

## Геропротективные свойства нейропротективных и нейротрофических пептидов

Громова О.А.<sup>1,2</sup>, Торшин И.Ю.<sup>1,2</sup>, Згода В.Г.<sup>3</sup>, Сорокин А.И.<sup>2</sup>, Тихонова О.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Центр хранения и анализа больших данных ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия; <sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии

им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия

<sup>1</sup>119333, Москва, ул. Вавилова, 44, корп. 2; <sup>2</sup>119234, Москва, Ленинские горы, 1;

<sup>3</sup>119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8

**Цель исследования** – выяснение наличия в составе церебролизина пептидных фрагментов, способствующих геропротекции.

**Материал и методы.** Проведен комплексный масс-спектрометрический анализ пептидного состава церебролизина с последующей системно-биологической оценкой.

**Результаты и обсуждение.** В мультипептидном составе церебролизина выделены 36 пептидов, которые могут проявлять геропротективные свойства. Эти пептиды включают пептиды – миметики адреномедулина и энкефалинов, пептиды – ингибиторы семи таргетных белков человека (протеинкиназы MAPK1, VPRBP и PKC, гамма-секретазы PS1, киназы CDK1, SGK1 и mTOR).

Показано, что установленные пептиды церебролизина могут являться конкурентными ингибиторами семи таргетных белков. В частности, ингибирование PKC и mTOR стимулирует усиление аутофагии (процесса утилизации отработанных и абнормальных белков), что способствует увеличению продолжительности жизни клеток и модельных организмов.

**Заключение.** Церебролизин может проявлять геропротективные эффекты посредством ингибирования семи таргетных белков, активации эндорфинергической нейротрансмиссии и снижения повышенного артериального давления.

**Ключевые слова:** геропротекция; нейропротекторы; церебролизин; большие данные; фармакоинформатика; кином человека.

**Контакты:** Ольга Алексеевна Громова; [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**Для ссылки:** Громова ОА, Торшин ИЮ, Згода ВГ и др. Геропротективные свойства нейропротективных и нейротрофических пептидов. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2020;12(1):61–67.

### *Geroprotective properties of neuroprotective and neurotrophic peptides*

Gromova O.A.<sup>1,2</sup>, Torshin I.Yu.<sup>1,2</sup>, Zgoda V.G.<sup>3</sup>, Sorokin A.I.<sup>2</sup>, Tikhonova O.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center «Informatics and Management», Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Big Data Storage and Analysis Center, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; <sup>3</sup>V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

<sup>1</sup>44, Vavilov St., Build. 2, Moscow 119333; <sup>2</sup>1, Leninskie Gory, Moscow 119234; <sup>3</sup>10, Pogodinskaya St., Build. 8, Moscow 119121

**Objective:** to elucidate whether cerebrolysin contains peptide fragments that promote geroprotection.

**Material and methods.** The peptide composition of cerebrolysin underwent a comprehensive mass spectrometric analysis, followed by a systemic biological assessment.

**Results and discussion.** Thirty-six peptides with geroprotective properties were isolated in the multi-peptide composition of cerebrolysin. These peptides included those of mimetics of adrenomedullin and enkephalins; those of inhibitors of seven targeted human proteins (the protein kinases MAPK1, VPRBP, and PKC, the gamma-secretase PS1, the kinases CDK1, SGK1 and mTOR).

The established cerebrolysin peptides were shown to be competitive inhibitors of the seven targeted proteins. In particular, inhibition of PKC and mTOR stimulated the increased autophagy (the utilization of waste and abnormal proteins), which contributes to an increase in the survival of cells and model organisms.

**Conclusion.** Cerebrolysin can have geroprotective effects, by inhibiting the seven targeted proteins, by activating endorphinergic neurotransmission, and reducing high blood pressure.

**Keywords:** geroprotection; neuroprotectors; cerebrolysin; big data; pharmacoinformatics; human kinome.

**Contact:** Olga Alekseevna Gromova; [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**For reference:** Gromova OA, Torshin IYu, Zgoda VG, et al. Geroprotective properties of neuroprotective and neurotrophic peptides. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2020;12(1):61–67.

**DOI:** 10.14412/2074-2711-2020-1-61-67

Под геропротекцией понимают увеличение продолжительности и качества жизни пациентов пожилого возраста посредством нормализации режима питания и двигательной активности, исключения вредных привычек, а также рационального выбора фармакологических препаратов.

Снижение когнитивных способностей, памяти, работоспособности является одним из ранних признаков старения.

У пожилых пациентов выбор нейропротективных препаратов должен проводиться с учетом их мультитаргетности, наличия побочных эффектов и собственно геропротекции [1].

Во-первых, следует назначать препараты с максимальным числом разнообразных положительных эффектов (мультитаргетность, или плейотропность, действия), что позволит избежать полипрагмазии. Во-вторых, назначаемые препараты должны характеризоваться минимальным спектром побочных эффектов. В-третьих, они действительно должны способствовать увеличению продолжительности жизни.

Информация о геропротективных эффектах имеется для единичных лекарственных средств (например, для метформина [2]). Данные о более полном наборе положительных эффектов того или иного препарата рассредоточены по большому числу специализированных научных публикаций.

Мультипептидный препарат церебролизин наиболее часто применяется у пациентов зрелого и пожилого возраста. Клинический опыт показывает, что у пациентов, перенесших ишемический инсульт [3, 4], черепно-мозговую травму [5], страдающих болезнью Альцгеймера [6], церебролизин оказывает плейотропное действие [7]. Помимо нейропротективных свойств, церебролизин проявляет нейротрофические (активная регенерация нервной ткани), нормотимические (улучшение настроения и качества сна, уменьшение риска постинсультной депрессии [8]), снижающие химическую зависимость [9] и артериальное давление (АД) эффекты и др. Эти свойства церебролизина вносят важный вклад в геропротекцию.

**Цель** настоящей работы — системно-биологический анализ многокомпонентного пептидного состава церебролизина для определения молекулярных механизмов, посредством которых осуществляется геропротективное действие препарата.

