

# РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРТНОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ СИСТЕМЫ АНАЛИЗА ВОЗДЕЙСТВИЙ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА

Королева С. В., Ашмарин И. П.

(Россия, Москва)

*Большое количество известных на настоящий момент регуляторных пептидов (РП), их выраженная полифункциональность, множество перекрестных индукционных связей и огромное число экспериментальных работ делают весьма проблематичным процесс анализа и предсказания воздействий РП на организм.*

*Для оценки эффектов РП и других биологически активных веществ (БАВ) нами был разработан программный комплекс RegPer/ВАС, состоящий из базы данных и программных модулей анализа. База данных, созданная на основе литературных источников 1960-2004 гг, включает следующие формализованные объекты: РП, БАВ, физиологические эффекты и индукционные влияния (с учетом способа введения РП и БАВ в организм), возможные внешние воздействия на организм, виды организмов, рецепторы. Для проведения оценки и сравнения воздействий РП был создан метод векторного представления эффектов пептидов, позволяющий оценить роль каждого РП в регуляторной системе организма. Данный математический аппарат был положен в основу разработки следующих программных модулей анализа: 1) функциональной классификации РП; 2) качественной и количественной оценки каскадных процессов; 3) отбора оптимальных комплексов РП с требуемым набором биологических активностей при минимальных побочных эффектах.*

*Разработанная экспертная система была использована в задачах анализа функционального континуума РП, контролирующего уровень тревожности, состояние депрессии, когнитивные процессы и др., а также при исследовании системы факторов*

внутреннего подкрепления. С ее помощью были отобраны наиболее перспективные комбинации пептидов для разработки эффективных лекарственных препаратов.

**Введение.** Регуляторные пептиды (РП) осуществляют контроль практически всех жизненно важных процессов организма. Выраженная полифункциональность каждого и способность подавляющего большинства из них индуцировать и ингибировать выход других РП и ряда биологически активных веществ (БАВ) формируют разветвленную, взаимосопряженную систему регуляции биологических функций. К настоящему времени накопился очень большой объем исследовательских работ по анализу воздействия регуляторных пептидов на различные параметры организма [1]. Трудность систематизации таких экспериментальных данных обусловлена тем, что число известных РП животных превышает уже две тысячи. Кроме того, большой спектр биоактивностей регуляторных пептидов приводит к тому, что каждая функция контролируется, как правило, целым множеством РП. Вычленение таких пептидных констелляций позволяет, с одной стороны, провести анализ структурно-функциональных закономерностей континуума, а с другой стороны, дает теоретические обоснования для применения комплексов РП и их аналогов в качестве терапевтических агентов. Необходимо подчеркнуть, что именно комплексное применение РП и их аналогов может быть наиболее натуральным и действенным, так как *in vivo* регулирование функций происходит на основе регуляторного континуума. Однако очевидны огромные экспериментальные трудности при изучении действия комплексов РП. Более того, наряду с желательными физиологическими функциями у каждой комбинации РП обязательно присутствуют побочные эффекты. Необходимость коррекции этих воздействий усложняет задачу поиска оптимальных сочетаний РП. Учитывая все это, необходимо разработать теоретические подходы, позволяющие разумно ограничить выбор комплексов, рассчитанных на достижение того или иного эффекта.

Таким образом, анализ всего спектра пептидов, необходимость функциональной классификации его, оценка роли каждого РП в формирующихся регуляторных континуумах — это рутинный и требующий большого количества ресурсов процесс. Необходима разработка эффективных экспертных систем оценки эффектов РП с активным использованием математического аппарата и компьютерных технологий.

Нами был разработан программный комплекс RegPer/BAC с использованием языка программирования Visual FoxPro, состоящий из базы данных и программных модулей анализа (рис. 1).

