

О пептидах Церебролизина, способствующих нормотимии

© И.Ю. ТОРШИН¹⁻³, О.А. ГРОМОВА¹⁻³, В.Г. ЗГОДА⁴, О.В. ТИХОНОВА⁴, С.И. МАЛЯВСКАЯ³

¹ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» РАН» Институт фармакоинформатики, Москва, Россия;

²Центр хранения и анализа больших данных, МГУ, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, Архангельск, Россия;

⁴ИБМХ им. В.Н. Ореховича, ЦКП «Протеом человека», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Установление молекулярных механизмов нормотимического действия нейропротектора Церебролизина.

Материал и методы. Комплексный масс-спектрометрический анализ пептидного состава Церебролизина с последующим биоинформационным анализом.

Результаты. Установлено содержание в Церебролизине Лей- и Мет-энкефалина, частичных аналогов энкефалинов, пептидных фрагментов бета-липотропина. Эти пептиды стимулируют эндорфинергическую систему ЦНС, способствуя нормотимии и повышению уровней нейротрофического фактора мозга BDNF. Специфическое ингибирование пептидами Церебролизина киназ ABL1, PINK1, CDK5 и аргинин N-метилтрансферазы PRMT5 оказывает разнонаправленное действие на дофаминергическую систему, способствуя стабилизации настроения. Пептиды Церебролизина не оказывают прямого воздействия ни на серотонинергическую, ни на адренергическую, ни на ГАМКергическую системы ЦНС.

Вывод. Нормотимическое действие Церебролизина обусловлено стабилизацией эндорфинергической и дофаминергической нейротрансмиссии.

Ключевые слова: энкефалины, дофамин, нейропротекторы, биоинформатика, Церебролизин.

Информация об авторах:

Торшин И.Ю. — <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>

Громова О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Згода В.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-4532-4274>

Тихонова О.В. — <https://orcid.org/0000-0002-2810-566X>; e-mail: ovt.facility@gmail.com

Малявская С.И. — <https://orcid.org/0000-0003-2521-0824>; e-mail: nauka@nsmu.ru

Как цитировать:

Торшин И.Ю., Громова О.А., Згода В.Г., Тихонова О.В., Малявская С.И. О пептидах Церебролизина, способствующих нормотимии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(12):68-74. <https://doi.org/10.17116/jnevro201911912168>

Cerebrolysin peptides as mood stabilizers

© I.YU. TORSHIN¹⁻³, O.A. GROMOVA¹⁻³, V.G. ZGODA⁴, O.V. TIKHONOVA⁴, S.I. MALYAVSKAYA³

¹Federal Research Center «Computer Science and Control» of the Russian Academy of Sciences, Moscow;

²Big Data Storage and Analysis Center, Moscow State University, Moscow, Russia;

³SevGMU «Northern State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Arkhangelsk, Russia;

⁴IBMH them. V.N. Orekhovich, CCP «Human Proteome», Moscow, Russia

Abstract

Objective. To establish the molecular mechanisms of the mood stabilizing (normothymic) action of the neuroprotector Cerebrolysin.

Material and methods. Mass-spectrometric analysis of the peptide composition of cerebrolysin followed by a complex bioinformatics analysis was utilized.

Results. Cerebrolysin contains considerable amounts of Leu- and Met-enkephalins, partial analogues of enkephalins, peptide fragments of beta-lipotropin. These peptides stimulate the endorphinergic system thus contributing to normothymic action and an increase in the levels of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Specific inhibition of kinases ABL1, PINK1, CDK5 and arginine N-methyltransferase PRMT5 by the peptides of cerebrolysin has a multidirectional effect on the dopaminergic system, also helping to stabilize mood. Cerebrolysin peptides do not directly affect neither the serotonergic, adrenergic, nor GABAergic systems.

Conclusions. The normothymic effect of Cerebrolysin is due to the stabilization of endorphinergic and dopaminergic neurotransmission.

Keywords: enkephalins, dopamine, neuroprotectors, bioinformatics, cerebrolysin.

Автор, ответственный за переписку: Громова Ольга Алексеевна — e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Corresponding author: Gromova O.A. — e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Information about the authors:Torshin I.Yu. — <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>Gromova O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; e-mail: unesco.gromova@gmail.comZgoda V.G. — <https://orcid.org/0000-0002-4532-4274>Tikhonova O.V. — <https://orcid.org/0000-0002-2810-566X>; e-mail: ovt.facility@gmail.comMalyavskaya S.I. — <https://orcid.org/0000-0003-2521-0824>; e-mail: nauka@nsmu.ru**To cite this article:**Torshin IYu, Gromova OA, Zgoda VG, Tikhonova OV, Malyavskaya SI. Cerebrolysin peptides as mood stabilizers. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019;119(12):68-74. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnev-ro201911912168>

Эмоциональные расстройства существенно осложняют реабилитацию пациентов с неврологическими заболеваниями. Например, у пациентов, перенесших ишемический инсульт (ИИ), моторная и идеомоторная заторможенность сопровождается формированием гипотимии, тревожности, ощущения тоски, отмечаются регулярные снижения настроения утром/вечером, а в тяжелых ситуациях могут формироваться апатия, зависимость, дисфория, агрессия и эмоциональное огрубление [1].

