуцина P1pal-12S только усугубляло течение заболевания, в то время как введение в те же сроки пепдуцина P1pal-13 было столь же эффективным, как и через 4 ч. Эти данные указывают на то, что своевременное ингибирование или, напротив, активация PAR1-зависимых сигнальных путей с помощью пепдуцинов позволяет достичь выраженного положительного терапевтического эффекта при лечении острых септических состояний [35].

Для регуляции воспалительных процессов через PAR1-рецепторы, как и в случае других PAR1-опосредуемых эффектов, требуются PAR2-рецепторы, образующие гетеродимерный PAR1-PAR2-комплекс. Решающие доказательства для этого были получены с помощью пепдуцинов, производных ЦП-3 рецептора PAR2. Пепдуцин Pal-RSSAMDENSEKKRKAIAK²⁷⁰⁻²⁸⁷ (P2pal-18S) с заменой остатка Arg²⁸⁴ на серин в концентрациях 0,14-0,2 мкМ полностью блокировал направленную миграцию нейтрофилов человека по градиенту концентрации трипсина

и селективного PAR2-агониста SLIGRL [18]. Он также подавлял хемотаксис нейтрофилов мыши по градиенту концентрации трипсина, причём его концентрация составила всего 30 нМ. Пепдуцин P2pal-18S не действовал на другие типы PAR-рецепторов, а также на хемокиновые рецепторы. Полученные результаты указывают на высокое сродство пепдуцина P2pal-18S к PAR2-рецептору и на его рецепторную специфичность. В экспериментах *in vivo* показано, что его системное введение приводит к 50%-ному снижению отёка задних лап у мышей, вызванного обработкой λ-каррагинаном и каолином, и на 85% снижает отёк, вызванный PAR2-агонистом SLIGRL. Необходимо отметить, что даже небольшие изменения длины пепдуцинов и замены в них отдельных аминокислотных остатков меняют не только эффективность и селективность, но и направленность их действия. Так, удлинение пепдуцина P2pal-18S с N-конца тремя аминокислотными остатками приводит к аналогу, обладающему свойствами мощного PAR2-антагониста, замена C-концевого остатка лизина на фенилаланин делает его частичным агонистом, а пепдуцин, имеющий замену Lys²⁸⁷Phe, но сохранённый остаток Arg²⁸⁴, полностью лишён антагонистической активности и является слабым агонистом PAR2-рецептора [18]. Эти данные указывают на большие возможности для создания на основе пепдуцинов регуляторов воспалительных процессов, которые способны как усиливать, так и предотвращать воспалительные реакции и связанные с ними патологические состояния.

4. ВЛИЯНИЕ НА ЭНДОКРИННЫЕ СИСТЕМЫ

Имеется много работ, авторы которых показали, что пептиды, соответствующие ЦП рецепторов, регулирующих эндокринные функции организма, активны *in vitro* и селективно влияют на гормональные сигнальные системы [37–47]. В большинстве своем они не содержат гидрофобных радикалов, и не могут быть отнесены к пепдуцинам. В условиях *in vivo* эти пептиды практически не изучались, вследствие чего говорить об эффективности их использования, как регуляторов функций эндокринной системы пока преждевременно. Исключение составляют синтезированные и изученные нами *in vitro* и *in vivo* пептиды, структурно соответствующие ЦП-3 рецептора тиреотропного гормона (ТТГ).

Показано, что модифицированный с C-конца пальмитатом пепдуцин QYNPRDKDTKIAKR(Nle)A⁶¹²⁻⁶²⁷-КА-амид,

производный ЦП-3 рецептора ТТГ, в микромолярных концентрациях стимулирует базальную активность фермента аденилатциклазы и функционально сопряжённых с ней G_s -белков, а также, действуя как конкурентный ингибитор, снижает стимулирующие аденилатциклазу и G_s -белки эффекты ТТГ во фракциях плазматических мембран, выделенных из щитовидной железы крыс [48]. Действие пепдуцина 612–627-K(Pal)A характеризовалось рецепторной и тканевой специфичностью, что указывает на необходимость присутствия гомологичного ему рецептора для реализации биологического эффекта. Интраназальное введение пепдуцина крысам в течение 5 суток в суточной дозе 450 мкг/кг вызывало достоверное повышение (на 34%) уровня свободного T_4 , а после повторного, 10-ти-суточного, введения, уровень тироксина достоверно снижался. При введении меньшей дозы пепдуцина после первой, 5-ти-суточной серии, уровень T_4 менялся незначительно, но достоверно снижался после второй, 10-ти-суточной, серии экспериментов. Уровень T_3 менялся слабо при использовании обеих доз препарата. Немодифицированный пептид 612–627-КА был мало активен как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo* [48]. Эти результаты сходны с теми, что были получены при длительной обработке крыс тиролиберин, рилизинг-фактором ТТГ, который сначала вызывал повышение уровня свободного T_4 , а при длительном применении его снижал, не влияя на уровень T_3 [49]. Таким образом, синтезированный нами пепдуцин 612–627-K(Pal)A оказывал влияние на функциональную активность щитовидной железы, что связано с его влиянием на начальные этапы передачи ТТГ-сигнала.