**Материал и методы.** Геропротективные эффекты церебролизина обусловлены входящими в его состав пептидами. Пептидные компоненты церебролизина определяли с помощью анализа выборки больших масс-спектрометрических (МС) протеомных данных о составе препарата, полученных нами ранее [10]. Применение гибридной МС в 10 параллельных экспериментах с последующим использованием математических методов *de novo* МС-секвенирования позволило выявить в составе легкой пептидной фракции церебролизина (до 1500 Да) аминокислотные последовательности 14 635 пептидов, соответствующих 1643 нейрональным белкам протеома свиньи [10, 11]. Системно-биологическая оценка эффектов этих пептидов проводилась на основании анализа 23 334 аннотаций пептидов, экстрагированных из базы данных UNIPROT [12]. Для этого применяли метод анализа функциональных взаимосвязей [13], который позволил выделить потенциальные целевые белки, модулирование активности которых будет иметь геропротективный эффект.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью  $\chi^2$ -критерия, t-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни и теста Стьюдента; кластерный анализ полученных данных — методом поиска метрических сгущений [14–17].

**Результаты.** Применение метода анализа функциональных взаимосвязей к собранной выборке протеомных данных о пептидном составе церебролизина позволило выделить 116 пептидов, которые могут проявлять геропротективный эффект. Анализ частоты этих пептидов в исследованных выборках протеомных данных позволил установить репрезентативное множество из 36 пептидов церебролизина, каждый из которых встречался не менее 2 раз при анали-

зе 10 выборок протеомных данных (табл. 1). Эти пептиды специфически ингибируют семь целевых белков человека (табл. 2), оказывают эндорфинергическое и вазодилаторное действие.

Представленные в табл. 1 данные указывают на наличие в составе церебролизина значительных количеств *энкефалин-подобных пептидов*, которые поддерживают эндорфинергическую систему ЦНС, что способствует увеличению продолжительности жизни за счет нейротрофических и нормотимических эффектов. Кроме того, церебролизин содержит пептиды, ингибирующие специфические целевые белки: протеинкиназу 1, активируемую митогеном (MAPK1), протеинкиназу С (PKC), циклинзависимую киназу 1 (CDK1), протеинкиназу VPRBP, киназу SGK1, mTOR и гамма-секретазу пресенилин 1 (PS1). Данные целевые белки характеризуются широким спектром физиологического действия, включая регуляцию клеточного деления, апоптоза, миграции, выживания и дифференцировки клеток, иммунного ответа и аутофагии (см. табл. 2).

**Обсуждение.** Изучение полученных результатов проводилось в трех направлениях: 1) наличие в составе церебролизина определенных пептидов; 2) взаимодействие этих пептидов с соответствующими целевыми белками и 3) взаимосвязь биологической активности рассмотренных целевых белков и геропротекции. Эти три аспекта рассмотрены по отношению к каждому из целевых белков, перечисленных в табл. 2.

**Пептиды церебролизина, проявляющие геропротективные эффекты через модуляцию активности киназы человека.** В составе церебролизина были найдены пептиды, которые могут являться специфическими конкурентными ингибиторами по меньшей мере семи целевых белков, ингибирование которых соответствует геропротективному эффекту (гамма-секретазы PS1 и киназы MAPK1, PKC, CDK1, VPRBP, SGK1 и mTOR). Напомним, что ингибирование специфических киназ (т. е. ферментов, осуществляющих перенос фосфатной группы на те или иные белки) — современное направление поиска новых лекарств [18]. Имеющиеся биохимические данные позволяют утверждать, что пептиды церебролизина осуществляют именно конкурентное ингибирование этих ферментов, подразумевающее прямое взаимодействие пептидов с активными центрами белков.

Аутофагия — своего рода «уборка в клетке», т. е. процесс утилизации отработанных (абнормальных) белков, способствующий геропротекции. Снижение аутофагии связано с уменьшением продолжительности жизни клеток и модельных организмов [19]. *Киназа mTOR* (известная также как «FK506-связывающий белок» и «целевой белок рапамицина») — центральный регулятор метаболизма, деления и выживания клеток в ответ на действие хронического стресса, гормонов, факторов роста, избытка углеводов и др. [20]. Киназа mTOR регулирует не только аутофагию, но и митохондриальный биогенез и синтез липидов (через белки SREBF1 и LPIN1).

Пептиды церебролизина PGGTFF и PGNTLF соответствуют фрагменту 38–43 PGGTLF фактора инициации трансляции 4E EIF4EBP2, в котором киназа mTOR фосфорилирует остаток треонин-37, расположенный непосредственно перед фрагментом 38–43 [21]. Соответственно, указанные пептиды церебролизина будут ингибировать киназу mTOR (рис. 1, а). Ингибирование mTOR пептидами цереб-

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Таблица 1. Пептиды церебролизина с потенциальным геропротективным действием

