



УДК 577.17+577.171.6

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ЛКЕКК

© 2023 г. Е. В. Наволоцкая*, #, Д. В. Зинченко*, А. Н. Мурашев*

*Филиал ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 142290 Пущино, просп. Науки, 6

Поступила в редакцию 05.07.2022 г.

После доработки 16.07.2022 г.

Принята к публикации 12.08.2022 г.

В обзоре суммированы и систематизированы данные о противовоспалительном действии синтетического пептида ЛКЕКК *in vitro* и *in vivo*. На основании проведенного анализа сделано заключение о значительном терапевтическом потенциале пептида ЛКЕКК в качестве противовоспалительного препарата при болезни Крона, различных формах колита и контактного дерматита.

Ключевые слова: белки, пептиды, рецепторы, цитокины, воспаление, лекарственные средства

DOI: 10.31857/S0132342323010207, EDN: GGYDM

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	41
ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА ЛКЕКК НА ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНИКА.....	41
ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА ЛКЕКК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ.....	43
ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА ЛКЕКК НА КЕРАТИНОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА.....	43
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДА ЛКЕКК НА МОДЕЛЯХ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ КОЖИ.....	44
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	45

ВВЕДЕНИЕ

Более трех десятилетий назад был синтезирован октапептид ЛКЕКК_{YSP} – фрагмент 131–138 IFN- α_2 человека – и установлена его способность с высоким сродством связываться с тимоцитами мыши [1] и фибробластами человека [2]. Связывание меченого октапептида конкурентно ингибировало немеченые IFN- α_2 , ТМ- α_1 и В-субъединица холерного токсина (СТ-В). Сравнение

аминокислотных последовательностей октапептида и ТМ- α_1 показало, что они содержат одинаковый пятичленный фрагмент – ЛКЕКК, соответствующий последовательностям 16–20 ТМ- α_1 и 131–135 IFN- α_2 (рис. 1). Было высказано предположение, что этот фрагмент может участвовать в связывании ТМ- α_1 и IFN- α_2 с различными типами клеток, а соответствующий синтетический пептид может обладать не только рецепторной, но и биологической активностью.

Мы синтезировали пептид ЛКЕКК, получили [³H]ЛКЕКК и показали его способность с высоким сродством связываться с Т-лимфоцитами донорской крови человека [3] и мембранами, выделенными из эпителиальных клеток тонкого кишечника крысы [4]. Связывание меченого пептида конкурентно ингибировало ТМ- α_1 , IFN- α_2 и СТ-В. Обработка клеток и мембран протеазами не влияла на связывание, что указывает на небелковую природу рецептора или, по крайней мере, той его части, которая непосредственно участвует в связывании. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на лимфоцитах и эпителиальных клетках кишечника имеется небелковый рецептор, общий для ТМ- α_1 , IFN- α_2 и СТ-В. Было высказано предположение, что этим рецептором может быть рецептор холерного токсина – ганглиозид GM1.

ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА ЛКЕКК НА ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНИКА

Проведенные нами исследования показали, что ¹²⁵I-меченная СТ-В с высоким сродством свя-

Сокращения: СТ-В – В-субъединица холерного токсина; cGMP – циклический гуанозин-3',5'-монофосфат; DSS – декстран сульфата натрия; IFN – интерферон; iNOS – индуцибельная NO-синтаза; LPS – липополисахарид; ODQ – 1*H*-[1,2,4]оксадиазол[4,3- α]хиноксалин-1-он; pGC – мембраносвязанная гуанилатциклаза; sGC – растворимая гуанилатциклаза; ТМ- α_1 – тимозин- α_1 ; ТРА – 12-*O*-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат.

Автор для связи: (тел.: +7 (496) 773-66-68; эл. почта: navolotskaya@bibch.ru).