Мы полагаем, что одной из главных причин отсутствия данных об активных *in vivo* GPCR-пептидах, производных регулирующих эндокринную систему рецепторов, является то, что большинство их не были модифицированы гидрофобными радикалами и потому обладали низкой активностью. В пользу этого свидетельствуют приведенные выше данные по изучению пепдуцина 612–627-K(Pal)A, намного более активного в сравнении с его немодифицированным аналогом, а также наши результаты по сравнительному изучению пепдуцина NKDTKIAKK(Nle)A^{562–572}-K(Palm)-A, соответствующего С-концевому участку ЦП-3 рецептора лютеинизирующего гормона, и немодифицированного аналога NKDTKIAKK(Nle)A^{562–572}-КА [50, 51]. Пепдуцин по биологической активности значительно превосходил немодифицированный аналог, а его действие было высокоспецифичным

в отношении гомологичного ему рецептора и сопряжённого с ним G_s -белка, и выявлялось в тканях семенников, где экспрессированы рецепторы лютеинизирующего гормона.

5. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДОВ, ПРОИЗВОДНЫХ ТРАНСМЕМБРАННЫХ УЧАСТКОВ РЕЦЕПТОРОВ

Включающие последовательность ТМ рецептора GPCR-пептиды, легко встраиваются в мембрану и специфично взаимодействуют с комплементарными ТМ, формирующими трансмембранный канал рецептора. Это является причиной того, что многие ТМ-пептиды влияют на передачу гормонального сигнала через гомологичный им рецептор, причём их регуляторные эффекты могут выявляться как *in vitro*, так *in vivo*. Широкое изучение и практическое применение ТМ-пептидов в значительной степени тормозится сложностью их синтеза, высокой гидрофобностью и плохой растворимостью в водных растворителях, склонностью к агрегации и мицеллообразованию [4, 52]. Для решения этих проблем к N- и С-концевым аминокислотам ТМ-пептида присоединяют гидрофильные заряженные сегменты, обычно полилизинные фрагменты или соседние участки ЦП [52, 53].

Показано, что пептид LYSAFTWLGYVNSAVNP^{378–397}, соответствующий ТМ-7 сопряжённого с G_i -белком D_2 -дофаминавого рецептора, в условиях *in vitro* снижает связывание селективных D_2 -агонистов квинпиrolа и азидонемонаприда, действуя как необратимый ингибитор функции гомологичного ему рецептора [54]. Интрацеребральное введение крысам пептида 378–397 приводило к значительному снижению связывания D_2 -дофаминавых рецепторов с лигандами, аналогично тому, как это происходит при обработке D_2 -антагонистом бутакламом, причем действие пептида было высоко специфичным и не затрагивало D_1 -дофаминавые рецепторы. При введении крысам алкалоида апоморфина, влияющего на дофаминергические структуры мозга, через 15 мин после их обработки пептидом 378–397, который вводили унилатерально или билатерально в хвостатое ядро, животные продолжительное время совершали быстрые круговые движения, наиболее выраженные при билатеральном введении. Следовательно, пептид 378–397 функционирует как D_2 -антагонист, вызывая характерные для этого класса соединений нейрофизиологические эффекты [54].