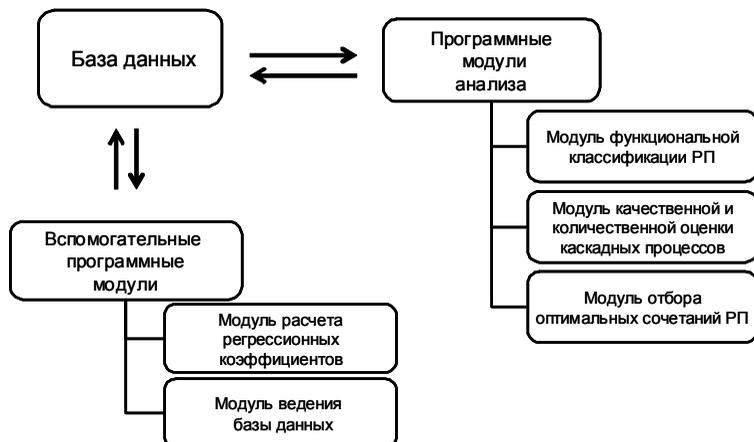


Рис. 1. Блок-схема программного комплекса.

**Структура базы данных. Информационное обеспечение.** База данных состоит из базы объектов и базы влияний. База объектов включает в себя четыре основных справочника, содержащих следующие формализованные объекты: РП, биологически активные вещества (медиаторы, ферменты и др.), физиологические функции, а также другие факторы влияния (возможные внешние воздействия на организм). Информация по каждому из объектов организована следующим образом. Для регуляторных пептидов учитываются семейства РП, аминокислотная последовательность, организм-источник и литературные ссылки. Для остальных объектов только наименование и название

группы. Кроме того, отдельно стоит выделить наличие вспомогательных базы организмов и базы рецепторов.

Для хранения экспериментальных данных о перекрестных взаимодействиях объектов созданы массивы влияний, в которых учитываются сами данные (качественный и количественный уровни), различные способы введения РП и БАВ в организм, а также вид организма и литературные источники. На рисунке 2 представлены возможные информационные связи (воздействия) базы влияний. Дополнительно в программном обеспечении базы данных были созданы модуль ведения базы данных и модуль, позволяющий на основе экспериментальных данных о динамике эффектов РП и БАВ рассчитывать регрессионные коэффициенты зависимости эффекта от величины влияющего объекта и времени. Для этого были использованы метод наименьших квадратов и метод ортогонализации Грама-Шмидта.

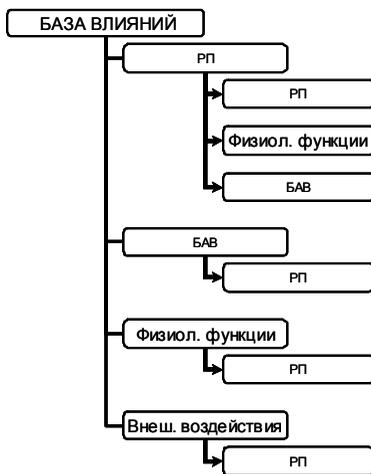


Рис. 2. Информационные связи базы влияний.

В базу данных на основе многочисленных литературных источников 1960–2004 гг была занесена информация по эффектам 26 регуляторных пептидов, относящихся к основным семействам РП: нейропептид Y (NPY), дельта-сон индуцирующий пептид (DSIP), кортиколиберин (CRF), вазоинтестинальный пептид (VIP), адренокортикотропный гормон (ACTH), вазопрессин (VP), окситоцин (OT), бета-эндорфин (beta-End), лей-энкефалин (Leu-Enk), натрийуретический пептид предсердия (ANP), вещество P (SP), галанин (Gal), альфа-меланоцит стимулирующий гормон (alpha-MSH), пептид-ингибитор связывания диазепама (DBI), динорфин (Dun), холе-

цистокинин-8 (ССК-8), холецистокинин-4 (ССК-4), пролактин (PL), соматостатин (SS), тиролиберин (TRH), гонадолиберин (GnRH), меланостатин (MIF-1), нейропептид К (NPK), ангиотензин-II (АТII), кальцитонин-ген-родственный пептид (CGRP), нейротензин (NT). Каждый из перечисленных РП является наиболее известным и изученным представителем того или иного класса, отражающим основной спектр биологических активностей семейств. Помимо создания базы РП выполнено информационное обеспечение справочников базы данных по физиологическим функциям организма (нервная, сердечно-сосудистая, пищеварительная и др. системы), различным БАВ (дофамин, серотонин и др.), разнообразным рецепторам и т.д.

