

ПЕПТИД KED: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОГЕНЕЗА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

В.Х.Хавинсон¹, Н.С.Линькова^{1,2,3}, Р.С.Умнов¹

¹Отдел биогеронтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, РФ; ²Кафедра терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва; ³Лаборатория "Проблемы старения" ФГАОУ ВО Белгородского государственного национального исследовательского университета, РФ

Нейропротективные пептиды являются группой веществ, перспективных в качестве потенциальных препаратов для лечения болезни Альцгеймера. Пептид KED (Lys-Glu-Asp) при пероральном применении способствует улучшению памяти и внимания у лиц пожилого возраста с нарушениями функций ЦНС, а также восстанавливает синаптическую пластичность в модели болезни Альцгеймера *in vitro*. В работе проанализированы результаты исследований по влиянию пептида KED на экспрессию генов и синтез белков, регулирующих апоптоз, старение, нейрогенез и вовлечённых в патогенез болезни Альцгеймера. Анализ приведённых данных, а также собственных исследований позволяет заключить, что пептид KED регулирует экспрессию генов клеточного старения и апоптоза (*p16*, *p21*), генов (*NES*, *GAP43*) и белков (нестин, *GAP43*) нейрональной дифференцировки, генов, вовлечённых в патогенез болезни Альцгеймера (*SUMO1*, *APOE*, *IGF1*). Представляется важным исследование эффективности пептида KED в моделях болезни Альцгеймера у животных.

Ключевые слова: пептид KED; экспрессия генов; нейропротекция; болезнь Альцгеймера

В настоящее время для болезни Альцгеймера (БА) не существует достаточно эффективных методов фармакотерапии [9]. Одним из подходов к лечению является применение препаратов пептидного происхождения, имеющих физиологический механизм действия и высокую нейропротективную активность. Перспективным представляется исследование коротких пептидов, эффективных в моделях БА *in vitro* и *in vivo*. Короткие пептиды практически не имеют побочных эффектов, не вызывают аллергических реакций. Некоторые ди-, три- и тетрапептиды практически не гидролизуются в

крови и ЖКТ и с участием переносчиков Pept1, Pept2, Lat1, Lat2 могут транспортироваться в клетки различных органов и тканей. В клетке пептиды активируют сигнальные каскады путём связывания с белками-мишенями или проникают в ядро и взаимодействуют с ДНК и/или гистоновыми белками. В результате происходит пептидная регуляция экспрессии генов и синтеза белков, механизм которой уникален для каждого пептида [4,6].

Пептид KED (Lys-Glu-Asp) обнаружен в составе полипептидного комплекса, выделенного из сосудов [2]. Нейропротективные свойства этого пептида были выявлены при пероральном применении у лиц пожилого возраста. Пептид KED улучшал психоэмоциональное состояние, нейрофизиологические функции ЦНС и память у пациентов с депрессивными

Адрес для корреспонденции: miauy@yandex.ru. Линькова Н.С.

doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-150-154

состояниями, апатией, нарушениями памяти и внимания [1]. В первичной культуре нейронов гиппокампа мышей в модели БА пептид KED статистически значимо повышал количество грибовидных шипиков [3]. Известно, что при БА происходит уменьшение числа грибовидных шипиков нейронов гиппокампа, участвующих в механизмах нейропластичности. Таким образом, пептид KED проявлял нейропротективную активность на клеточном (нормализация морфологии нейронов) и органном (функции головного мозга) уровне.

В данном обзоре проанализированы результаты исследований влияния пептида KED на экспрессию генов и синтез белков, регулирующих нейрогенез, старение и вовлечённых в патогенез БА.

Влияние пептида KED на нейрональную дифференцировку дендральных стволовых клеток человека

Методами конфокальной микроскопии и вестерн-блот анализа выявлено, что пептид KED стимулирует в 1.8-2.0 раза синтез маркеров нейрогенеза (нестин, GAP43) в дендральных стволовых клетках человека [7,12].

Нестин экспрессируется на начальной стадии дифференцировки нейронов и относится к белкам цитоскелета [18,20,25,28]. Белок нестин кодируется геном *NES*. Экспрессия нестина реиндуцируется при патологических состояниях, например при глиальном рубце, возникающем после травмы ЦНС [13]. Установлено, что экспрессия нестина в полипотентных клетках гиппокампа снижается у мышей с БА [26]. В модели БА у мышей под действием куркумина (ингибитора γ -секретазы) наблюдалась нормализация памяти, что коррелировало с увеличением экспрессии белка нестина в гиппокампе животных [14]. Трансплантация предшественников нейронов, экспрессирующих нестин, способствовала снижению проявлений нейродегенеративных изменений у крыс в модели БА [11].