Депрессия и нарушения эмоциональной сферы развиваются примерно у каждого 3-го пациента с ИИ. Постинсультная депрессия часто не диагностируется, хотя ее выявлению помогают простые тесты (например, шкалы Бека, Гамильтона и др.). Постинсультная депрессия формируется на фоне гибели сотен тысяч нейронов и способствует увеличению клеточных потерь в зоне пенумбры. Поэтому для выживания нейронов в зоне пенумбры важен положительный эмоциональный настрой пациента [1]. Для восстановления эмоциональной сферы требуется нейротрофическая и нейропротекторная поддержка, а попытки справиться с гипотимией у пациентов с ИИ только с помощью антидепрессантов зачастую безуспешны и приводят к полипрагмазии [2].

Клинический опыт показывает, что нейротрофический и нейропротекторный лекарственный препарат Церебролизин проявляет нормотимические свойства. Врачи отмечают, что использование Церебролизина приводит к улучшению качества сна (в том числе появлению цветных снов), преодолению «траурного» состояния пациента с ИИ уже к концу 1-й недели терапии. В течение 2–3 нед терапии снижается не только неврологический дефицит, но и риск формирования постинсультной депрессии, у пациентов отмечается улучшение настроения и мотивации [3]. В исследовании [4] было отмечено нормотимическое действие Церебролизина у лиц с тяжелыми формами химической зависимости.

В настоящей работе представлены результаты комплексного биоинформационного анализа пептидного состава данного нейропротектора с целью установления молекулярных механизмов осуществления нормотимического эффекта Церебролизина. Отметим, что нормотимическое действие различных препаратов, способствующих стабилизации настроения, может быть обусловлено различными молекулярными механизмами. Например, нейролептики и антидепрессанты направлены на таргетную модуляцию синтеза дофамина, норадреналина и серотонина. Нормотимическими свойствами характеризуются препараты, усиливающие ГАМКергическую нейротрансмиссию, препараты, регулирующие активность каскада арахидоновой кислоты (омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты), а также

противосудорожные средства (например, блокаторы потенциалуправляемых натриевых каналов) и анальгетики. Все эти механизмы нормотимического действия были систематически рассмотрены при анализе пептидного состава Церебролизина.

Материал и методы

Для установления механизмов нормотимического действия Церебролизина был проведен анализ выборки протеомных данных о составе препарата, полученных нами в работе [5]. Эти данные были собраны с использованием передовой технологии современной протеомики — гибридной масс-спектрометрии (МС), сочетающей мультипараллельное хроматографическое выделение ионов пептидов с многомерным МС-анализом. В результате исследования пептидного состава «легкой» пептидной фракции Церебролизина (до 1500 Да) в 10 параллельных протеомных экспериментах с использованием современных математических методов *de novo* МС-секвенирования, реализованных в виде комплекса программ DNVSEQP, были получены аминокислотные последовательности 14 635 пептидов, соответствующих 1643 нейрональным белкам протеома свиньи.

Биоинформационный анализ выборки протеомных данных проводили в два этапа. На первом этапе для оценки биологических ролей установленных пептидов сравнивали их аминокислотные последовательности с белками протеома человека и 14 635 были сопоставлены 23 334 аннотациям пептидов из базы данных UNIPROT [6].

На втором этапе был проведен системно-биологический анализ всех пептидов Церебролизина по отношению к нормотимическим свойствам этих пептидов. Для этой цели был использован метод анализа функциональных взаимосвязей [7, 8], который позволил систематически рассмотреть все возможные области нормотимического эффекта: потенциальные воздействия на дофаминергическую, адренергическую, серотонинергическую, эндорфинергическую ГАМКергическую нейротрансмиссию, воздействия на каскад арахидоновой кислоты, анальгетическое и противосудорожное действие.

Для статистической обработки результатов биоинформационного анализа использовали методы математической статистики, включающие расчет числовых характеристик случайных величин, проверку статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционный и дисперсионный анализ. Прогнозируемые и наблюдаемые частоты встречаемости исследуемых признаков сравнивали с помощью критерия χ -квадрат, Т-критерия Вилкоксона—Манна—Уитни и те-

ста Стьюдента. Для статистической обработки материала использовали специально разработанные прикладные программы и электронные таблицы Microsoft Excel.

Результаты

Применение метода анализа функциональных взаимосвязей к собранной выборке протеомных данных о составе Церебролизина позволило идентифицировать 27 пептидов, которые могут проявлять нормотимические эффекты. Эти пептиды представляют собой фрагменты 12 различных белков (см. таблицу). В частности, установлено относительно высокое содержание Лей- и Мет-энкефалина, частичных аналогов энкефалинов, пептидных фрагментов бета-липотропина: каждый из этих пептидов встретился при анализе по крайней мере 2 из 10 выборок протеомных данных.