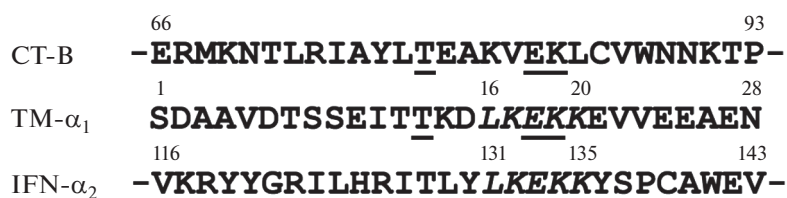


Рис. 1. Сравнение аминокислотных последовательностей СТ-В, TM- α_1 человека и IFN- α_2 человека. Совпадающие аминокислотные остатки подчеркнуты, последовательность пептида LKEKK выделена курсивом.

зывается с эпителиальными клетками тонкого кишечника линий IEC-6 крысы [5] и Caco-2 человека (K_d 3.6 и 3.7 нМ соответственно) [5, 6]. В обоих случаях связывание меченого белка конкурентно ингибировали немеченые TM- α_1 , IFN- α_2 и пептид LKEKK, но не ингибировал немеченый пептид с инвертированной последовательностью KKEKL ($K_i > 10$ мкМ). Аналогичные результаты были получены при исследовании рецепции 125 I-меченной СТ-В мембранами, выделенными из эпителиальных клеток тонкого кишечника крысы [7]: связывание характеризовалось высокой аффинностью ($K_d = 3.7$ нМ) и ингибировалось немечеными IFN- α_2 , TM- α_1 и пептидом LKEKK (K_i 2.0, 1.5 и 1.0 нМ соответственно), немеченый пептид KKEKL был неактивен ($K_i > 1$ мкМ). Кроме того, СТ-В и пептид LKEKK не влияли на активность аденилатциклазы и мембраносвязанной гуанилатциклазы pGC [7]. В то же время в диапазоне концентраций 10–1000 нМ СТ-В и пептид LKEKK дозозависимо увеличивали активность растворимой гуанилатциклазы (sGC) в клетках IEC-6 и Caco-2 и продукцию активатора этого фермента – NO; протестированный параллельно пептид с инвертированной последовательностью KKEKL был неактивен [6].

Растворимая гуанилатциклаза (sGC) – это гетеродимер, состоящий из α - и β -субъединиц; фермент катализирует превращение гуанозин-5'-трифосфата (GTP) в циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (сGMP) и активируется прямым взаимодействием NO с гемом β -субъединицы [8]. Помимо sGC, существуют мембраносвязанные ферменты, синтезирующие сGMP [9]. Геном млекопитающих кодирует семь форм мембраносвязанных гуанилатциклаз (pGC-A–pGC-G), все они имеют сходную топологию: внеклеточный лигандсвязывающий домен, короткую трансмембранную область и внутриклеточный домен с каталитическим участком на C-конце [9].

NO – это диффузный мессенджер, опосредующий широкий спектр физиологических и патологических процессов в организме человека [10]. Он выполняет несколько защитных функций: улучшает перфузию тканей, ингибирует агрегацию тромбоцитов [11], снижая адгезию лейкоцитов к

эндотелиальным клеткам [12, 13] и пролиферацию клеток гладкой мускулатуры [14], способствует сохранению тканевой и органной архитектуры. Помимо регуляции нормальных физиологических функций, NO участвует в развитии ряда патологических состояний, таких как септический шок, инсульт и нейродегенеративные заболевания [15, 16]. NO синтезируется из L-аргинина индуцибельной (iNOS), эндотелиальной (eNOS) и нейрональной (nNOS) изоформами NO-синтазы (NOS) [10, 17] и активирует sGC, связываясь с гемом ее β -субъединицы [8]. Накапливающийся в клетке сGMP передает сигналы к нижестоящим элементам сигнального каскада: сGMP-зависимым протеинкиназам, сGMP-регулируемым катионным каналам и сGMP-активируемым фосфодиэстеразам [8, 18].