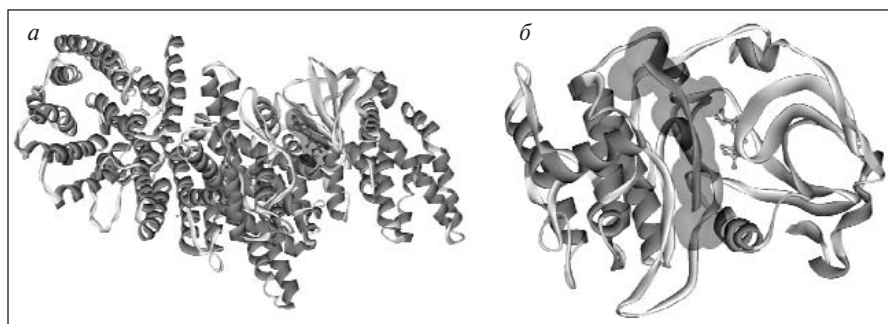
| С  | Пептид  | Ген      | Белок                                      | Пептид белка | Таргет        | Участок белка                  |
|----|---------|----------|--|--------------|---------------|--------------------------------|
| 2  | VQTLAH  | ADM      | Адреномедуллин                             | VQKLAH       | ADM-рецептор  | 117–122 адреномедуллин         |
| 3  | DLASEF  | ADM      | Адреномедуллин                             | DVASEF       | ADM-рецептор  | 25–30 пробелок                 |
| 2  | LDVASE  | ADM      | Адреномедуллин                             | LDVASE       | ADM-рецептор  | 25–30 пробелок                 |
| 8  | DLLLTP  | ARHGEF2  | Rho-фактор обмена гуаниновых нуклеотидов 2 | ELLLTP       | MAPK1/3       | 675–680, 679 фосфотреонин      |
| 7  | LLLTPK  | ARHGEF2  | Rho-фактор обмена гуаниновых нуклеотидов 2 | LLLTPR       | MAPK1/3       | 676–681, 679 фосфотреонин      |
| 4  | NLDTGQ  | ATAD2B   | AAA-доменсодержащий белок 2B               | NLSTGQ       | PKC           | 116–121, 121 фосфосерин        |
| 3  | LGFSK   | ATF6     | ЦАМФ-зависимый фактор транскрипции ATF-6   | LGFSAK       | PS1           | 419–424, 419–420 протеолиз     |
| 2  | LGFSGK  | ATF6     | ЦАМФ-зависимый фактор транскрипции ATF-6   | LGFSAK       | PS1           | 419–424, 419–420 протеолиз     |
| 6  | LDFSFP  | BTBD8    | ВТВ/POZ-содержащий белок 8                 | LDISFP       | MAPK1/3       | 147–152, 147 фосфосерин        |
| 5  | RPVTPR  | CASP9    | Каспаза 9                                  | RPETPR       | MAPK1         | 122–127, 125 фосфотреонин      |
| 5  | RLLFSK  | CDKN1A   | Ингибитор циклинзависимой киназы 1         | RLIFSK       | PKC           | 156–161, 160 фосфосерин        |
| 4  | FPPFPL  | DAPK1    | Протеинкиназа DAPK1                        | FPPSPL       | MAPK1         | 731–736, 734 фосфосерин        |
| 3  | GGAGGL  | DES      | Десмин                                     | GGAGGL       | AURKB         | 61–66, 60 фосфосерин           |
| 9  | GNPLSS  | DES      | Десмин                                     | GSPLSS       | CDK1          | 27–32, 28 фосфосерин           |
| 4  | SPLPSPV | DES      | Десмин                                     | SPLSSPV      | CDK1          | 28–34, 28 фосфосерин           |
| 3  | PLGAPL  | DES      | Десмин                                     | PLGSPL       | CDK1          | 25–30, 28 фосфосерин           |
| 3  | SPLASP  | DES      | Десмин                                     | SPLSSP       | CDK1          | 28–33, 28 фосфосерин           |
| 5  | PGGTFF  | EIF4EBP2 | Фактор инициации трансляции 4E             | PGGTLF       | mTOR          | 38–43, 37 фосфотреонин         |
| 3  | PGNTLF  | EIF4EBP2 | Фактор инициации трансляции 4E             | PGGTLF       | mTOR          | 38–43, 37 фосфотреонин         |
| 10 | FFRR    | GRIA2    | Глутаматный рецептор 2                     | FFRR         | PKC           | 679–682, 683 фосфосерин        |
| 2  | LTVAPK  | GSG2     | Протеинкиназа хаспин                       | LTVTPK       | AURKB         | 94–99, 93 фосфосерин           |
| 4  | VLLPKK  | H2AFJ    | Гистон H2A.J                               | VLLPKK       | VPRBP         | 115–120, 121 фосфотреонин      |
| 2  | LVGKDG  | KCNJ1    | Выпрямительный калиевый канал 1            | LVSVDG       | SGK1          | 42–47, 44 фосфосерин           |
| 5  | LSSLHK  | MCTS1    | Белок MCTS1                                | LRLHKK       | MAPK1/3       | 82–87, 81 фосфотреонин         |
| 2  | TLFGNK  | MDH1B    | Малатдегидрогеназа 1B                      | TLFDNK       | SGK1          | 166–171, 166 фосфосерин        |
| 5  | YGGFLPR | PENK     | Проэнкефалин                               | YGGFLKR      | Лей-энкефалин | 230–236, 230–234 лей-энкефалин |
| 5  | YGGFMK  | PENK     | Проэнкефалин                               | YGGFMR       | Мет-энкефалин | 186–191, 186–193 мет-энкефалин |
| 5  | KDLLQL  | PENK     | Проэнкефалин                               | KELLQL       | Син-энкефалин | 66–71, 25–97 син-энкефалин     |
| 4  | RPFLLR  | PLSCR2   | Фосфолипидная скрамблаза 2                 | RPFTLR       | PKC           | 146–151, 149 фосфотреонин      |
| 6  | SHLG-HR | PSEN1    | Пресенилин 1                               | SHLGPHR      | PKC           | 346–352, 346 фосфосерин        |
| 5  | TPLFLP  | RSPH3    | Белок RSPH3                                | TPLFIP       | MAPK1         | 286–291, 286 фосфотреонин      |
| 2  | LLQLLG  | SLC2A4   | Транспортер глюкозы SLC2A4                 | LLQLLG       | SGK1          | 275–280, 274 фосфосерин        |
| 10 | LLLSPR  | STMN1    | Статмин                                    | LILSPR       | CDK1, MAPK1/3 | 22–27, 25 фосфосерин           |

| С | Пептид  | Ген          | Белок   | Пептид белка | Таргет        | Участок белка        |
|---|---------|--------------|---------|--------------|---------------|----------------------|
| 8 | PEFPLS  | <i>STMN1</i> | Статмин | PEFPLS       | CDK1, MAPK1/3 | 33–38, 38 фосфосерин |
| 6 | FPLSPPK | <i>STMN1</i> | Статмин | FPLSPPK      | CDK1, MAPK1/3 | 35–41, 38 фосфосерин |
| 5 | EFPLSP  | <i>STMN1</i> | Статмин | EFPLSP       | CDK1, MAPK1/3 | 34–39, 38 фосфосерин |