Представленные в таблице результаты биоинформационного анализа позволяют сделать несколько важных выводов. Во-первых, Церебролизин содержит значительные количества *энкефалиноподобных пептидов*, включая Лей- и Мет-энкефалины. Эти пептиды могут стимулировать эндорфинергическую систему ЦНС, тем самым способствуя повышению уровней нейротрофического фактора мозга (BDNF) и нормотимии.

Во-вторых, Церебролизин содержит пептиды, которые могут специфически ингибировать киназы ABL1, PINK1, CDK5 и аргинин N-метилтрансферазу PRMT5, тем самым оказывая разностороннее воздействие на дофаминергическую систему, что также способствует и стабилизации настроения.

В-третьих, проведенный анализ позволяет сделать вывод, что пептиды Церебролина не оказывают прямого воздействия ни на серотонинергическую, ни на адренергическую, ни на ГАМКергическую систему ЦНС. Это весьма важно, так как пептиды Церебролизина не будут напрямую вмешиваться в функционирование этих нейротрансмиссивных систем и тем самым не будут проявлять соответствующих побочных эффектов.

Энкефалиноподобные пептиды Церебролизина и регуляция настроения

Лей-энкефалин (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, YGGFL) и Мет-энкефалин (tyr-gly-gly-phe-met, YGGFM) являются эндогенными опиоидными пептидными нейротрансмиссерами, регулирующими экстрапиримидную и лимбическую системы [9]. В составе Церебролизина были найдены пептидные фрагменты проэнкефалинов A/B (гены PENK, PDYN) и проопиомеланокортина (ген POMC, см. таблицу).

Пептид Церебролизина YGGFLKR является аналогом эндогенного Лей-энкефалина, а пептид YGGFMK — аналогом эндогенного Мет-энкефалина (рис. 1 на цв. вклейке). Оба энкефалина участвуют в поддержании положительного настроения, восприятия боли и реакции на стресс. Кроме того, в 9 из 10 протеомных экспериментов с ЛП Церебролизин был найден пептидный фрагмент GGFLPR проэнкефалина, который представляет собой частичный аналог обоих энкефалинов. Наличие в Церебролизине пептидов KELLQL, LLQLSK, SHLLAKR, YGGFMK, LPQDGT, являющихся фрагментами синэнкефалина и образующихся при протеолизе проэнкефалина-A — подтверждение того, что идентификация пептидов YGGFLKR, YGGFMK, GGFLPR не является артефактом процедуры *de novo*-секвенирования.

Пептиды Церебролизина, воздействующие на дофаминергическую нейротрансмиссию и метаболизм дофамина

В составе Церебролизина были найдены пептиды, потенциально являющиеся специфическими конкурентными ингибиторами киназ ABL1, PINK1, CDK5 и аргинин-N-метилтрансферазы PRMT5 — ферментов, влияющих на гомеостаз дофамина. Напомним, что так называемое конкурентное ингибирование ферментов подразумевает прямые взаимодействия соответствующих молекул-ингибиторов с активными центрами ферментов. Ингибирующие свойства идентифицированных пептидов Церебролизина косвенно подтверждаются имеющейся биохимической информацией о взаимодействии этих пептидов с активными центрами ферментов ABL1, PINK1, CDK5, PRMT5.

Тирозин-протеинкиназа ABL1 поддерживает ответ нейронов на дофамин [10]. Пептид Церебролизина YGFLRP соответствует пептидному фрагменту 846-851 YGSLRP киназы легких цепей миозина, который фосфорилируется киназой ABL1 по остатку тирозина Tyr-846 (YGSLRP) [11]. Однако в пептиде ЛП Церебролизин вместо малого по размерам остатка серина Ser-838 представлен достаточно объемный остаток фенилаланина (Phe-838, YGFLRP), что будет нарушать конформацию активного центра киназы ABL1 и препятствовать фосфорилированию тирозина Tyr-846. Наиболее интересен пептид Церебролизина LLPVTP, соответствующий фрагменту 611-617 YLLPVAP киназы легких цепей миозина, в котором киназой ABL1 фосфорилируется остаток Y611 [11]. В пептиде LLPVTP, однако, остаток тирозина-611 отсутствует, что делает этот пептид важным потенциальным ингибитором киназы ABL1.

Циклин-зависимая киназа CDK5 ингибирует функцию рецептора дофамина D2 и одновременно способствует поддержанию активности транспортера дофамина DAT [12]. Пептид ЛП Церебролизин LLLAPV соответствует фрагменту 44-49 LLLSPV белка TP53, в котором киназой CDK5 фосфорилируется серин-47 (по данным UNIPROT [6]). Однако в пептиде LLLAPV остаток серина заменен на аланин (LLLAPV), что делает данный пептид специфическим ингибитором CDK5. Аналогично пептиды DLLLTP (соответствует фрагменту 43-48 DLLLSP белка TP53) и LLGSPV (соответствует фрагменту 243-248 MLGSPV катенина бета-1) также могут ингибировать киназу CDK5 [13].