GAP43 (Growth associated protein 43) экспрессируется при дифференцировке нейронов и участвует в генерации и передаче нервного импульса [19,27]. Повышенная концентрация белка GAP43 в спинномозговой жидкости выявлена на начальной стадии БА. У пациентов с БА обнаружена корреляция между экспрессией пептида A β 42 и белка GAP43 в гиппокампе, амигдале и коре головного мозга [20]. В другом исследовании определение концентрации белков GAP43 и APOE в плазме крови рекомендуется в качестве биомаркеров ранней

стадии БА [16]. Некоторые вещества, нормализующие память у пациентов с БА, стимулируют экспрессию GAP43 в головном мозге [9]. Стимуляция экспрессии генов *GAP43*, *NES* и синтеза белков GAP43 и нестина, участвующих в нейрогенезе, может способствовать замедлению развития БА.

Пептид KED активирует дифференцировку стволовых клеток в нейрональном направлении, регулируя экспрессию GAP43 и нестина. Поскольку эти белки вовлечены в восстановление нейрогенеза и поддержание функциональной активности нейронов головного мозга при БА, можно предположить, что пептид KED будет способствовать протективному действию при этом заболевании.

Влияние пептида KED на экспрессию генов и синтез белков клеточного старения

Методами ПЦР в режиме реального времени и иммунофлюоресцентной конфокальной микроскопии показано, что пептид KED ингибирует экспрессию геронтогенов *p16*, *p21* и синтез одноимённых белков в 1.8-3.2 раза в дендральных стволовых клетках человека при моделировании старения *in vitro* [21].

Транскрипционные факторы 16, p21 ингибируют активность циклинзависимых киназ, предотвращая фосфорилирование белка ретинобластомы Rb, регулирующего клеточный цикл. Установлено, что экспрессия белков p16 и p21 повышается в нейронах, клетках печени, поджелудочной железы, селезёнки, кожи, почек человека при старении и имеет отрицательную корреляцию с продолжительностью жизни [23]. Экспрессия белков p16 и p21 повышалась в астроцитах, глии и нейронах головного мозга при старении. Авторы исследования предполагают, что синтез белка p16 в большей степени активируется при нормальном старении, а экспрессия p21 — при ассоциированных с возрастом заболеваниях. Установлено, что при репликативном старении фибробластов и эпителиоцитов их способность к нейрональной дифференцировке снижается, что коррелирует с повышением экспрессии гена *p16* [22]. Экспрессия гена и синтез белка p16 повышались в нейронах и астроцитах головного мозга у мышей в модели БА, что сопровождалось снижением когнитивных функций [24]. Следует полагать, что геро- и нейропротекторы будут способствовать снижению экспрессии генов и синтеза белков p16, p21 в клетках и стимулировать нейрональную дифференцировку, как это показано для пептида KED.

Влияние пептида KED на экспрессию генов, вовлечённых в патогенез БА

Установлено, что экспрессия генов *SUMO1* и *APOE* снижается при репликативном старении мезенхимных стволовых клеток костного мозга эмбриона человека линии FetMSC. Пептид KED стимулирует экспрессию генов *SUMO1* и *APOE* в "старых" FetMSC в 1.2 и 2.2 раза соответственно [5]. Кроме того, пептид KED повышает экспрессию гена *IGF1*, сниженную при репликативном и стационарном старении FetMSC в 3 и 2 раза соответственно [6].

SUMO1 (Small ubiquitin-like modifier 1) — белок, вовлечённый в посттрансляционные модификации протеинов, регулирующих ядерный транспорт, транскрипцию, апоптоз, фазы клеточного цикла, репарацию повреждений ДНК. Нарушение экспрессии гена и синтеза белка SUMO1 приводит к потере синаптической пластичности и снижению памяти у животных [15]. Предполагается, что дисфункция белка SUMO1 приводит к накоплению в нейронах вакуолей, содержащих токсичный амилоидный пептид Aβ42 [8]. Регуляция экспрессии гена и синтеза белка SUMO1 фармакологическими агентами рассматривается как один из перспективных подходов к поиску нейропротекторов, эффективных при БА [17].