**Примечание.** С – полуколичественная оценка 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.

Таблица 2. Таргетные белки, специфическое ингибирование которых пептидами церебролизина способствует геропротекции

| Ген          | Белок                              | Функция   |
|--------------|------------------------------------|---|
| <i>CDK1</i>  | Киназа CDK1 <sup>□</sup>           | Активатор митотической фазы деления клеток  |
| <i>DCAF1</i> | Ург-взаимодействующий белок-киназа | Опосредует протеасома-зависимую деградацию метилированных белков и апоптоз                        |
| <i>MAPK1</i> | Киназа MAPK1                       | Опосредует рост, адгезию, выживание и дифференцировку клеток                                      |
| <i>MTOR</i>  | Киназа mTOR                        | Центральный регулятор метаболизма, деления и выживания клеток, аутофагии                          |
| <i>PRKCE</i> | Киназа PRKCE                       | Регуляция клеточной адгезии, подвижности, миграции и деления клеток, иммунного ответа и аутофагии |
| <i>PSEN1</i> | Гамма-секретеза PS1                | Способствует вызреванию Notch-рецептора и бета-амилоидного белка                                  |
| <i>SGK1</i>  | Киназа SGK1                        | Регуляция роста, выживания, миграции, апоптоза клеток и реакции на стресс                         |



**Рис. 1.** Пространственные структуры таргетных белков, ингибирование которых пептидами церебролизина способствует поддержанию аутофагии. Показаны области связывания пептидов церебролизина в структурах белков (выделено синим): а – mTOR (ген *MTOR*), модель на основе PDB-файла 4JSP; б – киназа PRKCE (ген *PRKCE*, модель на основе PDB-файлов 2WH0, 5LIH)<sup>1</sup>

ролизина важно, потому что активность киназы mTOR, которая фосфорилирует и снижает активность белков ULK1 и DAP, уменьшает аутофагию [22]. Таким образом, ингибирование mTOR способствует увеличению продолжительности жизни как отдельных клеток, так и организма в целом [23] благодаря усилению аутофагии. В случае нейронов повышение аутофагии соответствует усилению утилизации абнормальных белков, которые стимулируют развитие нейродегенерации (бета-амилоид, тау-белок и др.).

Биологические функции PKC, в частности киназы PRKCE, достаточно обширны: регуляция клеточной адгезии, подвижности, миграции и деления клеток, роста ней-

ронов, снижение реакции рецепторов гамма-аминомасляной кислоты на этанол и бензодиазепины, передачи провоспалительных сигналов от толл-рецептора TLR4 [24] (ингибирование TLR4 ослабляет индуцированное старением ремоделирование миокарда и сохраняет сократительную дисфункцию миокарда благодаря поддержке аутофагии) [25]. PKC также необходима для передачи сигналов от рецептора ангиотензина 2 [26] и ингибирования старения паренхимы почек [27].

В составе церебролизина найдено пять пептидов (NLDTGQ, RLLFSK, FFRR, RPFLLR и SHLGHR), являющихся потенциальными ингибиторами PKC (рис. 1, б). Пептид FFRR был идентифицирован в 10 из 10 проведенных протеомных экспериментов, идентичен фрагменту 679–682 FFRR глутаматного рецептора GRIA2. Ингибиторами PKC также являются пептид RPFLLR (соответствующий фрагменту 146–151 RPFTLR белка PLSCR2, в котором фосфорилируется треонин-149, отсутствующий в пептиде RPFLLR) и пептид SHLGHR, соответствующий фрагменту 346–352 SHLGPHR гамма-секретезы PS1 [28]. Ингибирование PKC пептидами церебролизина способствует реализации известных кардио-, нефро- и нейропротективных эффектов препарата [29, 30].

<sup>1</sup>Цветные рисунки к этой статье представлены на сайте журнала: nnp.ima-press.net

## Киназы – регуляторы апоптоза и деления клеток.

CDK1 необходима для активации деления клеток. При повреждении ДНК CDK1 инактивируется белком EIF2AK2 для остановки цикла деления клетки и активации механизмов репарации ДНК [31]. Ингибирование CDK1 тормозит апоптоз нейронов, вызванный ишемией вследствие дефицита глюкозы и кислорода в эксперименте [32]. Ограничение избыточного потребления глюкозы приводит к кратковременной остановке клеточного цикла посредством ингибирования CDK1, что продлевает жизнь клеток [33]. В составе церебролизина найдено не менее восьми пептидов, которые могут ингибировать CDK1 (GNPLSS, SPLPSPV, PLGAPL, SPLASP, LLLSPR, PEFPLS, FPLSPPK, EFPLSP; рис. 2, а). Ингибирование CDK1 перечисленными выше пептидами церебролизина важно для пациентов с неврологическими заболеваниями, страдающих сахарным диабетом, метаболическим синдромом, инсулинрезистентностью. Отметим, что пептиды LLLSPR, PEFPLS, FPLSPPK и EFPLSP могут также ингибировать и MAPK1.

MAPK1 опосредует рост, адгезию, выживание и дифференцировку клеток, модулируя активность белков-регуляторов апоптоза (BAD, CASP9, DAPK1, IER3, MCL1, PPARG и др.) [34]. Избыток активных форм кислорода стимулирует сигнальный путь NF-κB и сигнальный путь MAPK, что вызывает увеличение концентрации фактора некроза опухолей и экспрессию металлопротеиназ, вызывающих деградацию соединительной ткани различных органов. Поэтому ингибирование киназы MAPK1 вносит определенный вклад в геропroteкцию.

