

О. К. Гранстрем<sup>1,2</sup>,  
кандидат биологических наук

Г. В. Штучная<sup>4</sup>

Е. Г. Сорокина<sup>3</sup>,  
кандидат биологических наук

В. Г. Пинелис<sup>3</sup>,  
доктор медицинских наук

Т. П. Сторожевых<sup>3</sup>,  
доктор биологических наук

М. М. Дьяконов<sup>2</sup>,  
доктор медицинских наук

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

<sup>2</sup> ООО «ГЕРОФАРМ», Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

<sup>4</sup> ОАО «Национальные биотехнологии», Оболенск

## Последние новости о Кортексине (нейропротекция на молекулярном уровне)

### ВВЕДЕНИЕ

Термин «нейропротекция» часто встречается в научных публикациях, СМИ, в рекламе лекарственных препаратов. Вопрос, существует нейропротекция или нет, во многом риторический, поскольку она является фундаментом успешного функционирования нервной системы. В ходе эволюции живых организмов параллельно с возникновением нервной системы, усложнением ее функций, совершенствованием головного мозга развивались и совершенствовались многоуровневые молекулярные механизмы защиты и поддержания этих структур. Понятно, что возможности нейропротекции заложены в самой природе мозга, в организации генома и непосредственно на уровне нейропептидов.

Для медицины принципиально важно, существуют ли адекватные методы фармакологического воздействия, способные активировать эти природные механизмы и поддерживать их на необходимом уровне. Здесь мнения специалистов расходятся, что связано с определенным методологическим несоответствием между результатами экспериментальных и клинических исследований.

Так, публикация обзорно-аналитического исследования «1,026 Experimental Treatments in Acute Stroke» [1] привела к искаженной трактовке полученных результатов. Авторы показали, что ни для одного из проверенных 144 потенциальных нейропротекторов из группы в 1026 субстанций не была доказана эффективность у человека, несмотря на обнадеживающие результаты, полученные ранее в экспериментах на животных.

В этой связи важно отметить, что принятая в России интерпретация этих выводов в корне отличается от авторской: почему-то у нас, в зависимости от текущих интересов, это звучит, как «доказано, что нейропротекции не существует», против оригинального вывода авторов: «для проведенных клинических испытаний, возможно, были выбраны не самые эффективные субстанции». При таком «переводе»

и «свободе изложения», естественно, можно делать любые заключения.

Очевидно, что дальнейший поиск новых эффективных нейропротекторов представляет собой сложный процесс, требующий объединенных усилий врачей, биологов и фармакологов на всех этапах.

В этом отношении особого внимания заслуживают препараты пептидной структуры. Несмотря на разнообразие, их объединяет ряд общих характеристик: низкая дозировка, отсутствие выраженных токсических эффектов, мягкость и пролонгированность воздействия. В целом континуум регуляторных пептидов организма [2], сформированный миллионами лет эволюции, является основой многоуровневой регуляции всех функций организма, в том числе и непосредственно процессов, обеспечивающих нейропротекторный эффект. В информационном плане именно пептиды являются универсальным «языком», понятным и естественным для живых организмов как на системном, так и на клеточном уровне. Это обеспечивает вектор сааногенеза живого организма.

В качестве иллюстрации успешной разработки, основанной на перечисленных принципах, рассмотрим Кортексин — препарат, эффективность которого доказана на клиническом, биологическом, клеточном, генетическом и молекулярном уровнях.

### ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ КОРТЕКСИНА

Инсульт, черепно-мозговая травма, нейродегенеративные заболевания имеют различные клинические проявления и этиологию, но сопутствующая им гибель нервных клеток происходит вследствие патологических каскадных процессов со сходными молекулярными механизмами. Ключевыми из них являются эксайтотоксичность, вызванная чрезмерной активацией глутаматных рецепторов, и последующий вход ионов кальция в клетку. Избыток кальция запускает процессы, ведущие к гибели клеток по пути некроза или апоптоза (схема).

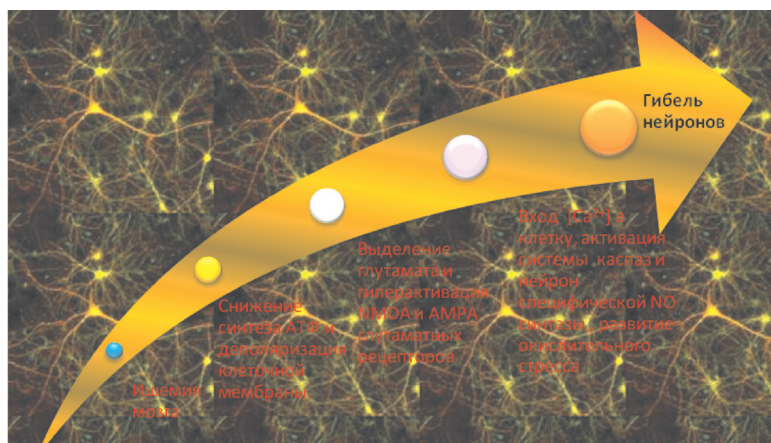


Схема. Каскад развития патологических процессов в мозге при ишемии (Гранстрем О. К., 2008)