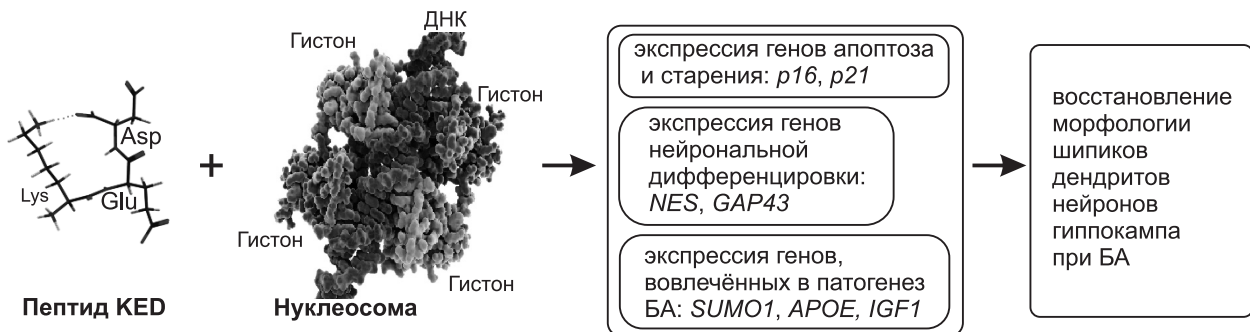
APOE — протеин плазмы крови, участвующий в транспорте холестерина, продукт одноимённого гена в 19 хромосоме. APOE синтезируется астроцитами и микроглией в головном мозге, участвует в транспортировке метаболитов холестерина и триглицеридов, вовлечён в рост и восстановление нейронов. При БА нарушение функции белка APOE может приводить к гиперхолестеринемии и накоплению в тканях головного мозга нейротоксичного пептида Aβ42 [10].

IGF1 (insulin-like growth factor 1) — инсулиноподобный фактор роста 1, участвующий в эндокринной, аутокринной и паракринной регуляции пролиферации и дифференцировки

различных типов клеток, в том числе нейронов. Установлено, что IGF-1 активирует сигнальные каскады, препятствующие накоплению токсичной формы амилоидного пептида Aβ42 и прогрессированию БА. Подавление синтеза IGF-1 приводит к развитию метаболического синдрома и БА. Экзогенное применение IGF-1 способствует нормализации синаптической пластичности при БА [28].

Таким образом, регуляция экспрессии генов *SUMO1*, *APOE*, *IGF1* пептидом KED может способствовать предотвращению или замедлению развития патологических сигнальных каскадов, вовлечённых в патогенез БА.

Анализ представленных данных позволяет предположить, что пептид KED связывается с фрагментами нуклеосомы (азотистые основания двунитовой ДНК и/или гистоновые белки H1, H2b, H3, H4) и регулирует экспрессию генов клеточного старения и апоптоза (*p16*, *p21*), генов (*NES*, *GAP43*) и белков (нестин, *GAP43*) нейрональной дифференцировки, генов и белков, вовлечённых в патогенез БА (*SUMO1*, *APOE*, *IGF1*) (рисунок). Снижение экспрессии проапоптотических генов *p16*, *p21* и синтеза соответствующих белков под действием пептида KED приводит к замедлению темпов гибели нейронов гиппокампа. Активация генов нейрональной дифференцировки и синтеза одноимённых белков (нестин, *GAP43*) под влиянием пептида KED будет способствовать поддержанию пула функционально активных нейронов гиппокампа. Нормализация экспрессии генов и синтеза белков SUMO, APOE, IGF-1 под действием пептида KED, по-видимому, может предотвращать развитие патогенетических каскадов и снижать синтез цитотоксического пептида Aβ42 и τ-протеина. Это, возможно, будет способствовать нормализации и сохранению дендритных шипиков нейронов и поддержанию нейропластичности, что выражается в сохранении памяти и нормализации функций ЦНС. Таким образом,



Предполагаемая схема регуляции экспрессии генов нейрогенеза пептидом KED. Возможная роль пептида KED в нейропротекции при БА.