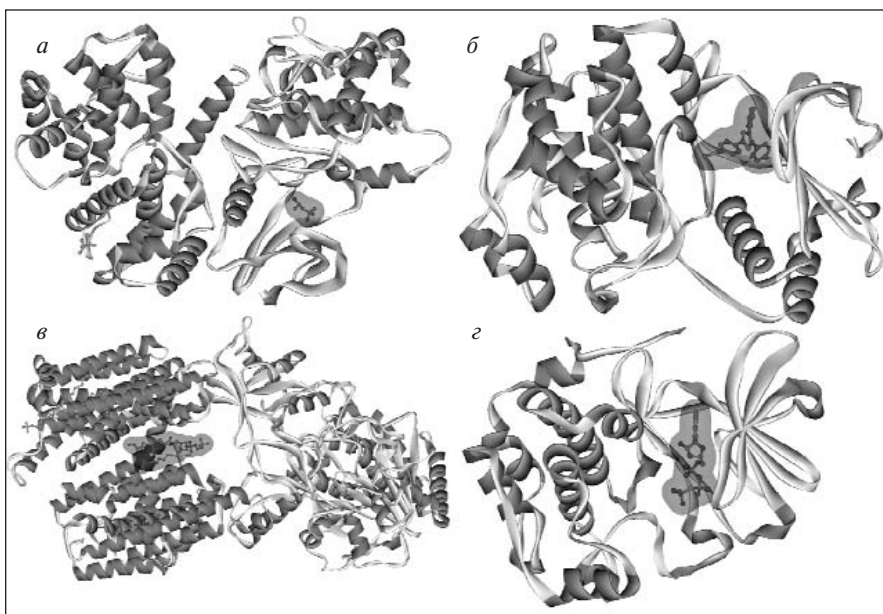
В составе церебролизина найдено не менее семи пептидов – ингибиторов MAPK1 (FPPFPL, LSLLHK, RPVTPR, TPLFLP, DLLLTP, LLLTPK, LDFSFP и др.). В частности, пептид церебролизина FPPFPL соответствует фрагменту 731–736 FPPSPL белка DAPK1, в котором MAPK1 фосфорилирует остаток серин-734 [35]. В пептиде FPPFPL серин отсутствует, поэтому этот пептид – весьма вероятный ингибитор MAPK. Другой пример – пептид LSLLHK, соответствующий фрагменту 82–87 LRLLNK белка MCTS1. Известно, что MAPK1 фосфорилирует треонин-81 в белке MCTS1, так что мутация 81 T->A приводит к потере фосфорилирования [36]. В соответствующей позиции пептида церебролизина LSLLHK треонин отсутствует, поэтому пептид LSLLHK – конкурентный ингибитор MAPK1 (рис. 2, б).

Гамма-секретеза PS1 (ген *PSEN1*) способствует вызреванию Notch-рецептора [37]. Гамма-секретеза расщепляет белок CDH1, тем самым негативно регулируя передачу сигналов каскада Wnt, который важен для выживания различных типов клеток, в том числе нейронов [38]. Ингибирование гамма-секретезы будет уменьшать активность Notch-рецептора, что приводит к снижению

уровня бета-амилоида в модели болезни Альцгеймера у мышей [39]. Пептиды церебролизина LGFSSK и LGFSGK, имитируя пептидный субстрат гамма-секретезы LGFSAK (фрагмент 419–424 белка ATF6) [40], могут специфически связываться с активным центром гамма-секретезы, ингибируя фермент (рис. 2, в).

Протеинкиназа SGK1 (рис. 2, г) осуществляет регуляцию роста, выживания, миграции, апоптоза клеток. SGK1 способствует удержанию натрия в почках и элиминации калия из почек, реализуя зависимость АД от потребления соли. Киназа SGK1 регулирует активность сигнальных белков GSK3A/B, PMM2 и CTNNB1 и NF-κB. Высокая активность SGK1 способствует развитию артериальной гипертензии и диабетической нефропатии [41]. Пептид церебролизина LVGKDG соответствует фрагменту 42–47 LVSKDG белка KCNJ1, в котором SGK1 фосфорилирует серин-44. Поскольку серин отсутствует в пептиде LVGKDG, данный пептид может являться специфическим ингибитором SGK1 [42]. Аналогично ингибиторами SGK1 будут и пептиды TLFGNK и LLQLLG.

Вр-взаимодействующий белок киназа (VPRBP, DCAF1) обладает свойствами субстрат-распознающего компонента ферментного комплекса убиквитин-лигазы E3, опосредующей протеасома-зависимый протеолиз метилированных белков [43]. Пептид церебролизина VLLPKK, идентичный фрагменту 115–120 VLLPKK гистона H2A.J, является потенциальным ингибитором VPRBP (так как в этом пептиде отсутствует треонин, соответствующий треонину-121



**Рис. 2.** Пространственные структуры целевых белков, ингибирование которых пептидами церебролизина важно для предотвращения избыточного апоптоза и поддержки деления клеток. Показаны области связывания пептидов церебролизина в структурах белков (выделено синим): а – CDK1 (модель на основе PDB-файла 4YC3); б – MAPK1 (PDB- файл 1PME); в – гамма-секретеза PS1 (*PSEN1*, PDB-файл 5A63); г – протеинкиназа SGK1 (PDB-файл 2R5T)

гистона H2A.J). Ингибирование VPRBP важно для геропroteкции, поскольку эта киназа участвует в JNK-опосредованном апоптозе нейронов и других типов клеток [44].

**Энкефалин-подобные и аденомедуллин-подобные пептиды церебролизина.** Лей-энкефалин (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, YGGFL) и мет-энкефалин (Tyr-gly-gly-phe-met, YGGFM) – эндогенные нейротрансмиттеры, активирующие опиоидные рецепторы и участвующие в поддержании положительного настроения и адекватной реакции на стресс. Поддержание эндорфинергической нейротрансмиссии – важное направление в профилактике старения мозга.

В наших предыдущих работах [7, 10, 11] было показано, что в состав церебролизина входит более 40 пептидных фрагментов проэнкефалинов А/В (гены *PENK*, *PDYN*) и проопиомеланокортина (ген *POMC*). Пептид церебролизина YGGFLPR (найден в 5 из 10 протеомных экспериментов) является аналогом эндогенного лей-энкефалина, а пептид YGGFMK (также 5 из 10 экспериментов) – аналогом эндогенного мет-энкефалина (см. табл. 1). Кроме того, в 9 из 10 протеомных экспериментов с церебролизинном был выявлен пептидный фрагмент GGFLPR проэнкефалина, который представляет собой частичный аналог обоих энкефалинов.

