



УДК 577.17+577.171.6

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА LKEKK

© 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 LKEKK *in vitro* и *in vivo*. На основании проведенного анализа сделано заключение о значительном терапевтическом потенциале пептида LKEKK 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: GGGYDM

СОДЕРЖАНИЕ

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

ВВЕДЕНИЕ

Более трех десятилетий назад был синтезирован октапептид LKEKKYSP — 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 ингибировали немеченые IFN- α_2 , TM- α_1 и В-субъединица холерного токсина (СТ-В). Сравнение

аминокислотных последовательностей октапептида и TM- α_1 показало, что они содержат одинаковый пятичленный фрагмент — LKEKK, соответствующий последовательностям 16–20 TM- α_1 и 131–135 IFN- α_2 (рис. 1). Было высказано предположение, что этот фрагмент может участвовать в связывании TM- 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 LKEKK, получили [^3H]LKEKK 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 ингибировали TM- 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 TM- 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 LKEKK НА ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНИКА

Проведенные нами исследования показали, что ^{125}I -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; TM- α_1 — тимозин- α_1 ; TPA — 12-*O*-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат.

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

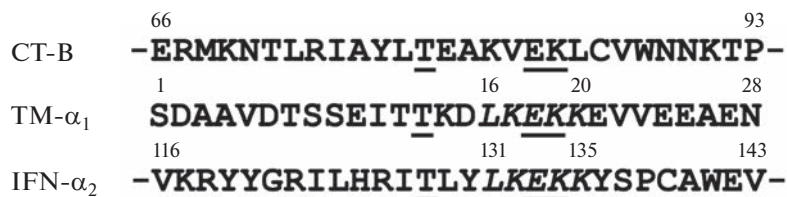


Рис. 1. Сравнение аминокислотных последовательностей CT-B, TM- α_1 человека и IFN- α_2 человека. Совпадающие аминокислотные остатки подчеркнуты, последовательность пептида LKEKK выделена курсивом.

зывается с эпителиальными клетками тонкого кишечника линий IEC-6 крысы [5] и Сасо-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 CT-B 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, CT-B и пептид LKEKK не влияли на активность аденилатциклазы и мембраносвязанной гуанилатциклазы pGC [7]. В то же время в диапазоне концентраций 10–1000 нМ CT-B и пептид LKEKK дозозависимо увеличивали активность растворимой гуанилатциклазы (sGC) в клетках IEC-6 и Сасо-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'-мононофосфат (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 в присутствии 100 нМ CT-B или пептида LKEKK продукции NO в клетках IEC-6 (с 16 в контроле до 28 и 26 мкМ) и Сасо-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 (гСТ-В) 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 гСТ-В в дозе 100 мкг 4 раза в день, и у 30% мышей, получавших гСТ-В 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 гСТ-В сопровождалось снижением секреции IFN- γ , обусловленным выраженным ингибированием секреции IL-12 Th1-клетками. Кроме того, введение гСТ-В 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 гСТ-В – 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 гСТ-В 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 гСТ-В через день в течение двух недель, отмечалась ремиссия; побочные эффекты при этом отсутствовали. Авторы исследования сделали вывод, что гСТ-В 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 Сасо-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 Сасо-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 М, TNF- α и IL-1 α [35]. Установлена роль отдельных цитокинов в развитии воспаления: IL-22 и онкостатин М 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 вытеснять [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*-тетрадеканойлфорбол-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*-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат, 2.0 мкг/ухо в ацетоне). Отек (увеличение толщины уха) измеряли с помощью цифрового толщинометра (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 LKEKK может быть эффективным в качестве противовоспалительного средства при остром контактном дерматите.

Чтобы окончательно убедиться в том, что пептид LKEKK 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 LKEKK (100–300 мкг/ухо) или дексаметазоном (0.05 мг/ухо в ацетоне, положительный контроль) 2 раза в день. Толщину уха измеряли с помощью цифрового толщинометра через 5 ч после последней обработки ТРА. Результаты экспериментов показали, что обработка ТРА приводит к значительному увеличению толщины и веса уха, а пептид LKEKK 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 LKEKK (300 мкг/ухо) значительно уменьшало отек и другие патологические признаки воспаления. Эти данные подтверждают способность пептида LKEKK подавлять персистирующие воспалительные поражения при многократном местном применении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пептид LKEKK обладает выраженной противовоспалительной активностью *in vitro* и *in vivo*, имеет простую структуру, не токсичен, не иммуногенен — все перечисленное делает пептид LKEKK 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. Tsikas 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., Gyölvézi 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. Navolotskaya 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. Breikreutz 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