Фермент *аргинин-N-метилтрансфераза PRMT5* стимулирует передачу сигналов от дофаминового рецептора D2 [14] посредством метилирования остатков аргинина в определенных белках. Пептид Церебролизина ELFGSG соответствует фрагменту 45-50 ELFGRG Piwi-подобного белка PIWIL1, в котором метилируется аргинин-49 (ELFGRG, по данным UNIPROT [6]). Отсутствие аргинина в соответствующей позиции пептида ELFGSG гарантирует, что данный пептид не является субстратом PRMT5, но тем не менее может специфически взаимодействовать с активным центром PRMT5, конкурентно ингибируя этот фермент. Ингибитором PRMT5 может являться и пептид RWGLR, содержащий потенциальный сайт метилирования аргинина (RWGLR).

Обсуждение

Наиболее важным результатом настоящего исследования является подтверждение присутствия в составе Церебролизина энкефалинов и энкефалиноподобных пептидов,

Пептиды Церебролизина с потенциальным нормотимическим действием

Cerebrolysin peptides with potential normotymic effect

С.	Пептид	Ген	Белок	Функция белка	Участок белка
5	LSYPAPK	ABL2	Тирозинкиназа Абельсон-2	Ингибирование ABL1	261 — Взаимодействие с ABL1
4	LLGSPV	CTNNB1	Катенин бета-1	Ингибирование CDK5	246 — Взаимодействие с CDK5
6	SPLASLP	KCNB1	Калиевый канал В1, управляемый напряжением	»	607 — Взаимодействие с CDK5
10	YGFLRP	MYLK	Киназа легких цепей миозина	Ингибирование ABL1	846 — Взаимодействие с ABL1
5	LLPVTP	»	»	»	611 — Взаимодействие с ABL1
9	GGFLPR	PDYN	Проэнкефалин-В	Контроль настроения	208—211 — Лей-энкефалино- подобный пептид
5	YGGFLKR	PENK	Проэнкефалин-А	»	230—234 — Лей-энкефалин
5	KELLQL	»	»	Продукт протеолиза PENK	25—97 — Синенкефалин
4	LLQLSK	»	»	»	25—97 — Синенкефалин
3	SHLLAKR	»	»	»	25—97 — Синенкефалин
3	YGGFMK	»	»	Контроль настроения	100—104 — Мет-энкефалин
2	LPQDGT	»	»	Продукт протеолиза PENK	25—97 — Синенкефалин
4	ELFGSG	PIWIL1	Piwi-подобный белок 1	Ингибирование PRMT5	49 — Взаимодействие с PRMT5
5	RWGLR	PIWIL2	Piwi-подобный белок 2	»	551 — Взаимодействие с PRMT5
3	SMEHFR	POMC	Проопиомеланокортин	Стимулирует меланогенез, энергетический гомеостаз	138—150 — Меланоцитстимулирующий гормон
3	PLEFK	»	»	Гипногенные свойства	156—176 — Кортикотропиноподобный пептид
3	DGAGAQ	»	»	Опиоид гипофиза, липолиз и стероидогенез	179—267 — β -липотропин
4	GAQADL	»	»	Опиоид гипофиза	»
2	SLLVAA	»	»	»	»
3	LLVAAE	»	»	»	»
3	WGSPPK	»	»	»	»
4	PLVTLF	»	»	»	»
8	DLLLSP	TP53	Клеточный опухолевый антиген p53	Ингибирование CDK5	47 — Взаимодействие с CDK5
6	LLLAPV	»	»	»	»
8	ESTLHLVLR	UBB	Полиубиквитин-В	Ингибирование PINK1	65 — Взаимодействие с PINK1
8	TLHLVLR	UBC	Полиубиквитин-С	»	»

Примечание. С., полуколичественные оценки содержания пептидов в Церебролизине, соответствует числу подвыборок протеомных данных, в которых был идентифицирован пептид с данной последовательностью (максимальное значение — 10). Строки таблицы упорядочены по названиям соответствующих генов.

Note. S., semi-quantitative estimates of the content of peptides in Cerebrolysin; corresponds to the number of subsamples of proteomic data in which a peptide with a given sequence has been identified (maximum value is 10). Rows of the table are ordered by the names of the corresponding genes.

принципиально необходимых для регуляции настроения [15]. Пептид Церебролизина YGGFLKR является аналогом эндогенного Лей-энкефалина, пептид YGGFMK — аналогом эндогенного Мет-энкефалина, а пептид GGFLPR — частичным аналогом обоих энкефалинов.

Лей-энкефалин и Мет-энкефалин — эндогенные агонисты мю- и дельта-опиоидных рецепторов. Считается, что дельта-опиоидные рецепторы модулируют ноцицепцию хронической боли, в то время как мю-опиоидные рецепторы модулируют острую боль [16]. Активация мю-опиоидных рецепторов энкефалинами стимулирует анальгезию [17], седативный эффект, понижение повышенного артериального давления, снижение частоты дыхания, замедление динамики кишечника и антидепрессантный эффект [18]. Активация энкефалинами дельта-опиоидных рецепторов также связана с антидепрессивным эффектом (в частности, посредством активизации продукции BDNF в головном мозге) [19, 20]. Мет-энкефалин также является агонистом дзета-опиоидных рецепторов,

что стимулирует противовирусный и противоопухолевый эффекты [21]. Оба энкефалина не влияют на каппа-опиоидные рецепторы [22].