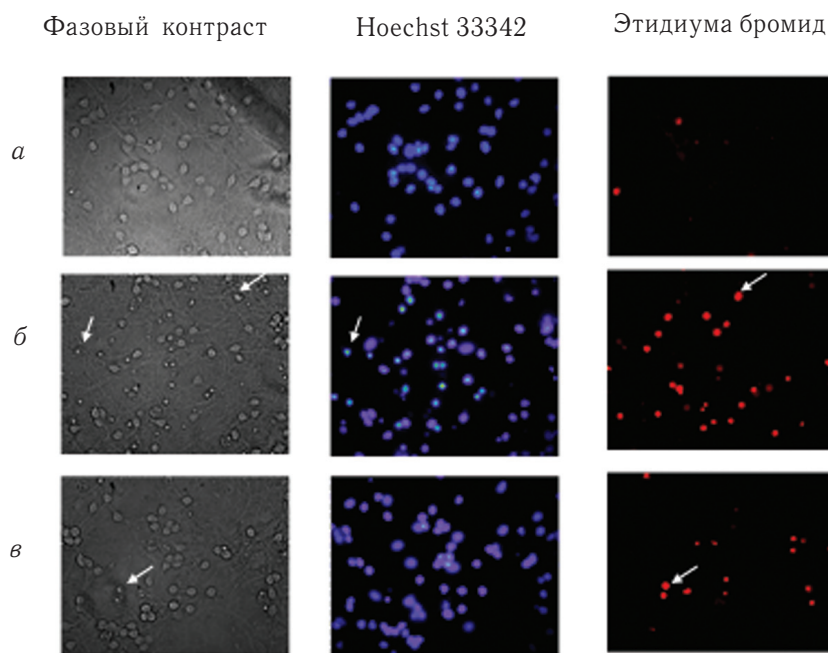


Рис. 1. Снижение апоптотической гибели нейронов при гиперстимуляции глутаматом. Изображения культуры зернистых нейронов мозжечка крысы, полученные с помощью флуоресцентного микроскопа Axiovert 200 («Zeiss»). Клетки окрашены одновременно двумя флуоресцентными красителями: Ноечст 33342 (апоптоз) и этидиума бромидом (некроз).

*а* — контроль; *б* — глутамат; *в* — глутамат + Кортексин (100 нг/мл).

Стрелками отмечены апоптотические и некротические нейроны одновременно на флуоресцентном изображении (справа) и изображении в проходящем свете (слева) [3]

**Нейропротекторное противоапоптотическое действие.** Основной мишенью Кортексина при ишемическом и геморрагическом инсульте является зона пенумбры — участок нервной ткани, окружающей очаг поражения, испытывающей кислородное и энергетическое голодание, но какое-то время (в течение 5–6 ч после катастрофы) еще живой. От эффективности терапевтических мероприятий в этот период зависит дальнейшее развитие болезни: либо подавление апоп-

тоза и некроза нейронов, восстановление их жизнеспособности и остановка каскада патологических реакций, либо расширение очага поражения, замещение погибших нейронов глиальными клетками и, как следствие, существенный неврологический дефицит и сложности в реабилитации пациента [3].

Кортексин воздействует на все этапы патологической цепи молекулярных событий, приводящих к гибели нейронов. Показано, что препарат снижает уровень

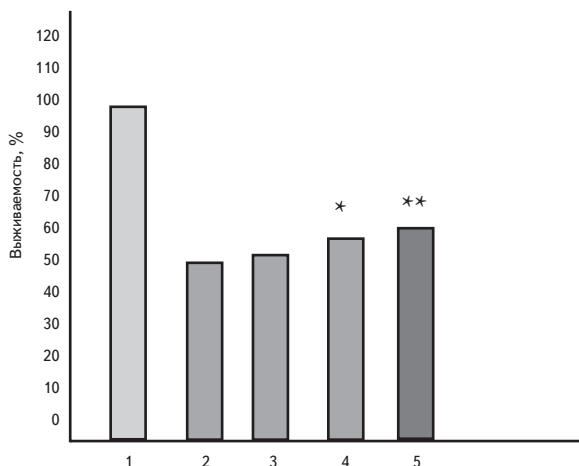


Рис. 2. Влияние Кортексина на выживаемость нейронов, подвергнутых токсическому глутаматному воздействию *in vitro* [4]  
1 — контроль; 2 — глутамат;  
Кортексин: 3 — 2 нг/мл; 4 — 20 нг/мл; 5 — 100 нг/мл.  
\*  $p < 0,05$  по сравнению с 2

апоптоза нейронов, вызванного избыточным накоплением глутамата (рис. 1, 2).