При введении крысам пептида GVFKVIFWLGYFNSCVNPL^{376–394}, который соответствует TM-7 α_{1A} -адренергического рецептора (α_{1A} -АР), наблюдали снижение систолического и диастолического артериального давления, что характерно для α_1 -АР антагонистов. У крыс, предварительно обработанных этим пептидом, не выявлялось повышения кровяного давления при инъекции агониста α_1 -АР фенилэфрина, что объясняется нарушением лигандсвязывающей функции α_1 -АР в присутствии пептида 376–394. Пептид LFFVFNWLGYANSFNPPIY^{250–269}, производный TM-7 β_1 -АР, вызывал непродолжительное, но отчётливо выраженное снижение скорости сердечных сокращений с селективным падением диастолического артериального давления. Пептид LMLLASLNSCTNPWIY^{309–324}, соответствующий TM-7 V_2 -вазопрессинового рецептора, проявлял себя, как селективный V_2 -антагонист. Инъекции пептида 309–324 в аорту крыс приводили к увеличению мочеотделения в сравнении с контрольными животными и предотвращали антидиуретический эффект вазопрессина [54]. Эти данные указывают на значительный терапевтический потенциал TM-пептидов при лечении широкого спектра заболеваний, в основе которых лежат изменения функционирования гормональных систем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзоре данные свидетельствуют о значительном прогрессе, достигнутом в последние годы в области разработки и поиска практических путей применения GPCR-пептидов. Однако потенциал использования GPCR-пептидов в фундаментальной биологии, фармакологии и клинической практике гораздо больше. Для реализации этого потенциала нужно решить ряд задач. Во-первых, необходимо развитие новых подходов для модификации GPCR-пептидов, что позволит создать их новые высоко эффективные и высоко селективные аналоги с заданными свойствами. Среди возможных модификаций замены отдельных функционально важных аминокислотных остатков или их кластеров, присоединение к пептидам различных по природе и локализации гидрофобных радикалов, конструирование циклических структур, образованных ковалентными связями, и псевдоциклических структур, стабилизированных спираль-спиральными взаимодействиями, присоединение к пептидам мембраноактивных последовательностей, обеспечивающих их эффективный трансмембранный транспорт,

в случае TM-пептидов – модификация их N- и C-концевых сегментов гидрофильными поликатионными фрагментами, обеспечивающими правильное встраивание пептидов в мембрану. Во-вторых, необходимо существенно расширить спектр изучаемых GPCR-пептидов, поскольку для большинства рецепторов исследование структуры и биологической активности пептидов, структурно им соответствующих, не проводилось. Широкий скрининг GPCR-пептидов и их аналогов, различающихся по локализации, протяжённости и пространственной структуре, осуществлен лишь для ограниченного круга рецепторов – серотониновых рецепторов, PAR-рецепторов, некоторых типов хемокиновых рецепторов, рецептора лютеинизирующего гормона. В-третьих, необходимы системные исследования GPCR-пептидов как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo*, на экспериментальных животных, с целью выяснения их терапевтического потенциала. Эти исследования должны быть направлены на изучение влияния пептидов на те биохимические и физиологические функции организма, как в норме, так и в условиях патологии, которые контролируются через посредство гомологичного этим пептидам рецептора или через другие рецепторы, образующие с последним функционально активный комплекс.

Работа поддержана РФФИ (проект №12-04-00351).

ЛИТЕРАТУРА

1. Shpakov A.O., Pertseva M.N. (2007) in: Signal Transduction Research Trends (Grachevsky N.O., ed.), Nova Science Publishers, Inc., New York, pp. 45–93.
2. Shpakov A.O. (2011) J. Amino Acids, **2011**, 656051.
3. Miller J., Agarwal A., Devi L.A., Fontanini K., Hamilton J.A., Pin J.P., Shields D.C., Spek C.A., Sakmar T.P., Kuliopulos A., Hunt S.W. (2009) Ann. N.-Y. Acad. Sci., **1180**, 1–12.
4. Shpakov A.O. (2011) Global J. Biochem., **2**, 96–123.
5. Tressel S.L., Koukos G., Tchernychev B., Jacques S.L., Covic L., Kuliopulos A. (2011) Meth. Mol. Biol., **683**, 259–275.
6. O'Callaghan K., Kuliopulos A., Covic L. (2012) J. Biol. Chem., **287**, 12787–12796.
7. Palm D., Munch G., Dees C., Heckman M. (1989) FEBS Lett., **254**, 89–93.
8. Hedin K.E., Duerson K., Clapham D.E. (1993) Cell. Signall., **5**, 505–518.
9. Konig B., Gratzel M. (1994) Biochim. Biophys. Acta, **1223**, 261–266.
10. Covic L., Gresser A.L., Talavera J., Swift S., Kuliopulos A. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **99**, 643–648.