пептид KED можно рассматривать как нейропротектор, перспективный для исследований в моделях БА *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаишова С.Н., Жернаков Г.Л., Дудков А.В. Применение пептидных биорегуляторов у лиц пожилого возраста с нарушениями психоэмоционального состояния // Успехи геронтол. 2008. Т. 21, № 3. С. 448-452.
2. Журкович И.К., Ковров Н.Г., Рыжак Г.А., Миронова Е.С., Хавинсон В.Х. Идентификация коротких пептидов в составе полипептидных комплексов, выделенных из органов животных // Успехи соврем. биол. 2020. Т. 140, № 2. С. 140-148. doi: 10.31857/S004213242002012X
3. Красковская Н.А., Куканова Е.О., Линькова Н.С., Попугаева Е.А., Хавинсон В.Х. Трипептиды восстанавливают количество шипиков нейронов в модели болезни Альцгеймера *in vitro* // Клет. технол. в биол. и мед. 2017. № 2. С. 101-104.
4. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Тарновская С.И. Короткие пептиды регулируют экспрессию генов // Бюл. exper. биол. 2016. Т. 162, № 8. С. 259-264.
5. Шиловский Г.А., Ашанкин В.В., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х., Ванюшин Б.Ф. Экспрессия генов KLF, PTEN, SUMO1, APOE, SOD2 и SHC1 в покоящихся клетках разного "возраста": модель тестирования некоторых геропротекторов // Клин. геронтол. 2018. Т. 24, № 9-10. С. 80-82.
6. Ashapkin V., Khavinson V., Shilovsky G., Linkova N., Vanuyshin B. Gene expression in human mesenchymal stem cell aging cultures: modulation by short peptides // Mol. Biol. Rep. 2020. Vol. 47, N 6. P. 4323-4329. doi: 10.1007/s11033-020-05506-3
7. Caputi S., Trubiani O., Sinjari B., Trofimova S., Diomede F., Linkova N., Diatlova A., Khavinson V. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2019. Vol. 33. doi: 10.1177/2058738419828613
8. Cho S.J., Yun S.M., Jo C., Lee D.H., Choi K.J., Song J.C., Park S.I., Kim Y.J., Koh Y.H. SUMO1 promotes A β production via the modulation of autophagy // Autophagy. 2015. Vol. 11, N 1. P. 100-112. doi: 10.4161/15548627.2014.984283
9. Dinda B., Dinda M., Kulsli G., Chakraborty A., Dinda S. Therapeutic potentials of plant iridoids in Alzheimer's and Parkinson's diseases: a review // Eur. J. Med. Chem. 2019. Vol. 169. P. 185-199. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.03.009
10. Grösgen S., Grimm M.O., Friess P., Hartmann T. Role of amyloid beta in lipid homeostasis // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol. 1801, N 8. P. 966-974. doi: 10.1016/j.bbaliip.2010.05.002
11. Hoveizi E., Mohammadi T., Moazedi A.A., Zamani N., Eskandary A. Transplanted neural-like cells improve memory and Alzheimer-like pathology in a rat model // Cytotherapy. 2018. Vol. 20, N 7. P. 964-973. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.03.036
12. Khavinson V., Linkova N., Diatlova A., Trofimova S. Peptide regulation of cell differentiation // Stem Cell Rev. Rep. 2020. Vol. 16, N 1. P. 118-125. doi: 10.1007/s12015-019-09938-8
13. Krishnasamy S., Weng Y.C., Thamisetty S.S., Phaneuf D., Lalancette-Hebert M., Kriz J. Molecular imaging of nestin in neuroinflammatory conditions reveals marked signal induction in activated microglia // J. Neuroinflammation. 2017. Vol. 14, N 1. ID 45. doi: 10.1186/s12974-017-0816-7
14. Li J., Han Y., Li M., Nie C. Curcumin promotes proliferation of adult neural stem cells and the birth of neurons in Alzheimer's disease mice via Notch signaling pathway // Cell Reprogram. 2019. Vol. 21, N 3. P. 152-161. doi: 10.1089/cell.2018.0027
15. Matsuzaki S., Lee L., Knock E., Srikumar T., Sakurai M., Hazrati L.N., Katayama T., Staniszewski A., Raught B., Arancio O., Fraser P.E. SUMO1 affects synaptic function, spine density and memory // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. ID 10730. doi: 10.1038/srep10730
16. Niculescu A.B., Le-Niculescu H., Roseberry K., Wang S., Hart J., Kaur A., Robertson H., Jones T., Strasburger A., Williams A., Kurian S.M., Lamb B., Shekhar A., Lahiri D.K., Saykin A.J. Blood biomarkers for memory: toward early detection of risk for Alzheimer disease, pharmacogenomics, and repurposed drugs // Mol. Psychiatry. 2020. Vol. 25, N 8. P. 1651-1672. doi: 10.1038/s41380-019-0602-2
17. Nisticò R., Ferraina C., Marconi V., Blandini F., Negri L., Egebjerg J., Feligioni M. Age-related changes of protein SUMOylation balance in the A β PP Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease // Front. Pharmacol. 2014. Vol. 5. ID 63. doi: 10.3389/fphar.2014.00063
18. Quick Q., Paul M., Skalli O. Roles and potential clinical applications of intermediate filament proteins in brain tumors // Semin. Pediatr. Neurol. 2015. Vol. 22, N 1. P. 40-48. doi: 10.1016/j.spen.2014.12.005
19. Rosskothén-Kuhl N., Illing R.B. Gap43 Transcription modulation in the adult brain depends on sensory activity and synaptic cooperation // PLoS One. 2014. Vol. 9, N 3. ID e92624. doi: 10.1371/journal.pone.0092624
20. Sandelius Å., Portelius E., Källén Å., Zetterberg H., Rot U., Olsson B., Toledo J.B., Shaw L.M., Lee V.M.Y., Irwin D.J., Grossman M., Weintraub D., Chen-Plotkin A., Wolk D.A., McCluskey L., Elman L., Kostanjevecki V., Vandijck M., McBride J., Trojanowski J.Q., Blennow K. Elevated CSF GAP-43 is Alzheimer's disease specific and associated with tau and amyloid pathology // Alzheimers Dement. 2019. Vol. 15, N 1. P. 55-64. doi: 10.1016/j.jalz.2018.08.006