**Векторный метод представления эффектов. Программный модуль функциональной классификации РП.** Для проведения оценки и сравнения воздействий РП нами был создан метод векторного представления эффектов пептидов, позволяющий оценить роль каждого РП в регуляторной системе организма [2]. Эффект регуляторного пептида, как и любого другого БАВ, осуществляющего контроль биологических процессов, можно представить как радиус-вектор в метрическом пространстве физиологических функций (рис. 3а). Координаты конца радиус-вектора соответствуют спектру первичных эффектов РП.

$$x_i' = x_i / \Delta_{\max} x_i,$$

где  $x_i$  — абсолютная величина изменения  $i$ -ой функции,  $\Delta_{\max} x_i$  — максимально возможный диапазон изменения  $i$ -ой функции.

Данное представление множества пептидов в пространстве физиологических эффектов дает наглядную геометрическую интерпретацию, позволяющую анализировать распределение групп регуляторных пептидов по их функциям. Важное биологическое значение имеют как области уменьшения плотности пептидов (точек, с координатами конца радиус-вектора) в  $n$ -мерном пространстве функций, так и области с повышенной плотностью точек или “пептидные скопления” — *RPC* (от англ. *regulatory peptides constellation*). Первые выявляют специфические ситуации, когда нет плавного перехода от одних групп регулирующих соединений к другим. Вторые являются множествами

пептидов со сходными спектрами эффектов (рис. 3б). Так, значительно упрощается систематическое исследование множества регуляторов и их воздействий на организм, и, что особенно важно, дает возможность применения компьютерных технологий при анализе информации о большом числе пептидов при поиске разнообразных закономерностей.

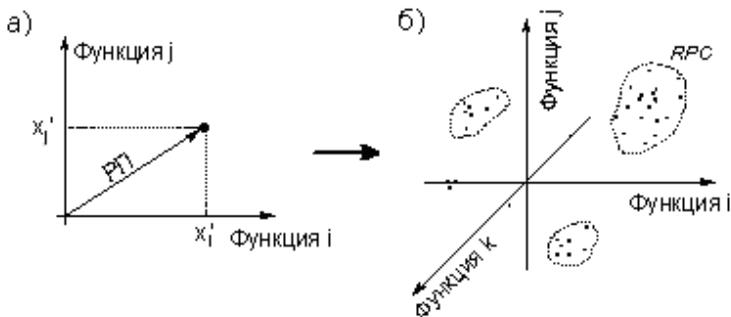


Рис. 3. а) векторная модель эффектов РП; б) распределение множества РП в пространстве функций

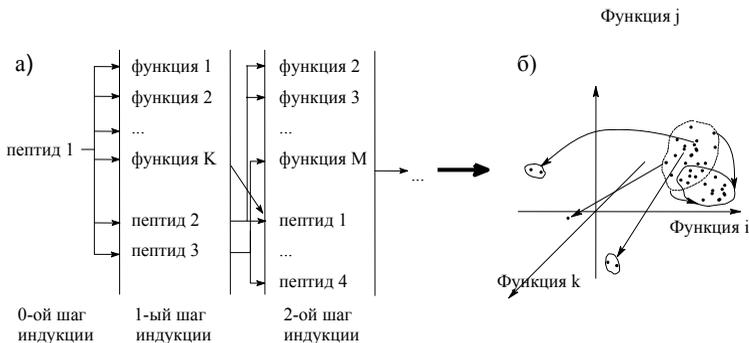
Данный математический аппарат был положен в основу разработки программного модуля функциональной классификации РП. Изначально пользователем обозначается спектр анализируемых физиологических эффектов и указываются направления воздействия на данные функции. Далее происходит анализ всех имеющихся в базе РП и выделяется необходимая *RPC*-область. Оценка функциональных профилей РП проводится как в различных типах организмов, так и в обобщенной биологической модели (суммируются данные, полученные на животных и людях). Кроме того, анализируется наличие и производится сравнение сопутствующих эффектов пептидов, входящих в обозначенную *RPC*-область.