Следует отметить, что в клетках кишечника NO функционирует в качестве основного нейромедиатора торможения, эндотелиальный NO участвует в локальной регуляции кровотока слизистой оболочки, в то же время высокие концентрации NO при воспалении провоцируют потерю ее целостности [19, 20]. Как полагают, гиперпродукция NO эпителиальными клетками слизистой оболочки – один из основных механизмов развития некротизирующего энтероколита (NEC) [21]. В отличие от конститутивно экспрессируемых eNOS и nNOS [22], высокий уровень экспрессии iNOS индуцируется в кишечнике во время воспаления, что приводит к повышенному образованию NO [21]. На экспериментальных моделях NEC показано, что ингибирование iNOS ослабляет воспалительное повреждение кишечника [10, 23–26].

Имеются неопровержимые доказательства того, что эффекты низких концентраций NO (~5–50 мкМ) опосредованы сGMP [27, 28]. Согласно полученным нами результатам, возрастание присутствия 100 нМ СТ-В или пептида LKEKK продукции NO в клетках IEC-6 (с 16 в контроле до 28 и 26 мкМ) и Caco-2 (с 18 в контроле до 33 и 30 мкМ) приводило к почти двукратному увеличению активности внутриклеточной sGC [6]. Эти данные также свидетельствуют о том, что низкие уровни NO активируют sGC и, следовательно,

опосредованный ею путь передачи сигнала от рецептора внутрь клетки.

Таким образом, связывание СТ-В и пептида LKEKK с общим рецептором на клетках кишечника приводит к увеличению продукции клетками NO и активации sGC.

ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА LKEKK ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

Установлено, что пероральное введение рекомбинантного СТ-В (rCT-V) мышам с индуцированным тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS) колитом (модель болезни Крона) подавляет развитие воспалительного процесса на ранних и поздних сроках болезни. Исследования доза–реакция показали, что у 68% мышей, получавших rCT-V в дозе 100 мкг 4 раза в день, и у 30% мышей, получавших rCT-V в дозе 10 мкг 4 раза в день, наблюдалось полное ингибирование прогрессирования колита; при этом в обоих случаях у остальных мышей отмечалось некоторое снижение тяжести воспаления. Введение rCT-V сопровождалось снижением секреции IFN- γ , обусловленным выраженным ингибированием секреции IL-12 Th1-клетками. Кроме того, введение rCT-V приводило к усилению апоптоза клеток собственной пластинки – тонкого слоя соединительной ткани, выступающей частью слизистой оболочки, эффект, ранее показанный как признак депривации IL-12. Из этих исследований следует, что rCT-V – мощный ингибитор воспаления, управляемого Th1-клетками [29]. Необходимо отметить, что согласно данным Kulig et al. [30], связывание IL-12 с рецептором на кератиноцитах инициирует защитную программу транскрипции, ограничивающую воспаление.

Противовоспалительная активность rCT-V была подтверждена в клинических испытаниях, которые показали, что белок способен подавлять воспаление при легком и умеренном течении болезни Крона: у семи из пятнадцати пациентов, получавших перорально по 5 мг rCT-V через день в течение двух недель, отмечалась ремиссия; побочные эффекты при этом отсутствовали. Авторы исследования сделали вывод, что rCT-V имеет значительный терапевтический потенциал в качестве безопасного противовоспалительного средства, для установления клинической эффективности которого необходимы рандомизированные исследования [31].

Чтобы выяснить, может ли пептид LKEKK, подобно СТ-В, оказывать противовоспалительное действие *in vivo*, мы изучили влияние белка СТ-В и пептида LKEKK на течение воспалительного процесса в кишечнике мышей с DSS-индуцированным колитом. Животным перорально вводили СТ-В или пептид LKEKK (5–20 мг/кг

массы тела в течение 14 дней), а чтобы вызвать колит, на 7-й день в питьевую воду добавляли 5% DSS (декстран сульфата натрия). На 14-й день ткань кишечника отбирали для анализа. Эксперименты показали, что на 7-й день приема DSS у мышей проявлялись характерные признаки колита: потеря веса, диарея и ректальное кровотечение. В то же время у животных, получавших в течение 14 дней СТ-В или пептид LKEKK (20 мг/кг), все клинические признаки болезни были выражены значительно слабее, а потеря веса и укорочение толстой кишки практически отсутствовали. Параллельно было показано, что снижение тяжести заболевания сопровождается значительным уменьшением продукции клетками кишечника провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 [32].