Мю- и дельта-опиоидные рецепторы имеют высокое сродство к энкефалинам и к бета-эндорфину, но низкое сродство к динорфину. Активация энкефалинами Церебролизина мю- и дельта-опиоидных рецепторов стимулирует передачу сигнала через G-белок Gi-альфа, ингибируя активность аденилатциклазы и снижая уровни сигнальной молекулы циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в нейронах (**рис. 2 на цв. вклейке**).

Хотя уже давно известно, что энкефалины участвуют в поддержании позитивного настроения [23], их использование в качестве нормотимиков редко исследуется. Лишь в отдельных работах изучен уровень опиоидных пептидов в биологических жидкостях различных пациентов [24]. Незначительное количество подобных исследований связано, в частности, с трудностями технологического характера с определением энкефалинов и эндорфинов в биосубстратах

в связи с их быстрым ферментативным протеолизом. В самом деле, Мет- и Лей-энкефалины активно метаболизируются различными ферментами-энкефалиназами, включая аминопептидазу N, нейтральную эндопептидазу (NEP), дипептидилпептидазу 3, карбоксипептидазу A6 (CPA6) и ангиотензинпревращающий фермент (АСЕ) [25].

Важными свойствами энкефалинов являются их антистрессорное и анальгетическое действия, осуществляемые через мю- и дельта-опиоидные рецепторы. Энкефалины — эндогенные анальгетики, которые участвуют в повышении стрессоустойчивости, тем самым способствуя нормотимии [26]. Выработка эндорфинов и энкефалинов увеличивается в ответ на стресс с целью обеспечения физиологического выхода из стресса (т.е. без срыва адаптации и без формирования постстрессорных нарушений) [27]. Энкефалины и эндорфины производятся в организме человека во время боевых действий, спортивных соревнований и т.п., что позволяет до определенной степени игнорировать боль и мобилизовать восстановительные резервы организма: о том, что раны победителей заживают быстрее, чем раны побежденных, было известно еще в Древнем Риме. И наоборот, при многих патологических состояниях и заболеваниях, протекающих с утратой двигательных функций, выраженными болевыми синдромами и/или на фоне депрессии, у пациентов отмечается истощение эндорфинергической системы. Повышение синтеза энкефалинов в условиях стресса необходимо, в частности, для анальгезии и регуляции симпатoadреналовой системы [28].

Важно отметить, что воздействие энкефалинов на активность других нейротрансмиттеров соответствует усилению нормотимического действия самих энкефалинов. Мнение о том, что энкефалины и эндорфины являются «гормонами счастья» или «гормонами радости», базируется на эффектах введения в организм психоактивных веществ, сходных по фармакологическому действию с эндорфинами (в частности, морфина и других опиатов), которое приводит к сильной эйфории. На самом деле собственно эйфория развивается как результат побочного действия этих экзогенных химических веществ на другие нейромедиаторы (прежде всего на дофамин и серотонин) [29]. Сами энкефалины, наоборот, способны корректировать нарушения в системе дофаминергической и ацетилхолиновой нейротрансмиссии [30, 31].

Следует также подчеркнуть, что в составе Церебролизина были найдены и другие пептиды, активность которых так или иначе ассоциирована с эндорфинергической нейротрансмиссией. Например, эндогенный Мет-энкефалин (пептид YGGFM) и бета-эндорфин образуются и при эндогенном протеолизе белка проопиомеланокортина (ген POMC, остатки 237-267 — бета-эндорфин, остатки 237-241 — Мет-энкефалин). В ЛП Церебролизина были найдены пептиды, которые образуются при протеолизе проопиомеланокортина в ходе производства препарата (SMEHFR, PLEFK, DGAGAQ, GAQADL, SLLVAA, LLVAAE, WGSPPK, PLVTLF, см. табл. 1). В частности, пептиды DGAGAQ, GAQADL, SLLVAA, LLVAAE, WGSPPK, PLVTLF представляют собой фрагменты β-липотропина, который является преобладающим опиоидом гипофиза, поддерживает липолиз и стероидогенез [32]. β-Липотропин расщепляется на более мелкие пептиды, в том числе β-эндорфин, который регулирует настроение и поведение [33]. Перечисленные пептиды Церебролизина покрывают

1/3 аминокислотной последовательности бета-липотропина и могут представлять собой биологически активные пептидные аналоги пептидов, образующихся при протеолизе липотропина.