21. *Sinjari B., Diomedea F., Khavinson V., Mironova E., Linkova N., Trofimova S., Trubiani O., Caputi S.* Short peptides protect oral stem cells from ageing // *Stem Cell Rev. Rep.* 2020. Vol. 16, N 1. P. 159-166. doi: 10.1007/s12015-019-09921-3
22. *Sun C.K., Zhou D., Zhang Z., He L., Zhang F., Wang X., Yuan J., Chen Q., Wu L.G., Yang Q.* Senescence impairs direct conversion of human somatic cells to neurons // *Nat. Commun.* 2014. Vol. 5. ID 4112. doi: 10.1038/ncomms5112
23. *Vazquez-Villaseñor I., Garwood C.J., Heath P.R., Simpson J.E., Ince P.G., Wharton S.B.* Expression of p16 and p21 in the frontal association cortex of ALS/MND brains suggests neuronal cell cycle dysregulation and astrocyte senescence in early stages of the disease // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2020. Vol. 46, N 2. P. 171-185. doi: 10.1111/nan.12559
24. *Wei Z., Chen X.C., Song Y., Pan X.D., Dai X.M., Zhang J., Cui X.L., Wu X.L., Zhu Y.G.* Amyloid β protein aggravates neuronal senescence and cognitive deficits in 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease // *Chin. Med. J. (Engl.)* 2016. Vol. 129, N 15. P. 1835-1844. doi: 10.4103/0366-6999.186646
25. *Yan S., Li P., Wang Y., Yu W., Qin A., Liu M., Xiang A.P., Zhang W., Li W.* Nestin regulates neural stem cell migration via controlling the cell contractility // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2016. Vol. 78. P. 349-360. doi: 10.1016/j.biocel.2016.07.034
26. *Zeng Q., Zheng M., Zhang T., He G.* Hippocampal neurogenesis in the APP/PS1/nestin-GFP triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease // *Neuroscience.* 2016. Vol. 314. P. 64-74. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.11.054
27. *Zhao J.C., Zhang L.X., Zhang Y., Shen Y.F.* The differential regulation of Gap43 gene in the neuronal differentiation of P19 cells // *J. Cell. Physiol.* 2012. Vol. 227, N 6. P. 2645-2653. doi: 10.1002/jcp.23006
28. *Zheng P., Tong W.* IGF-1: an endogenous link between traumatic brain injury and Alzheimer disease? // *J. Neurosurg. Sci.* 2017. Vol. 61, N 4. P. 416-421. doi: 10.23736/S0390-5616.16.03431-7

Получено 13.08.20