Поскольку, как уже было сказано выше, СТ-В и пептид LKEKK повышают активность sGC клеток-мишеней, мы предположили, что этот фермент может участвовать в реализации их эффектов. Для проверки этого предположения мы исследовали влияние СТ-В и пептида LKEKK на TNF- α -индуцированную секрецию провоспалительного цитокина IL-8 в клетках Caco-2 при частичном или полном отсутствии у них активности sGC. Фермент ингибировали с помощью специфического ингибитора ODQ (1*H*-[1,2,4]оксадиазоло[4,3- α]хиноксалин-1-он), который окисляет связывающую NO простетическую группу гема [33]. Было установлено, что снижение активности sGC сопровождается потерей способности белка и пептида ингибировать секрецию IL-8 [32]. Таким образом, действие СТ-В и пептида LKEKK на секрецию провоспалительного цитокина IL-8 в TNF- α -стимулированных клетках Caco-2 опосредовано sGC.

ДЕЙСТВИЕ СТ-В И ПЕПТИДА LKEKK НА КЕРАТИНОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

Кератиноциты – это основные клетки эпидермиса, они реагируют на различные факторы внешней среды и непосредственно участвуют в регуляции воспалительного ответа кожи [34]. Показано, что пять провоспалительных цитокинов, продуцируемых кератиноцитами, напрямую участвуют в индукции и развитии воспалительного процесса в эпидермисе: IL-17A, IL-22, онкостатин M, TNF- α и IL-1 α [35]. Установлена роль отдельных цитокинов в развитии воспаления: IL-22 и онкостатин M контролируют эпидермальную гиперплазию и потерю дифференцировки, тогда как IL-1 α , IL-17A и TNF- α обеспечивают активацию врожденного иммунитета [36].

Изучение рецепции нормальными кератиноцитами человека пептида LKEKK показало, что меченный тритием пептид способен обратимо, с

высоким сродством и специфичностью связываться с этими клетками ($K_d = 2.6$ нМ). В качестве потенциальных конкурентов меченого пептида были протестированы немеченые ТМ- α_1 , IFN- α_2 и пептид с инвертированной последовательностью ККЕКЛ. Эксперименты показали, что ТМ- α_1 и IFN- α_2 конкурентно ингибировали связывание, в то время как пептид ККЕКЛ был неактивен. Неспособность пептида с инвертированной последовательностью вытеснить [3 H]LKEKK из комплекса с рецептором указывает на высокую специфичность связывания меченого пептида [37].

Далее мы исследовали противовоспалительную активность пептида LKEKK, используя модель IL-17A-индуцированного воспаления кератиноцитов человека *in vitro*: к клеткам, предварительно обработанным пептидом, добавляли IL-17A (20 нг/мл) для индукции воспаления. Эксперименты показали, что пептид LKEKK в диапазоне концентраций 50–1000 нМ дозозависимо снижает IL-17A-индуцируемую продукцию трех провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6 и IL-1 α) и одновременно увеличивает выработку противовоспалительного цитокина IL-10. Протестированный параллельно пептид с инвертированной последовательностью ККЕКЛ был неактивен, что указывает на высокую специфичность действия пептида LKEKK [37, 38].