Вторым важным результатом настоящего исследования является установление возможности специфического ингибирования пептидами Церебролизина киназ ABL1, PINK1, CDK5, аргинин-N-метилтрансферазы PRMT5, которое оказывает разнонаправленное действие на дофаминергическую систему. Дофамин является одним из химических факторов внутреннего подкрепления, т.е. служит важной частью «системы вознаграждения» мозга, участвует в контроле психических и моторных процессов, что важно для формирования целенаправленного поведения. В экстропирамидной системе дофамин играет роль стимулирующего нейромедиатора, способствующего повышению двигательной активности, уменьшению двигательной заторможенности и скованности, снижению гипертонуса мышц. При нарушении дофаминергической системы отмечаются такие расстройства, как ангедония, депрессия, деменция, патологическая агрессивность, синдром беспокойных ног и периодических движений в конечностях и др. [34].

С возникновением расстройств настроения связано как избыточное повышение дофаминергической активности в ЦНС, так и ее излишнее снижение. Например, так называемые позитивные симптомы шизофрении (бред, галлюцинации) ассоциированы с избытком дофамина в мезолимбическом пути, а негативные симптомы (эмоциональная тупость, апатия, бедность речи, ангедония) — с недостатком дофамина в мезокортикальном пути, так что при неадекватном дозировании нейролептиков провоцирует депрессию [35]. Иначе говоря, снижение активности дофамина связано с депрессией, тогда как повышение функции дофамина способствует возникновению мании [36]. Поэтому с точки зрения осуществления нормотимического эффекта важна именно стабилизация дофаминергических сигналов во всех отделах мозга. Действие пептидов Церебролизина, идентифицированных в настоящем исследовании, как раз и направлено на такую стабилизацию или «модуляцию» дофаминергической нейротрансмиссии.

С одной стороны, пептиды Церебролизина YGFLRP, LLPVTP являются специфическими ингибиторами тирозинкиназы ABL1, которая поддерживает ответ нейронов на дофамин [10]. Ингибирование киназы ABL1 защищает дофаминергические нейроны на доклинической модели болезни Паркинсона [37]. Пептиды Церебролизина LLLAPV, DLLLTP, LLGSPV, ингибируя киназу CDK5, способствуют активации рецептора дофамина D2 [12]. Одновременно ингибиторы CDK5 снижают активность обратного переносчика дофамина в синапсе (DAT) [38], тем самым повышая концентрацию дофамина в синапсе.

С другой стороны, пептиды Церебролизина ELFGSG, RWGLR будут способствовать ингибированию аргинин N-метилтрансферазы PRMT5, которая осуществляет симметричное диметилирование остатков аргинина в 3-й внутриклеточной петле дофамина рецептора D2, тем самым поддерживая передачу сигналов от D2-рецептора внутрь нейрона [14]. Поэтому ингибирование PRMT5 пептидами Церебролизина будет способствовать снижению избыточной интенсивности дофаминергической нейротрансмиссии.

Заключение

Известны естественные подходы к повышению уровня эндогенных энкефалинов и эндорфинов в организме: новые позитивные впечатления, музыкотерапия, занятия спортом, употребление некоторых пищевых продуктов (какао и др.). Однако эти подходы применимы только в тех случаях, когда эндорфинергические структуры функционируют нормально. Поэтому сочетание нейротрофических, нейропротекторных и нормотимических свойств в одном препарате весьма желательно. Нормотимические эффекты нейропротекторных препаратов, используемых у пациентов с ИИ, хронической ишемией мозга или нейродегенеративной патологией, весьма важны для повышения качества терапии и ускорения реабилитации.

В настоящей работе установлено наличие устойчивых количеств пептидов с нормотимическими свойствами в составе Церебролизина, в том числе Лей- и Мет-энкефалина, частичных аналогов энкефалинов, пептидных фрагментов бета-липотропина, позитивно влияющих на настроение

и способствующих повышению уровней нейротрофического фактора мозга BDNF. Также в составе Церебролизина найдены пептиды, специфически ингибирующие киназы ABL1, PINK1, CDK5 и аргинин-N-метилтрансферазу PRMT5. Ингибирование этих ферментов оказывает мягкое модулирующее действие на дофаминергическую систему, что способствует и стабилизации настроения. Анализ показал, что пептиды Церебролизина не оказывают прямого воздействия ни на серотонинергическую, ни на адренергическую, ни на ГАМКергическую систему ЦНС. Таким образом, идентифицированные в настоящей работе пептиды Церебролизина могут реализовать нормотимическое действие посредством стабилизации эндорфинергической и дофаминергической нейротрансмиссии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-07-01419