Поддержание эндорфинергической нейротрансмиссии посредством пептидов церебролизина стимулирует различные процессы, прямо или косвенно способствующие геропротекции (включая анальгезию, синтез BDNF, противовирусный и противоопухолевый эффекты), устранению нарушений дофаминергической и ацетилхолиновой нейротрансмиссии [7]. К геропротективным эффектам энкефалинов относятся также ингибирование продукции активных форм кислорода в результате активации сигнального каскада выживания клеток Wnt/ $\beta$ -катенин, повышение активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксида-

зы. Очевидно, что эти эффекты пептидов церебролизина способствуют прежде всего повышению качества и продолжительности и жизни нервной ткани.

В составе церебролизина были найдены пептиды, проявляющие противовоспалительное действие [10, 11, 29], важное для геропротекции. У пожилых пациентов, страдающих хронической ишемией мозга, старение когнитивной сферы происходит значительно быстрее на фоне повышенного уровня провоспалительных факторов (белков СРБ, МРС1 и др.) [45]. Препараты, характеризующиеся максимальным числом положительных и минимальным числом побочных эффектов, а также способностью увеличивать продолжительность жизни, являются наиболее предпочтительными для пожилых пациентов [46, 47].

**Заключение.** В настоящей работе в пептидном составе церебролизина были выделены 36 фрагментов пептидов, участвующих в геропротекции. Они включают пептиды – миметики аденомедуллина и энкефалинов, пептиды – ингибиторы семи таргетных белков человека: MAPK1/3, PKC, PS1 (гамма-секретаза), CDK1, VPRBP, SGK1 и MTOR. Приведены экспериментальные и клинические данные, указывающие на важность установленных таргетных белков и соответствующих пептидов.

Таким образом, церебролизин может проявлять геропротективные эффекты посредством ингибирования семи таргетных белков, активации эндорфинергической нейротрансмиссии и снижения повышенного АД.

*Работа выполнена при поддержке гранта  
РФФИ №19-07-00356.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Zeeh J. Medication review – seven steps to improve pharmacotherapy in elderly adults. *MMW Fortschr Med.* 2016 Jun 9;158(11):54-7. doi: 10.1007/s15006-016-8383-x.
2. Glossmann HH, Lutz OMD. Metformin and Aging: A Review. *Gerontology.* 2019;65(6):581-590. doi: 10.1159/000502257. Epub 2019 Sep 13.
3. Bornstein NM, Guekht A, Vester J, et al. Safety and efficacy of Cerebrolysin in early post-stroke recovery: a meta-analysis of nine randomized clinical trials. *Neurol Sci.* 2018 Apr;39(4):629-640. doi: 10.1007/s10072-017-3214-0.
4. Zhang D, Dong Y, Li Y, et al. Efficacy and Safety of Cerebrolysin for Acute Ischemic Stroke: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Biomed Res Int.* 2017;2017:4191670. doi: 10.1155/2017/4191670.
5. Ghaffarpasand F, Torabi S, Rasti A, et al. Effects of cerebrolysin on functional outcome of patients with traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018 Dec 27;15:127-135. doi: 10.2147/NDT.S186865. eCollection 2019.
6. Gauthier S, ProaЦо JV, Jia J, et al. Cerebrolysin in mild-to-moderate Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2015;39(5-6):332-47. doi: 10.1159/000377672.
7. Громова ОА, Торшин ИЮ. Мульти-модальный эффект церебролизина против во-
- инствующего редуционизма. Неврологический вестник. 2008;(3):83-91. [Gromova OA, Torshin IYu. Multimodal effect of Cerebrolysin against militant reductionism. *Neurologicheskii vestnik.* 2008;(3):83-91. (In Russ.).]
8. Chemer N, Bilanovskyi V. Cerebrolysin as a New Treatment Option for Post-Stroke Spasticity: Patient and Physician Perspectives. *Neurol Ther.* 2019 Jun;8(1):25-27. doi: 10.1007/s40120-019-0128-1.
9. Рохлина МЛ, Козлов АА, Усманова НН, Смирнова ЕА. Применение церебролизина при героиновой наркомании. Психиатрия и психофармакотерапия. 2001;(3):98-102. [Rokhlina ML, Kozlov AA, Usmanova NN, Smirnova EA. The use of Cerebrolysin in heroin addiction. *Psikhiatriya i psikhofarmakoterapiya.* 2001;(3):98-102. (In Russ.).]
10. Громова ОА, Торшин ИЮ, Згода ВГ, Тихонова ОВ. 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 Cerebrolysin. *Zhurnal neurologii i psikhiatrii im. S.S. Korsakova.* 2019;119(8):75-83. (In Russ.).]
11. Торшин ИЮ, Громова ОА, Згода ВГ и др. О пептидах Церебролизина, способствующих нормотимии. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019;119(12):68-74. [Torshin IYu, Gromova OA, Zgoda VG, et al. About the peptides of Cerebrolysin contributing mood stabilization. *Zhurnal neurologii i psikhiatrii im. S.S. Korsakova.* 2019;119(12):68-74. (In Russ.).]
12. UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D506-D515. doi: 10.1093/nar/gky1049.
13. Torshin IYu. Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine. New York: Nova Biomedical Books.
14. Torshin IY, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of recognition and classification problems. Part 1: Properties of compactness. *Pattern Recognition and Image Analysis.* 2016;26(2):274-84.
15. Torshin IYu, Rudakov KV. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: Density properties. *Pattern Recognition and Image Analysis.* 2016;26(3):483-96.
16. Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. Part 2: metric approach within the framework of the theory of classification of feature values. *Pattern Recognition and Image Analysis.* 2017;27(2):184-99.
17. Torshin IYu, Rudakov KV. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification.