Согласно полученным нами данным, пептид LKEKK при концентрациях 50–1000 нМ дозозависимо увеличивает активность sGC в кератиноцитах, но не влияет на активность pGC; протестированный параллельно пептид с инвертированной последовательностью был неактивен. Таким образом, связывание пептида LKEKK с кератиноцитами человека приводит к увеличению в них активности sGC. Мы также исследовали действие пептида на способность кератиноцитов к IL-17A-индуцированной продукции TNF- α и IL-1 α при частичной или полной потере активности sGC. Для ингибирования активности фермента использовали ODQ, специфический ингибитор sGC [33]. Эксперименты показали, что ODQ дозозависимо снижал активность sGC и ингибирующий эффект 500 нМ пептида LKEKK на IL-17A-индуцированную продукцию кератиноцитами TNF- α и IL-1 α . Таким образом, снижение активности фермента сопровождалось потерей пептидом LKEKK способности ингибировать секрецию противовоспалительных цитокинов, и, следовательно, действие пептида опосредовано через sGC.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДА LKEKK НА МОДЕЛЯХ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ КОЖИ

Мы оценили противовоспалительную активность пептида на моделях острого хронического контактного дерматита у мышей, индуцированного 12-*O*-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетатом (ТРА). Повышенное утолщение кожи – первый признак раздражения и локального воспаления, которое возникает из-за повышения проницаемости сосудов, отека дермы и пролиферации эпидермальных кератиноцитов.

Для изучения действия пептидов LKEKK и ККЕКЛ при остром кожном воспалении внутреннюю и наружную поверхности уха мышей обрабатывали одним из двух пептидов (10–300 мкг в 20 мкл среды, содержащей 2%-ный диметилсульфоксид, 20%-ный пропиленгликоль и 70%-ный ацетон, трижды с интервалом в 15 мин). Уши животных групп отрицательного и положительного контроля обрабатывали, соответственно, базовой средой или дексаметазоном (0.05 мг/ухо в ацетоне). Через 15 мин на кожу наносили 20 мкл ТРА (12-*O*-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат, 2.0 мкг/ухо в ацетоне). Отек (увеличение толщины уха) измеряли с помощью цифрового толщиномера (Mitutoyo Corporation, Япония) до и через 5 ч после применения ТРА.

Эксперименты показали, что локальное воздействие ТРА приводит к значительному (более чем на 300 мкм) увеличению толщины уха на фоне применения базовой среды (отрицательный контроль). В то же время пептид LKEKK (50–300 мкг/ухо) или дексаметазон (0.05 мг/ухо, положительный контроль) снижали отек до 140–200 и 60 мкм соответственно. Протестированный параллельно пептид с инвертированной последовательностью ККЕКЛ был неактивен. Гистологические исследования окрашенных гематоксилином и эозином срезов ткани уха мышей, получавших ТРА, показали заметное увеличение толщины уха с явными признаками отека и появлением значительного количества воспалительных клеток в дерме. Таким образом, местное применение пептида LKEKK (50–300 мкг/ухо) значительно уменьшало отек уха и связанные с отеком патологические показатели [39]. Следует отметить, что эффективность пептида в концентрациях 150–300 мкг/ухо была сопоставима с эффективностью дексаметазона [39].

Известно, что местное воздействие ТРА приводит к заметному увеличению уровней провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6 и IL-1 β) в пробах биопсии уха мыши [40, 41]. Полученные нами результаты полностью согласуются с этими данными: уровни TNF- α , IL-6 и IL-1 β резко возрастали в области ТРА-индуцированного

воспаления. В то же время обработка пептидом (50–300 мкг/ухо) дозозависимо снижала уровни этих цитокинов, а значит, и опосредуемое ими развитие воспалительного процесса. Следовательно, пептид ЛКЕКК может быть эффективным в качестве противовоспалительного средства при остром контактном дерматите.