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.**

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Парфенов В.А. Постинсультная депрессия: распространенность, патогенез, диагностика и лечение. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2012;4(4):84-88. Parfenov VA. Poststroke depression: prevalence, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2012;4(4):84-88. (In Russ.). <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2012-428>
2. *Психиатрия*. Национальное руководство. Под ред. Александровского Ю.А., Незнанова Н.Г. 2018. *Psychiatry*. National guideline. Alexandrovsky Yu.A., Neznanov NG, eds. 2018. (In Russ.).
3. Chemer N, Bilanovsky V. Cerebrolysin as a New Treatment Option for Post-Stroke Spasticity: Patient and Physician Perspectives. *Neurol Ther*. 2019;8(1):25-27. Epub 2019 Feb 18. PMID:30778859. <https://doi.org/10.1007/s40120-019-0128-1>
4. Рохлина М.Л., Козлов А.А., Усманова Н.Н., Смирнова Е.А. Применение церебролизина при героиновой наркомании. *Психиатрия и психотерапия*. 2001;3:98-102. Rokhlina ML, Kozlov AA, Usmanova NN, Smirnova EA. The use of cerebrolysin in heroin addiction. *Psichiatrija i Psihofarmakoterapija*. 2001;3:98-102. (In Russ.).
5. Громова О.А., Торшин И.Ю., Згода В.Г., Тихонова О.В. Комплексный протеомный анализ «легкой» пептидной фракции препарата Церебролизин. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(8):75-83. Gromova OA, Torshin IYu, Zgoda VG, Tikhonova OV. Complex proteomic analysis of the «light» peptide fraction of the drug Cerebrolysin. *Zhurnal Nevrologii i Psichiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019;119(8):75-83. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro201911908175>
6. UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(1):506-515. PMID:30395287. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>
7. Torshin IYu. *Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine*. Ed. Gromova O.A. Nova Biomedical Books. In: Bioinformatics in the Post-Genomic Era. NY, USA. 2009.
8. Torshin IYu. *Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine*. NY, USA. Nova Biomedical Books. 2007.
9. Шимановский Н.Л., Гуревич К.Г. Биохимическая фармакология опиоидных рецепторов. *Нейрохимия*. 2000;17(4):259-266. Shimanovsky NL, Gurevich KG. Biochemical pharmacology of opioid receptors. *Nevrohimija*. 2000;17(4):259-266. (In Russ.).
10. Sanguinetti AR, Mastick CC. c-Abl is required for oxidative stress-induced phosphorylation of caveolin-1 on tyrosine 14. *Cell Signal*. 2003;15(3):289-298. PMID:12531427.
11. Dudek SM, Chiang ET, Camp SM, Guo Y, Zhao J, Brown ME, Singleton PA, Wang L, Desai A, Arce FT, Lal R, Van Eyk JE, Imam SZ, Garcia JG. Abl tyrosine kinase phosphorylates nonmuscle Myosin light chain kinase to regulate endothelial barrier function. *Mol Biol Cell*. 2010;21(22):4042-4056. Epub 2010 Sep 22. PMID: 20861316. <https://doi.org/10.1091/mbc.E09-10-0876>
12. Jeong J, Park YU, Kim DK, Lee S, Kwak Y, Lee SA, Lee H, Suh YH, Gho YS, Hwang D, Park SK. Cdk5 phosphorylates dopamine D2 receptor and attenuates downstream signaling. *PLoS One*. 2013;8(12):e84482. eCollection 2013. PMID: 24391960. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084482>
13. Munoz JP, Huichalaf CH, Orellana D, Maccioni RB. cdk5 modulates beta- and delta-catenin/Pin1 interactions in neuronal cells. *J Cell Biochem*. 2007;100(3):738-749. PMID: 17009320. <https://doi.org/10.1002/jcb.21041>
14. Likhite N, Jackson CA, Liang MS, Krzyzanowski MC, Lei P, Wood JF, Birkaya B, Michaels KL, Andreadis ST, Clark SD, Yu MC, Ferkey DM. The protein arginine methyltransferase PRMT5 promotes D2-like dopamine receptor signaling. *Sci Signal*. 2015;8(402):115. PMID: 26554819. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aad0872>
15. Skoubis PD, Lam HA, Shoblock J, Narayanan S, Maidment NT. Endogenous enkephalins, not endorphins, modulate basal hedonic state in mice. *Eur J Neurosci*. 2005;21(5):1379-1384. PMID: 15813947. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.03956.x>
16. Berrocoso E, Sanchez-Blazquez P, Garzon J, Mico JA. Opiates as antidepressants. *Curr Pharm Des*. 2009;15(14):1612-1622. PMID: 19442177. <https://doi.org/10.2174/138161209788168100>
17. Liu XY, Liu ZC, Sun YG, Ross M, Kim S, Tsai FF, Li QF, Jeffry J, Kim JY, Loh HH, Chen ZF. Unidirectional cross-activation of GRPR by MOR1D uncouples itch and analgesia induced by opioids. *Cell*. 2011;147(2):447-458. PMID: 22000021. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.043>
18. Colaiani L, Kung SC, Taggart DK, Picca RA, Greaves J, Penner RM, Cioffi N. Reduction of spectral interferences using ultraclean gold nanowire arrays in the LDI-MS analysis of a model peptide. *Anal Bioanal Chem*. 2014;406(19):4571-4583. Epub 2014 Jul 1. PMID: 24980599. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7876-7>
19. Torregrossa MM, Jutkiewicz EM, Mosberg HI, Balboni G, Watson SJ, Woods JH. Peptidic delta opioid receptor agonists produce antidepressant-like effects in the forced swim test and regulate BDNF mRNA expression in rats. *Brain Res*. 2006;1069(1):172-181. Epub 2005 Dec 20. PMID: 16364263. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.11.005>
20. Leung KM, Hui PK, Chan WY, Thomas TM. Helicobacter pylori-related gastritis and gastric ulcer. A continuum of progressive epithelial degeneration. *Am J Clin Pathol*. 1992;98(6):569-574. PMID: 1462954. <https://doi.org/10.1093/ajcp/98.6.569>