11. Covic L., Misra M., Badar J., Singh C., Kuliopulos A. (2002) *Nat. Med.*, **8**, 1161–1165.
12. Covic L., Tchernychev B., Jacques S., Kuliopulos A. (2007) in: *Handbook of Cell-Penetrating Peptides*. Taylor & Francis, New York, pp. 245–257.
13. Шпаков А.О. (2010) *Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, **96**, 1139–1155.
14. Shpakov A.O. (2010) *Current Topics Pept. Protein Res.*, **11**, P. 1–30.
15. Tchernychev B., Ren Y., Sachdev P., Janz J.M., Haggis L., O'Shea A., McBride E., Looby R., Deng Q., McMurry T. et al. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 22255–22259.
16. Cisowski J., O'Callaghan K., Kuliopulos A., Yang J., Nguyen N., Deng Q., Yang E., Fogel M., Tressel S., Foley C. et al. (2011) *Am. J. Pathol.*, **179**, 513–523.
17. Janz J.M., Ren Y., Looby R., Kazmi M.A., Sachdev P., Grunbeck A., Haggis L., Chinnapen D., Lin A.Y., Seibert C. et al. (2011) *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 15878–15881.
18. Sevigny L.M., Zhang P., Bohm A., Lazarides K., Perides G., Covic L., Kuliopulos A. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 8491–8496.
19. Kyriazis I., Ellul J., Katsakiori P., Panayiotakopoulos G., Flordellis C. (2012) *Curr. Pharm. Des.*, **18**, 161–174.
20. Adams M.N., Ramachandran R., Yau M.K., Suen J.Y., Fairlie D.P., Hollenberg M.D., Hooper J.D. (2011) *Pharmacol. Ther.*, **130**, 248–282.
21. Leger A.J., Jacques S.L., Badar J., Kaneider N.C., Derian C.K., Andrade-Gordon P., Covic L., Kuliopulos A. (2006) *Circulation*, **113**, 1244–1245.
22. Derian C.K., Damiano B.P., Addo M.F., Darrow A.L., D'Andrea M.R., Nedelman M., Zhang H.C., Maryanoff B.E., Andrade-Gordon P. (2003) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **304**, 855–861.
23. Abdel-Latif A., Smyth S.S. (2012) *Circulation*, **126**, 13–15.
24. Kubo S., Ishiki T., Doe I., Sekiguchi F., Nishikawa H., Kawai K., Matsui H., Kawabata A. (2006) *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, **1091**, 445–459.
25. Zhang P., Gruber A., Kasuda S., Kimmelstiel C., O'Callaghan K., Cox D.H., Bohm A., Baleja J.D., Covic L., Kuliopulos A. (2012) *Circulation*, **126**, 83–91.
26. Agarwal A., Covic L., Sevigny L.M., Kaneider N.C., Lazarides K., Azabdaftari G., Sharifi S., Kuliopulos A. (2008) *Mol. Cancer Ther.*, **7**, 2746–2757.
27. Foley C.J., Luo C., O'Callaghan K., Hinds P.W., Covic L., Kuliopulos A. (2012) *J. Biol. Chem.*, PMID 22573325 (in press)
28. Boire A., Covic L., Agarwal A., Jacques S., Sherifi S., Kuliopulos A. (2005) *Cell*, **120**, 303–313.
29. Yang E., Boire A., Agarwal A., Nguyen N., O'Callaghan K., Tu P., Kuliopulos A., Covic L. (2009) *Cancer Res.*, **69**, 6223–6231.
30. Sevigny L.M., Austin K.M., Zhang P., Kasuda S., Koukos G., Sharifi S., Covic L., Kuliopulos A. (2011) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **31**, e100–106.
31. Agarwal A., Tressel S.L., Kaimal R., Balla M., Lam F.H., Covic L., Kuliopulos A. (2010) *Cancer Res.*, **70**, 5880–5890.
32. Burger J.A., Peled A. (2009) *Leukemia*, **23**, 43–52.
33. O'Callaghan K., Lee L., Nguyen N., Hsieh M.Y., Kaneider N.C., Klein A.K., Sprague K., Van Etten R.A., Kuliopulos A., Covic L. (2012) *Blood*, **119**, 1717–1725.
34. Light T., Tsurulnikov L., Reuveni H., Yarnitzky T., Ben-Sasson S.A. (2003) *Blood*, **102**, 2099–2107.
35. Kaneider N.C., Leger A.J., Agarwal A., Nguyen N., Perides G., Derian C., Covic L., Kuliopulos A. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 1303–1312.
36. Klarenbach S.W., Chipiuk A., Nelson R.C., Hollenberg M.D., Murray A.G. (2003) *Circ. Res.*, **92**, 272–278.
37. Grasso P., Leng N., Reichert L.E. (1995) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **110**, 35–41.
38. Franzoni L., Nicastrò G., Pertinhez T.A., Tato M., Nakaie C.R., Paiva A.C., Schreier S., Spisni A. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 9734–9741.
39. Mukherjee S., Palczewski K., Gurevich V.V., Hunzicker-Dunn M. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 12984–12989.
40. Granier S., Terrillon S., Pascal R., Demene H., Bouvier M., Guillon G., Mendre C. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 50904–50914.
41. Plati J., Tsomaia N., Piserchio A., Mierke D.F. (2007) *Biophys. J.*, **92**, 535–540.
42. Shpakov A.O., Gur'yanov I.A., Kuznetsova L.A., Plesneva S.A., Shpakova E.A., Vlasov G.P., Pertseva M.N. (2007) *Neurosci. Behav. Physiol.*, **37**, 705–714.
43. Шпаков А.О., Тарасенко И.И., Шпакова Е.А. (2010) *Докл. РАН*, **431**, 703–706.
44. Shpakov A.O., Shpakova E.A., Tarasenko I.I., Derkach K.V., Vlasov G.P. (2010) *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **16**, 95–105.
45. Шпаков А.О., Шпакова Е.А., Тарасенко И.И., Деркач К.В., Чистякова О.В., Власов Г.П. (2010) *Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, **96**, 1062–1074.
46. Shpakov A.O., Shpakova E.A. (2011) *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. B: Biomedical Chemistry*, **5**, 246–252.
47. Hall B., Squires C., Parker K.K. (2012) *Int. J. Pept.*, **2012**, 490734.
48. Шпакова Е.А., Шпаков А.О., Чистякова О.В., Мойсеюк И.В., Деркач К.В. (2012) *Докл. РАН*, **443**, 123–126.
49. Hoang-Vu C., Brabant G., Leitolf H., von zur Mühlen A., Dralle H., Schröder S., Sierralta W.D. (1995) *J. Endocrinol.*, **146**, 339–348.
50. Shpakov A.O., Shpakova E.A., Tarasenko I.I., Derkach K.V., Chistyakova O.V., Avdeeva E.A., Vlasov G.P. (2011) *Global J. Biochem.*, **2**, 59–73.
51. Шпаков А.О., Шпакова Е.А., Тарасенко И.И., Деркач К.В. (2011) *Биол. мембраны*, **28**, 453–462.
52. Naider F., Khare S., Arshava B., Severino B., Russo J., Becker J.M. (2005) *Biopolymers*, **80**, 199–213.
53. Lee W.K., Han J.J., Jin B.S., Boo D.W., Yu Y.G. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **390**, 815–820.
54. George S.R., Ng G.Y., Lee S.P., Fan T., Varghese G., Wang C., Deber C.M., Seeman P., O'Dowd B.F. (2003) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **307**, 481–489.