Чтобы окончательно убедиться в том, что пептид ЛКЕКК обладает противовоспалительной активностью *in vivo*, мы исследовали его действие на разработанной Stanley et al. [42] модели хронического воспаления кожи, вызванного многократным нанесением ТРА на уши мышей. Воспалительный ответ в этой модели характеризуется увеличением веса уха, инфильтрацией воспалительных клеток и гиперплазией эпидермиса. Эксперименты проводили по следующей схеме: 20 мкл раствора ТРА (2.0 мкг/ухо в ацетоне) или ацетона (наполнитель) наносили на внутреннюю и наружную поверхности уха 6 раз через день. На 7–9-е сутки внутреннюю и наружную поверхности правого уха мышей обрабатывали пептидом ЛКЕКК (100–300 мкг/ухо) или дексаметазоном (0.05 мг/ухо в ацетоне, положительный контроль) 2 раза в день. Толщину уха измеряли с помощью цифрового толщиномера через 5 ч после последней обработки ТРА. Результаты экспериментов показали, что обработка ТРА приводит к значительному увеличению толщины и веса уха, а пептид ЛКЕКК заметно снижал степень выраженности этих изменений, при этом активность пептида была сопоставима с активностью дексаметазона. Гистологическое исследование окрашенных срезов ткани уха мышей, получавших ТРА, показало, что его многократное применение приводит к заметному увеличению толщины уха и гиперплазии эпидермиса. Лечение пептидом ЛКЕКК (300 мкг/ухо) значительно уменьшало отек и другие патологические признаки воспаления. Эти данные подтверждают способность пептида ЛКЕКК подавлять персистирующие воспалительные поражения при многократном местном применении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пептид ЛКЕКК обладает выраженной противовоспалительной активностью *in vitro* и *in vivo*, имеет простую структуру, не токсичен, не иммуногенен – все перечисленное делает пептид ЛКЕКК пригодным для разработки на его основе противовоспалительного препарата.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zav'yalov V.P., Navolotskaya E.V., Abramov V.V., Galaktionov V.G., Isaev I.S., Kaurov O.A., Kozhich A.T., Maiorov V.A., Prusakov A.N., Vasilenko R.N., Volodina E.Yu.* // FEBS Lett. 1991. V. 278. P. 187–189. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80113-h](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80113-h)
2. *Zav'yalov V.P., Navolotskaya E.V., Vasilenko R.N., Abramov V.M., Volodina E.Y., Roslovvtseva O.A., Prusakov A.N., Kaurov O.A.* // Mol. Immunol. 1995. V. 32. P. 425–431. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(94\)00161-s](https://doi.org/10.1016/0161-5890(94)00161-s)
3. *Наволоцкая Е.В., Зинченко Д.В., Золотарев Ю.А., Колобов А.А., Липкин В.М.* // Биохимия. 2016. Т. 81. С. 1109–1114. [*Navolotskaya E.V., Zinchenko D.V., Zolotarev Y.A., Kolobov A.A., Lipkin V.M.* // Biochemistry (Moscow). 2016. V. 81. P. 871–875.] <https://doi.org/10.1134/S0006297916080071>
4. *Наволоцкая Е.В., Садовников В.Б., Зинченко Д.В., Владимиров В.И., Золотарев Ю.А., Колобов А.А.* // Биоорг. химия. 2016. Т. 42. С. 533–538. [*Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zinchenko D.V., Vladimirov V.I., Zolotarev Y.A., Kolobov A.A.* // Russ. J. Bioorg. Chem. 2016. V. 42. P. 479–483.] <https://doi.org/10.1134/S1068162016050137>
5. *Наволоцкая Е.В., Садовников В.Б., Зинченко Д.В., Владимиров В.И., Золотарев Ю.А., Липкин В.М.* // Биоорг. химия. 2018. Т. 44. С. 401–406. [*Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zinchenko D.V., Vladimirov V.I., Zolotarev Y.A.* // Russ. J. Bioorg. Chem. 2018. V. 44. P. 403–407.] <https://doi.org/10.1134/S1068162018030123>
6. *Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Lipkin V.M., Zav'yalov V.P.* // Toxicology in Vitro. 2018. V. 47. P. 269–273. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.12.010>
7. *Наволоцкая Е.В., Садовников В.Б., Зинченко Д.В., Владимиров В.И., Золотарев Ю.А.* // Биоорг. химия. 2017. Т. 43. С. 655–660. [*Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zinchenko D.V., Vladimirov V.I., Zolotarev Y.A.* // Russ. J. Bioorg. Chem. 2017. V. 43. P. 673–677.] <https://doi.org/10.1134/S1068162017060115>
8. *Kots A.Y., Martin E., Sharina I.G., Murad F.* // Handb. Exp. Pharmacol. 2009. V. 191. P. 1–14. https://doi.org/10.1007/978-3-540-68964-5_1
9. *Potter L.R.* // Cell. Signal. 2011. V. 23. P. 1921–1926. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.09.001>
10. *Bredt D.S., Snyder S.H.* // Annu. Rev. Biochem. 1994. V. 63. P. 175–195. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.63.070194.001135>
11. *Tsikis D., Ikic M., Tewes K.S., Raida M., Frolich J.C.* // FEBS Lett. 1999. V. 442. P. 162–166. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)01633-0](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)01633-0)