**Программные модули качественной и количественной оценки каскадных процессов.** Следует отметить дополнительные теоретические разработки представленного векторного метода, которые в перспективе могли бы позволить на большой

базе данных выявить ряд скрытых закономерностей в существующей системе регуляции РП функций организма. Выше была представлена “статическая” модель пептидного множества без учета динамики спектра вызываемых функций. Координаты конца радиус-вектора характеризовали условно принятые первичные физиологические эффекты, наблюдаемые при введении определенного пептида в организм. Но, как было уже многократно показано, подавляющая часть пептидов регулируют выходы других РП и БАВ. Они оказывают дополнительное влияние и, более того, могут приводить к дальнейшим индукционным воздействиям на выход других пептидов. При рассмотрении биоактивностей РП в сочетании с вызванными физиологическими эффектами на втором, третьем, ...,  $n$ -ом шагах индукции происходит изменение координат в выбранном метрическом пространстве. Таким образом, с течением времени конец радиус-вектора (РП) будет двигаться по траектории, определяемой спектром физиологических функций на каждом шаге индукции (рис. 4а,б). Возможностями, появляющимися при данном анализе, являются изучения общей направленности каскадных реакций конкретных РП. Динамические распределения отдельно взятых пептидов, суммируясь, дают траекторию движения РРС-областей, векторы которой отражают эволюционно-закрепленные механизмы ответных реакций организма с течением времени.

На основе представленных рассуждений были разработаны программные модули качественной и количественной оценки каскадных процессов. Они предназначены для расчета цепочек каскадных реакций, индуцированных одним или рядом регуляторных пептидов в определенном организме. В первом модуле расчет проводится на качественном уровне, когда отмечается сам факт вызова или ингибирования какой-либо функции, РП или БАВ, а не их реальные количественные изменения. Под шагом анализируемого индукционного процесса мы подразумеваем один акт любого индукционного воздействия. Кроме того, на каждом этапе индукции оценивается спектр потенциальных рецепторов РП, задействованных в реализации эффектов. Здесь стоит отметить ряд важных допущений, принятых в нашей мо-

дели в следствии некоторой схематичности оценки индукционных процессов.



**Рис. 4.** а) схема каскадных механизмов индуцирования; б) динамическое распределение множества РП в пространстве функций

Во-первых, мы специально не суммируем воздействия, а выделяем их как отдельные позитивные и негативные влияния (так как здесь не учитывается сила эффекта и время наступления эффекта). В данном случае принципиальное значение имеет возможность отследить именно сами акты позитивных и негативных эффектов. Во-вторых, начиная со второго шага каскадного процесса, когда все события происходят уже внутри организма (*in vivo*), мы используем из базы только те эффекты РП, которые он производит *in vivo*. В-третьих, если мы на  $n$ -шаге реакции имеем ингибирующее воздействие на некий пептид, то в расчетную модель берем из базы данных только те эффекты, которые соответствуют исходному ингибированию *in vivo* данного РП.

Входными данными модуля качественной оценки являются: 1) набор РП с указанием способа введения каждого из них в организм; 2) тип организма.

Программный модуль количественной оценки предназначен для расчета первого шага индукции в каскадном процессе, вызываемом определенным РП (с учетом типа организма и вида введения). Расчет проводится на основании регрессионных коэффициентов (рассчитанных ранее в базе данных) зависимости

эффекта РП от его дозы и времени. Изначально пользователем задаются дозы вводимых РП и общий интервал времени ( $T$ ), в течение которого ведется анализ динамики эффекта.

При введении в организм нескольких пептидов проводится суммирование одиночных воздействий на каждую функцию, РП и БАВ.

$$F_{\text{общ}}(t_i) = \sum F_j(t_i),$$

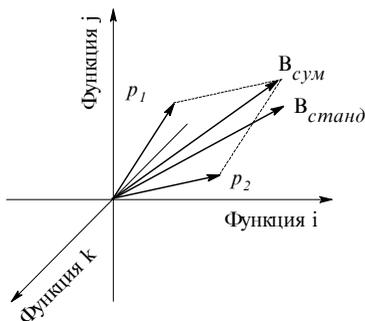
где  $F_{\text{общ}}(t_i)$  — величина суммарного эффекта во время  $t_i$ ,  $F_j(t_i)$  — величина эффекта каждого РП во время  $t_i$ ,  $j = 1, \dots, m$  ( $m$  — количество РП, обладающих общим воздействием на одну функцию, РП или БАВ)

Здесь стоит отметить, что принятие условия аддитивности данных воздействий правильно в случаях наличия систем разных рецепторов (или при отсутствии взаимноконкурентного ингибирования). Данное ограничение необходимо на первичных этапах оценки предполагаемого общего воздействия. В дальнейшем необходимо подключение усовершенствованных моделей за счет накопления реальных экспериментальных данных при сочетанном воздействии ряда РП.