- Pattern Recognition and Image Analysis*. 2015; 25(4):577-87.
18. Торшин ИЮ, Громова ОА, Лида АМ и др. Таргетное действие глюкозамина сульфата при сочетании остеоартрита и опухолевой патологии. 2019;(6):23-30. [Torshin IYu, Gromova OA, Lila AM, et al. Targeted action of glucosamine sulfate in combination of osteoarthritis and tumor pathology. *Russkii meditsinskii zhurnal*. 2019;(6):23-30. (In Russ.)].
  19. Schmeisser K, Parker JA. Pleiotropic Effects of mTOR and Autophagy During Development and Aging. *Front Cell Dev Biol*. 2019 Sep 11;7:192. doi: 10.3389/fcell.2019.00192. eCollection 2019.
  20. Lim JS, Kim WI, Kang HC, et al. Brain somatic mutations in MTOR cause focal cortical dysplasia type II leading to intractable epilepsy. *Nat Med*. 2015 Apr;21(4):395-400. doi: 10.1038/nm.3824.
  21. Dephoure N, Zhou C, Villen J, et al. A quantitative atlas of mitotic phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(31):10762-7. doi: 10.1073/pnas.0805139105.
  22. Koren I, Reem E, Kimchi A. DAP1, a novel substrate of mTOR, negatively regulates autophagy. *Curr Biol*. 2010;22(20):1093-8. doi: 10.1016/j.cub.2010.04.041.
  23. Blagosklonny MV. Rapamycin for longevity: opinion article. *Aging (Albany NY)*. 2019 Oct 4; 11(19):8048-8067. doi: 10.18632/aging.102355. Epub 2019 Oct 4.
  24. Numazaki M, Tominaga T, Toyooka H, Tominaga M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues. *J Biol Chem*. 2002;277(16):13375-8. doi: 10.1074/jbc.C200104200.
  25. Wang S, Ge W, Harns C, et al. Ablation of toll-like receptor 4 attenuates aging-induced myocardial remodeling and contractile dysfunction through NCoRI-HDAC1-mediated regulation of autophagy. *J Mol Cell Cardiol*. 2018 Jun; 119:40-50. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.04.009. Epub 2018 Apr 13.
  26. Ruan X, Arendshorst WJ. Role of protein kinase C in angiotensin II-induced renal vasoconstriction in genetically hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1996 Jun;270(6 Pt 2):F945-52. doi: 10.1152/ajprenal.1996.270.6.F945.
  27. Uneda K, Wakui H, Maeda A, et al. Angiotensin II Type 1 Receptor-Associated Protein Regulates Kidney Aging and Lifespan Independent of Angiotensin. *J Am Heart Assoc*. 2017 Jul 27;6(8). pii: e006120. doi: 10.1161/JAHA.117.006120.
  28. Fluhrer R, Friedlein A, Haass C, Walter J. Phosphorylation of presenilin 1 at the caspase recognition site regulates its proteolytic processing and the progression of apoptosis. *J Biol Chem*. 2004 Jan 16;279(3):1585-93. Epub 2003 Oct 22.
  29. Торшин ИЮ, Громова ОА. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. Москва: МЦНМО; 2012. 748 с.
  - [Torshin IYu, Gromova OA. *Ekspertnyi analiz dannykh v molekulyarnoi farmakologii* [Expert data analysis in molecular pharmacology]. Moscow: MTsNMO; 2012. 748 p.]
  30. Садин АВ, Жидоморов НЮ, Гоголева ИВ и др. Исследование нейрогенеративного действия церебролизина при травматическом повреждении головного мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013;113(4):57-60. [Sadin AV, Zhidomorov NYu, Gogoleva IV, et al. Study of the neuroregenerative effect of Cerebrolysin in traumatic brain injury. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2013;113(4):57-60. (In Russ.)].
  31. Yu Z, Zhou X, Wang W, et al. Dynamic phosphorylation of CENP-A at Ser68 orchestrates its cell-cycle-dependent deposition at centromeres. *Dev Cell*. 2015 Jan 12;32(1):68-81. doi: 10.1016/j.devcel.2014.11.030.
  32. Marlier Q, Jibassia F, Verteneuil S, et al. Genetic and pharmacological inhibition of Cdk1 provides neuroprotection towards ischemic neuronal death. *Cell Death Discov*. 2018 Mar 16;4:43. doi: 10.1038/s41420-018-0044-7.
  33. Masuda F, Ishii M, Mori A, et al. Glucose restriction induces transient G2 cell cycle arrest extending cellular chronological lifespan. *Sci Rep*. 2016 Jan 25;6:19629. doi: 10.1038/srep19629.
  34. Hu S, Xie Z, Onishi A, et al. Profiling the human protein-DNA interactome reveals ERK2 as a transcriptional repressor of interferon signaling. *Cell*. 2009;139(3):610-22. doi: 10.1016/j.cell.2009.08.037.
  35. Chen CH, Wang WJ, Kuo JC, et al. Bidirectional signals transduced by DAPK/ERK interaction promote the apoptotic effect of DAPK. *EMBO J*. 2005 Jan 26;24(2):294-304. Epub 2004 Dec 16. doi: 10.1038/sj.emboj.7600510.
  36. Nandi S, Reinert LS, Hachem A, et al. Phosphorylation of MCT-1 by p44/42 MAPK is required for its stabilization in response to DNA damage. *Oncogene*. 2007 Apr 5;26(16):2283-9. doi: 10.1038/sj.onc.1210030.
  37. Steiner H, Romig H, Pesold B, et al. Amyloidogenic function of the Alzheimer's disease-associated presenilin 1 in the absence of endoproteolysis. *Biochemistry*. 1999 Nov 2; 38(44):14600-5. doi: 10.1021/bi9914210.
  38. Marambaud P, Shioi J, Serban G, et al. A presenilin-1/gamma-secretase cleavage releases the E-cadherin intracellular domain and regulates disassembly of adherens junctions. *EMBO J*. 2002 Apr 15;21(8):1948-56. doi: 10.1093/emboj/21.8.1948.
  39. Dovey HF, John V, Anderson JP, et al. Functional gamma-secretase inhibitors reduce beta-amyloid peptide levels in brain. *J Neurochem*. 2001 Jan;76(1):173-81. doi: 10.1046/j.1471-4159.2001.00012.x.
  40. Ye J, Rawson RB, Komuro R, et al. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol Cell*. 2000 Dec;6(6):1355-64. doi: 10.1016/s1097-2765(00)00133-7.
  41. He P, Lee SJ, Lin S, et al. Serum- and glucocorticoid-induced kinase 3 in recycling endosomes mediates acute activation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger NHE3 by glucocorticoids. *Mol Biol Cell*. 2011 Oct;22(20):3812-25. doi: 10.1091/mbc.E11-04-0328.
  42. Yoo D, Kim BY, Campo C, et al. Cell surface expression of the ROMK (Kir 1.1) channel is regulated by the aldosterone-induced kinase, SGK-1, and protein kinase A. *J Biol Chem*. 2003 Jun 20;278(25):23066-75. doi: 10.1074/jbc.M212301200.
  43. Lee JM, Lee JS, Kim H, et al. EZH2 generates a methyl degron that is recognized by the DCAF1/DDB1/CUL4 E3 ubiquitin ligase complex. *Mol Cell*. 2012 Nov 30;48(4):572-86. doi: 10.1016/j.molcel.2012.09.004.
  44. Tamori Y, Bialucha CU, Tian AG, et al. Involvement of Lgl and Mahjong/VprBP in cell competition. *PLoS Biol*. 2010 Jul 13;8(7):e1000422. doi: 10.1371/journal.pbio.1000422.
  45. Воскресенская ОН, Захаров НБ, Тарасова ЮС и др. О возможных механизмах возникновения когнитивной дисфункции у больных с хроническими формами цереброваскулярных заболеваний. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(1):32-6. [Voskresenskaya ON, Zakharov NB, Tarasova YuS, et al. Possible mechanisms of cognitive dysfunction in patients with chronic forms of cerebrovascular diseases. *Neurologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(1):32-36. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2018-1-32-36
  46. Громова ОА, Торшин ИЮ, Федотова ЛЭ. Геронтоинформационный анализ свойств молекулы мексидола. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2017;9(4):46-54. [Gromova OA, Torshin IYu, Fedotova LE. Geriatric information analysis of the molecular properties of mexidole. *Neurologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;9(4):46-54. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2017-4-46-54.
  47. Торшин ИЮ, Громова ОА, Федотова ЛЭ, Громов АН. Сравнительный хемореактивный анализ декскетопрофена, кетопрофена и диклофенака. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(1):47-54. [Torshin IYu, Gromova OA, Fedotova LE, Gromov AN. Comparative chemoreactive analysis of dexketoprofen, ketoprofen, and diclofenac. *Neurologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(1):47-54. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2018-1-47-54.