12. *Gidday M., Park T.S., Shah A.R., Gonzales E.R.* // *Stroke*. 1998. V. 29. P. 1423–1430.
<https://doi.org/10.1161/01.str.29.7.1423>
13. *Polte T., Schroder H.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 251. P. 460–465.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9486>
14. *Hassid A., Yao J., Huang S.* // *Am. J. Physiol.* 1999. V. 277. P. H1014–H1026.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1999.277.3.H1014>
15. *Bolaños J.P., Almeida A.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999. V. 1411. P. 415–436.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00030-4](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00030-4)
16. *Titheradge M.A.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999. V. 1411. P. 437–455.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00031-6](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00031-6)
17. *Stuehr D.J.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999. V. 1411. P. 217–230.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00016-x](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00016-x)
18. *Denninger J.W., Marletta M.A.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999. V. 1411. P. 334–350.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00024-9](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00024-9)
19. *Stark M.E., Szurszewski J.H.* // *Gastroenterology*. 1992. V. 103. P. 1928–1949.
[https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)91454-c](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)91454-c)
20. *Alican I., Kubes P.* // *Am. J. Phys.* 1996. V. 270. P. G225–G237.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2003.11.046>
21. *Chokshi N.K., Guner Y.S., Hunter C.J., Upperman J.S., Grishin A., Ford H.R.* // *Semin. Perinatol.* 2008. V. 32. P. 92–99.
<https://doi.org/10.1053/j.semperi.2008.01.002>
22. *Moncada S.* // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1997. V. 811. P. 60–67.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51989.x>
23. *Ciftçi I., Dilsiz A., Aktan T.M., Gürbilek M., Duman S.* // *Eur. J. Pediatr. Surg.* 2004. V. 14. P. 398–403.
<https://doi.org/10.1055/s-2004-821105>
24. *Giannone P.J., Schanbacher B.L., Bauer J.A., Reber K.M.* // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2006. V. 43. P. 284–290.
<https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000232572.56397.d6>
25. *Ford H., Watkins S., Rebbeck K., Rowe M.* // *J. Pediatr. Surg.* 1997. V. 32. P. 275–282.
[https://doi.org/10.1016/s0022-3468\(97\)90194-9](https://doi.org/10.1016/s0022-3468(97)90194-9)
26. *Cintra A.E., Martins J.L., Patrício F.R., Higa E.M., Montero E.F.* // *Transplant. Proc.* 2008. V. 40. P. 830–835.
<https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.02.044>
27. *Niedbala W., Wei X.Q., Piedrafita D., Xu D., Liew F.Y.* // *Eur. J. Immunol.* 1999. V. 29. P. 2498–2505.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199908\)29:08<2498::AID-IMMU2498>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199908)29:08<2498::AID-IMMU2498>3.0.CO;2-M)
28. *Niedbala W., Wei X.Q., Campbell C., Thomson D., Komai-Koma M., Liew F.Y.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99. P. 16186–16191.
<https://doi.org/10.1073/pnas.252464599>
29. *Boirivant M., Fuss I.J., Ferroni L., de Pascale M., Strober W.* // *J. Immunol.* 2001. V. 166. P. 3522–3532.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.5.3522>