Таким образом, представленные модули оценки индукционных процессов необходимы для: 1) прикладного исследования запускаемых реакций при введении определенных РП; 2) анализа фундаментальных процессов сложной сети взаимоиндукционных эффектов РП.

**Программный модуль отбора оптимальных сочетаний РП.** Данный модуль предназначен для отбора наиболее оптимальных комплексов РП с определенным спектром физиологических эффектов и минимумом побочных воздействий. В качестве математического аппарата модуля была разработана векторная модель комплексного действия групп РП, позволяющая разумно ограничить “доэкспериментальный” выбор комбинаций, рассчитанных на достижение того или иного эффекта. Отображение воздействия пептида на организм в виде вектора позволило провести соответствие между геометрической суммой векторов  $B_{\text{сум}}$  (рис. 5) и комплексным влиянием группы РП (с учетом аддитивности на первом этапе обобщения). В таком случае, оценкой близости вектора  $B_{\text{сум}}$  каждой комбинации РП и необходимого изменения функций организма, представляемого

в виде вектора  $V_{\text{станд}}$ , может служить скалярное произведение данных нормированных векторов. Чем больше оно, тем эффективнее рассматриваемый комплекс пептидов. Таким образом, был получен математический критерий для автоматического отбора требуемых комплексов РП с минимизированными побочными эффектами.



**Рис. 5.** Модель комплексного воздействия комбинации РП.  $p_1$ ,  $p_2$  — векторы воздействия РП 1, РП 2.

Программный модуль отбора эффективных комбинаций РП рассчитывает скалярные произведения нормированных векторов РП и вектора стандартного изменения биопараметров. Расчет проводится как в реальных организмах, так и в обобщенной биологической модели. Изначально пользователем указывается необходимое сочетание биоактивностей с указанием как направления воздействия на них (усиление или снижение), так и (при необходимости) коэффициента усиления этого воздействия (от 1 до 4), тип организма и требуемое количество РП в выделяемых комбинациях (от 1 до 4). В результате расчета отбираются 20 комплексов РП с максимальным скалярным произведением. Представленный модуль позволяет на базе данных большого объема осуществлять поиск оптимальных пептидных констелляций с точки зрения возможного клинического применения и отбрасывать те, которые не заслуживают первоочередного последующего экспериментального изучения. При этом значительно сужается экспериментальное поле анализа. Очевидна необходимость последующих экспериментальных оценок этих теоретических заключений. Действительная система взаимодействия различных РП может далеко выходить за рамки аддитивных эффектов, лежащих в основе изложенного подхода. Однако этот шаг необходим для разумного ограничения объема первичных исследований действия комбинаций РП.

**Применение экспертной системы.** Представленный программный комплекс был использован в задачах анализа функ-

ционального континуума РП, контролирующих уровень тревожности, состоянию депрессии, когнитивные процессы и др. Были проанализированы структурно-функциональные особенности организации данных систем РП. Оценка проводилась с учетом как первичных эффектов, так и потенциально возможных длительных индукционных процессов. Были отобраны наиболее оптимальные для дальнейших экспериментальных исследований парные и тройные сочетания пептидов анксиолитического (анксиогенного) профиля. Они обладают также такими дополнительными воздействиями, как усиление (ослабление) процессов обучения и памяти, ослабление (увеличение) судорожной активности и снижение (усиление) депрессии, регуляция уровня сна/бодрствования, гипотензивный (гипертензивный) эффект и т.д. Были рассмотрены ситуации, когда совместное введение РП имеет многоуровневое воздействие на один и тот же параметр организма, что открывает возможности для получения более мощных эффектов, представляющих особый интерес в медицинском плане.

Применение экспертной системы при анализе множества эндогенных факторов внутреннего подкрепления (ФВП) позволило оценить особенности функционирования данного континуума регуляторов. Был проведен анализ прямых и опосредованных взаимодействий между дофамином, серотонином, другими ФВП и РП с построением нейронной сети сложных перекрестных индукционных связей. Проанализированы возможные каскадные пути воздействия ФВП на ряд патологических процессов и состояний: увеличенное давление крови, тревожность, депрессия, боль, повышенный тонус гладкой мускулатуры дыхательных путей и др.