Поступила 8.11.2019

Публикация статьи поддержана ООО «Эвер Нейро Фарма». Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

# Церебролизин®

ВОЗВРАЩАЕТ К ЖИЗНИ, ВОССОЕДИНЯЯ НЕЙРОНЫ

ИНСУЛЬТ  
ЧМТ  
КОГНИТИВНЫЕ  
РАССТРОЙСТВА

**ВЕРНОЕ РЕШЕНИЕ. БОЛЬШИЕ ПЕРЕМЕНЫ.**

- Улучшает двигательные и когнитивные функции после инсульта и черепно-мозговой травмы<sup>1-5</sup>
- Улучшает когнитивные функции при сосудистых и нейродегенеративных заболеваниях головного мозга<sup>6,7</sup>
- Снижает частоту развития постинсультной депрессии<sup>1</sup>



**Церебролизин® (Cerebrolysin®) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ НОМЕР:** П N013827/01 Раствор для инъекций. **СОСТАВ:** 1 мл водного раствора препарата содержит 215,2 мг концентрата церебролизина (комплекс пептидов, полученных из головного мозга свиньи). **ПОКАЗАНИЯ:** болезнь Альцгеймера; синдром деменции различного генеза; хроническая цереброваскулярная недостаточность; ишемический инсульт; травматические повреждения головного и спинного мозга; задержка умственного развития у детей; гиперактивность и дефицит внимания у детей; эндогенная депрессия, резистентная к антидепрессантам (в составе комплексной терапии). **ПРОТИВПОКАЗАНИЯ:** тяжелая почечная недостаточность; эпилептический статус; индивидуальная непереносимость. **С ОСТОРОЖНОСТЬЮ** применяют препарат при аллергических диатезах и заболеваниях эпилептического характера. **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ:** применяется парентерально (внутримышечно, внутривенно (струйно, капельно)). Дозы и продолжительность лечения зависят от характера и тяжести заболевания, а также от возраста больного. Могут быть проведены повторные курсы. **ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ:** при чрезмерно быстром введении: редко – ощущение жара, потливость, головокружение и др.; очень редко: повышенная индивидуальная чувствительность, аллергические реакции и др. Полный перечень побочных эффектов указан в инструкции по медицинскому применению. **ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:** EVER Neuro Pharma, GmbH, A-4866 Unteraach, Австрия. **Полная информация представлена в инструкции по медицинскому применению.**

1. Muresanu D.F., Heiss W.D., Hoemberg V., Guekht A. et al. Stroke 2016 Jan; 47(1):151–159; 2. Ladurner G., Kalvach P., Moessler H. J Neural Transm 2005; 112 (3): 415–428; 3. Chen C.C., Wei S.T., Tsai S.C., Chen X.X., Cho D.Y. Br J Neurosurg. 2013 Dec; 27(6):803–7; 4. König P., Waanders R. et al. et al. J Neurol Neurochir Psychiatr 2006;7(3):12–20; 5. Muresanu D.F., Ciurea A.V., Gorgan R.M. CNS Neurol Disord Drug Targets 2015;14(5):587–99; 6. Guekht A.B., Moessler H., Novak P.H., Gusev E.I., J Stroke Cerebrovasc Dis. 2011 Jul-Aug;20(4):310–318; 7. Gauthier S., Proano J.V., Jia J. et al, Dement Geriatr Cogn Disord. 2015;Vol. 39, no. 5–6:332–347

**Quality from  
Austria.**

Trusted partner for  
over 2 million  
patients.



ООО «ЭВЕР Нейро Фарма»  
107061, Москва, Преображенская пл., дом 8  
Телефон: +7 (495) 933 87 02

Факс: +7 (495) 933 87 15  
E-mail: info.ru@everpharma.com  
http://cerebrolysin.ru

При возникновении любых неблагоприятных последствий применения препарата, необходимо обратиться к лечащему врачу или в офис компании  
Телефон: +7 (969) 051 01 53 E-mail: drugsafety.ru@everpharma.com

Информация предназначена для специалистов здравоохранения. CER/RUS/2020/02/385