21. Zagon IS, Donahue RN, Rogosnitzky M, McLaughlin PJ. Imiquimod up-regulates the opioid growth factor receptor to inhibit cell proliferation independent of immune function. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(8):968-979. Epub 2008 May 14. PMID: 18480416. <https://doi.org/10.3181/0802-RM-58>
22. Raynor K, Kong H, Chen Y, Yasuda K, Yu L, Bell GI, Reisine T. Pharmacological characterization of the cloned kappa-, delta-, and mu-opioid receptors. *Mol Pharmacol*. 1994;45(2):330-334. PMID: 8114680.
23. Dripps IJ, Jutkiewicz EM. Delta Opioid Receptors and Modulation of Mood and Emotion. *Handb Exp Pharmacol*. 2018;247:179-197. PMID: 28993835. https://doi.org/10.1007/164_2017_42
24. Genazzani AR, Nappi G, Facchinetti F, Mazzella GL, Parrini D, Sinforiani E, Petraglia F, Savoldi F. Central deficiency of beta-endorphin in alcohol addicts. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;55:3:583-586.
25. Thanawala V, Kadam VJ, Ghosh R. Enkephalinase inhibitors: potential agents for the management of pain. *Curr Drug Targets*. 2008;9(10):887-894. PMID: 18855623.
26. Henry MS, Gendron L, Tremblay ME, Drolet G. Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience. *Neural Plast*. 2017;1546125. Epub 2017 Jul 11. PMID: 28781901. <https://doi.org/10.1155/2017/1546125>
27. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. *Стресс-лимитирующие системы организма. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам*. М.: Медицина; 1988.
Meyerson FZ, Pshennikova MG. *Stress-limiting body systems. Adaptation to stressful situations and physical activity*. М.: Medicina; 1988. (In Russ.).
28. Toubia T, Khalife T. The Endogenous Opioid System: Role and Dysfunction Caused by Opioid Therapy. *Clin Obstet Gynecol*. 2019;62(1):3-10. PMID: 30398979. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000409>
29. Hegadoren KM, O'Donnell T, Lanius R, Coupland NJ, Lacaze-Masmon-Teil N. The role of beta-endorphin in the pathophysiology of major depression. *Neuropeptides*. 2009;43(5):341-353.
30. Mørck Nielsen H, Romer Rassing M. TR146 cells grown on filters as a model of human buccal epithelium: V. Enzyme activity of the TR146 cell culture model, human buccal epithelium and porcine buccal epithelium, and permeability of leu-enkephalin. *Int J Pharm*. 2000 May 10;200(2):261-70. PubMed PMID: 10867256.
31. Motel WC, Coop A, Cunningham CW. Cholinergic modulation by opioid receptor ligands: potential application to Alzheimer's disease. *Mini Rev Med Chem*. 2013;13(3):456-466. Review. PubMed PMID: 22931533; PubMed Central PMCID: PMC3816933.
32. Li CH, Chung D. Isolation and structure of an untriakontapeptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1976;73(4):1145-1148. PMID: 1063395. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.4.1145>
33. Lazarus LH, Ling N, Guillemin R. beta-Lipotropin as a prohormone for the morphinomimetic peptides endorphins and enkephalins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1976;73(6):2156-2159. PMID: 1064883. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.6.2156>
34. Левин Я.И. Нейрохимическая медицина. Часть II. Клинические модели патологии церебральных дофаминергических систем. *Современная терапия психических расстройств*. 2008;2:4-9.
Levin YaI. Neurochemical medicine. Part II. Clinical models of the pathology of cerebral dopaminergic systems. *Sovremennaja Terapija Psichicheskikh Rasstrojstv*. 2008;2:4-9. (In Russ.).
35. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III — the final common pathway. *Schizophr Bull*. 2009;35(3):549-562. PMID: 19325164. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp006>
36. Diehl DJ, Gershon S. The role of dopamine in mood disorders. *Compr Psychiatry*. 1992;33(2):115-120. PMID: 1347497.
37. Karuppagounder SS, Brahmachari S, Lee Y, Dawson VL, Dawson TM, Ko HS. The c-Abl inhibitor, nilotinib, protects dopaminergic neurons in a preclinical animal model of Parkinson's disease. *Sci Rep*. 2014;4:4874. PMID: 24786396. <https://doi.org/10.1038/srep04874>
38. Price DA, Sorkin A, Zahniser NR. Cyclin-dependent kinase 5 inhibitors: inhibition of dopamine transporter activity. *Mol Pharmacol*. 2009;76(4):812-823. Epub 2009 Jul 23. PMID: 19628755. <https://doi.org/10.1124/mol.109.056978>

Поступила 23.10.19

Received 23.10.19

Принята к печати 19.11.19

Accepted 19.11.19