Созданный нами программный комплекс является эффективным инструментом обработки информационного множества по РП и их эффектам, а также по другим факторам надклеточной системы регуляции биохимических и физиологических функций. Выделение объектов учитывает природу влияющих факторов и дает возможность пополнять базу дополнительными элементами. Формализация справочников пептидов, БАВ, биохимических и физиологических функций, рецепторов, а также типов организмов отличает данную базу РП от существующих на настоящий момент других баз данных РП, эффективно функционирующих как неформализованные текстовые справочники. Данная формализация позволяет сопоставлять и сравнивать между собой раз-

личные объекты, а также вводить количественные характеристики элементов базы. Создание в программном комплексе возможности отображения сложных иерархических взаимодействий РП между собой и БАВ позволяет помимо “визуализации” индукционной сети ставить задачи по вычленению отдельных представителей каскадных цепей и анализа ограниченных участков функционального континуума. Такой подход особенно необходим при интерпретации экспериментальных данных о первичных и опосредованных эффектах регуляторных пептидов. Известно, что последовательная модуляция выхода других РП является характерным процессом для подавляющего большинства пептидов. В программном комплексе представлена возможность отслеживать любые индукционные влияния между объектами с учетом разных способов введения в различные организмы. Это крайне важно, так как существует очевидная трудность в анализе периферических и центральных эффектов РП. Кроме того, строгое соотношение функций пептидов с типами организмов облегчает исследование отличий спектров биологических активностей РП при их введении различным животным. Возможность прогнозирования с помощью программного комплекса оптимальных сочетаний РП с необходимым спектром биоактивностей и минимизированными побочными воздействиями значительно ограничивает число комбинаций пептидов, заслуживающих первоочередного экспериментального исследования.

Таким образом, нами была разработана экспертная система оценки воздействия РП и других БАВ, позволяющая исследовать структурно-функциональную организацию эволюционно-отобранных регуляторных систем организма. С другой стороны, с ее помощью можно прогнозировать поведение физиологической системы в ответ на введение различных РП и БАВ, а также отбирать наиболее перспективные сочетания пептидов для разработки эффективных терапевтических агентов.

#### **Список литературы:**

1. Zadina J.E., Banks W.A., Kastin A.J. Central nervous system effects of peptides, 1980–1985: a cross listing of peptides and their central actions from the first six years of the journal *Peptides* // *Peptides*. 1986. V.7. P.497–537.
2. Koroleva S.V., Ashmarin I.P. Functional continuum of regulatory peptides (RPs): vector model of RP-effects representation // *Journal of Theoretical Biology*. 2002. V.216. №3. P.257–271.

## **CREATING EXPERT COMPUTER SYSTEM FOR ANALYSIS OF REGULATORY PEPTIDES AND BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS INFLUENCE ON PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS OF ORGANISM**

**Koroleva S. V., Ashmarin I. P.**

(Russia, Moscow)

*A plenty of regulatory peptides (RP) known on the present moment, their expressed polyfunctionality, set of cross induction connections and huge number of experimental works do rather problematic process of the analysis and a prediction of influences of RP on an organism.*

*For an estimation of RP effects and other biologically active compounds (BAC) we developed the program complex RegPep/BAC consisting of a database and program modules of the analysis. The database created on the basis of literature data of 1960-2004 years, includes the following formalized objects: RP, BAC, physiological effects and induction influences (with the account of a way of introduction RP and BAC into organism), possible external influences on an organism, types of organisms, receptors. For realization of an estimation and comparison of influences of RP the method of vector representation of peptides effects was created, allowing to estimate a role of every RP in regulatory system of an organism. The given mathematical device was used as a basis for development of the following program modules of the analysis: 1) functional classification of RP; 2) a qualitative and quantitative estimation of cascade processes; 3) selection of optimum RP complexes with a required set of biological activities at the minimal side effects.*

*The developed expert system was used in tasks of the analysis of the functional continuum of RP, supervising a level of anxiety, a depression state, cognitive processes etc., and also at research of system of reward factors. With its help the most perspective combinations of peptides for development of effective drugs were selected.*