30. *Kulig P., Musiol S., Freiburger S.N., Schreiner B., Gyülveszi G., Russo G., Pantelyushin S., Kishihara K., Alessandrini F., Kündig T., Sallusto F., Hofbauer G.F., Haak S., Becher B.* // *Nat. Commun.* 2016. V. 28. P. 13466.
<https://doi.org/10.1038/ncomms13466>
31. *Stal P., Befrits R., Ronnblom A., Danielsson A., Suhr O., Stahlberg D., Brinkberg Lapidus A., Lofberg R.* // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2010. V. 31. P. 387–395.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04185.x>
32. *Navolotskayaa E.V., Sadovnikov V.B., Lipkin V.M., Zav'yalov V.P.* // *J. Clin. Exp. Immunol.* 2019. V. 4. P. 1–6.
<https://doi.org/10.33140/JCEI.04.04.03>
33. *Feelisch M.I., Kotsonis P., Siebe J., Clement B., Schmidt H.H.* // *Mol. Pharmacol.* 1999. V. 56. P. 243–253.
<https://doi.org/10.1124/mol.56.2.243>
34. *Breitkreutz D., Mirancea N., Nischt R.* // *Histochem. Cell. Biol.* 2009. V. 132. P. 1–10.
<https://doi.org/10.1007/s00418-009-0586-0>
35. *Guilloteau K., Paris I., Pedretti N., Boniface K., Juchaux F., Huguier V., Guillet G., Bernard F.-X., Lecron J.-C., Morel F.* // *J. Immunol.* 2010. V. 184. P. 5263–5270.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902464>
36. *Robeony H., Petit-Paris I., Garnier J., Barrault C., Pedretti N., Guilloteau K., Jegou J.-F., Guillet G., Huguier V., Lecron J.-C., Bernard F.-X., Morel F.* // *PLoS One*. 2014. V. 9. P. e101937.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101937>
37. *Наволоцкая Е.В., Садовников В.Б., Зинченко Д.В., Золотарев Ю.А., Липкин В.М., Мурашев А.Н.* // *Биоорг. химия*. 2020. Т. 46. С. 670–675. [*Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zinchenko D.V., Zolotarev Y.A., Lipkin V.M., Murashev A.N.* // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2020. V. 46. P. 1038–1043.]
<https://doi.org/10.1134/S1068162020060229>
38. *Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zav'yalov V.P., Murashev A.N.* // *J. Clin. Immunol. Immunother.* 2021. V. 7. P. 064.
<https://doi.org/10.24966/CIIT-8844/1000064>
39. *Navolotskaya E.V., Sadovnikov V.B., Zinchenko D.V., Zav'yalov V.P., Murashev A.N.* // *J. Clin. Exp. Immunol.* 2021. V. 6. P. 356–361.
<https://doi.org/10.33140/JCEI.06.05.02>
40. *Murakawa M., Yamaoka K., Tanaka Y., Fukuda Y.* // *Biochem. Pharmacol.* 2006. V. 71. P. 1331–1336.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.01.005>
41. *De Vry C.G., Valdez M., Lazarov M., Muhr E., Buelow R., Fong T., Iyer S.* // *J. Invest. Dermatol.* 2005. V. 125. P. 473–481.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2005.23831.x>
42. *Stanley P.L., Steiner S., Havens M., Tramposch K.M.* // *Skin Pharmacol.* 1991. V. 4. P. 262–271.
<https://doi.org/10.1159/000210960>

Anti-Inflammatory Effect of Peptide LKEKK**E. V. Navolotskaya*[#], D. V. Zinchenko*, and A. N. Murashev***[#]Phone: +7 (496) 773-66-68; e-mail: navolotskaya@bibch.ru

*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, prosp. Nauki 6, Pushchino, 142290 Russia

The review summarizes and systematizes data on the anti-inflammatory effect of the synthetic peptide LKEKK *in vitro* and *in vivo*. Based on the analysis, it was concluded that this peptide has a significant therapeutic potential as an anti-inflammatory drug in Crohn's disease, various forms of colitis and contact dermatitis.

Keywords: proteins, peptides, receptors, cytokines, inflammation, drugs