Поступила: 04. 09. 2012.

**PROSPECTS FOR USE OF PEPTIDES AND THEIR DERIVATIVES, STRUCTURALLY
CORRESPONDING TO THE G PROTEIN-COUPLED RECEPTORS, IN MEDICINE**

A.O. Shpakov¹, E.A. Shpakova²

¹Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
44 Thoreza pr., St. Petersburg, 194223 Russia; fax: +7 (812) 552 30 12; e-mail: alex_shpakov@list.ru

²Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences,
31 Bolshoi pr., St. Petersburg, 199004 Russia

The regulation of signaling pathways involved in the control of many physiological functions is carried out via the heterotrimeric G protein-coupled receptors (GPCR). The search of effective and selective regulators of GPCR and intracellular signaling cascades coupled with them is one of the important problems of modern fundamental and clinical medicine. Recently data suggest that synthetic peptides and their derivatives, structurally corresponding to the intracellular and transmembrane regions of GPCR, can interact with high efficiency and selectivity with homologous receptors and influence, thus, the functional activity of intracellular signaling cascades and fundamental cellular processes controlled by them. GPCR-peptides are active in both *in vitro* and *in vivo*. They regulate hematopoiesis, angiogenesis and cell proliferation, inhibit tumor growth and metastasis, and prevent the inflammatory diseases and septic shock. These data show greatest prospects in the development of the new generations of drugs based on GPCR-derived peptides, capable of regulating the important functions of the organism.

Key words: angiogenesis, metastasis, tumor, pepducin, peptide, sepsis, G protein-coupled receptor, transmembrane region, thrombosis, intracellular loop.