**Восстановление синтеза АТФ в нейронах.**

Центральным звеном всех патологических процессов, протекающих в головном мозге на фоне гипоксии, является уменьшение содержания АТФ в нейронах мозга. Снижение синтеза и увеличение расхода АТФ доказано сразу после стимуляции глутаматных рецепторов токсическими концентрациями глутамата [5]. Известно, что снижение концентрации АТФ в нейронах во время гиперстимуляции глутаматных рецепторов может нарушить систему внутри- и межклеточной сигнализации в нейронах мозга, в частности, ионный гомеостаз, активность ферментов гликолиза и окислительного фосфорилирования, захват  $Ca^{2+}$  митохондриями и синтез белков. Эти процессы могут лежать в основе гибели нейронов после гипоксии и токсического действия избыточно присутствующего в синаптической щели глутамата. В недавних исследованиях показано, что Кортексин способен восстанавливать содержание АТФ после действия токсических концентраций глутамата в молодых и старых нейронах (рис. 3).

**Ингибирование отсроченной кальциевой дисрегуляции.**

Нейродеструктивное действие глутамата связано с необратимым повышением цитозольной концентрации  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ) и деполяризацией митохондрий [6]. В культивируемых нервных клетках мозжечка, гиппокампа и коры глутамат вызывает двухфазное повышение  $[Ca^{2+}]_i$ , причем вторая фаза сопряжена со снижением митохондриального потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ) [7]. Как правило, клетки, в которых происходит коллапс  $\Delta\Psi_m$ , после отмены глутамата не восстанавливают базальный уровень  $[Ca^{2+}]_i$  и  $\Delta\Psi_m$  и в конечном итоге погибают (так называемая отсроченная кальциевая дисрегуляция) [8]. Исследования  $\Delta\Psi_m$  методом флуоресцентной

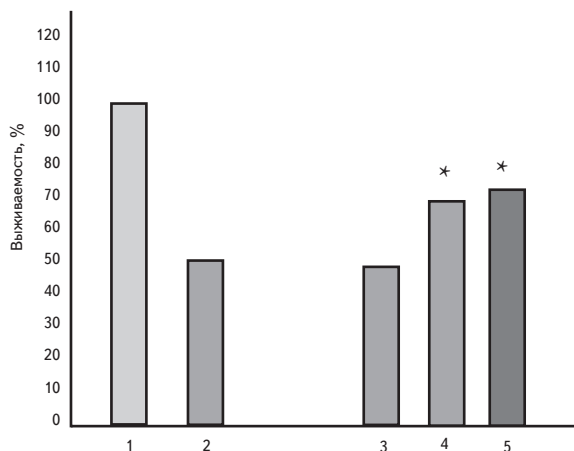


Рис. 3. Влияние Кортексина на восстановление АТФ в старых (14–15 сут) нейронах мозжечка [4].  
1 — контроль (100% =  $5,89 \pm 1,4$  нмоль/мг белка); 2 — глутамат 100 мкмоль, 30 мин; 3 — через 24 ч после 30 мин действия 100 мкмоль глутамата (восстановительный период в NBM-среде); 4 — через 24 ч после 30 мин действия 100 мкмоль глутамата в присутствии 100 нг/мл Кортексина; 5 — то же, что и 4, но в присутствии 200 нг/мл Кортексина (Кортексин присутствовал в растворе в течение всего времени).  
Данные ( $M \pm m$  значения) получены в четырех экспериментах, общее число использованных культур для каждой точки 6–8.  
\*  $p < 0,05$  по сравнению с 3

микроскопии демонстрируют, что Кортексин значительно замедляет развитие отсроченной кальциевой дисрегуляции при действии глутамата. Таким образом, применение Кортексина способно расширять «терапевтическое окно» при ишемическом поражении нервной ткани (рис. 4).

**Нейротрофическое воздействие.** Пептиды Кортексина оказывают прямое и опосредованное

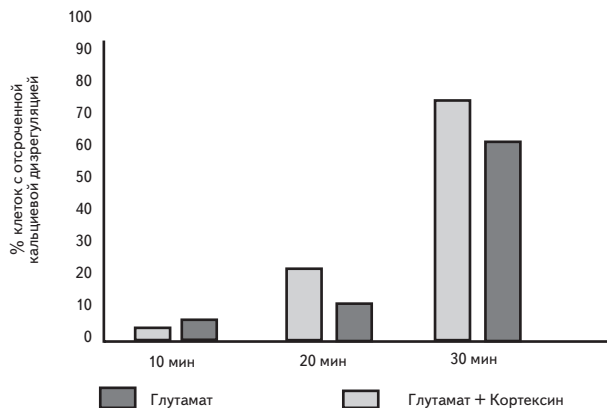


Рис. 4. Предварительная инкубация с Кортексином (100 нг/мл) в течение 24 ч замедляет развитие отсроченной кальциевой дисрегуляции в нейронах мозжечка крысы в ответ на действие глутамата (Сторожевых Т. П., 2008)

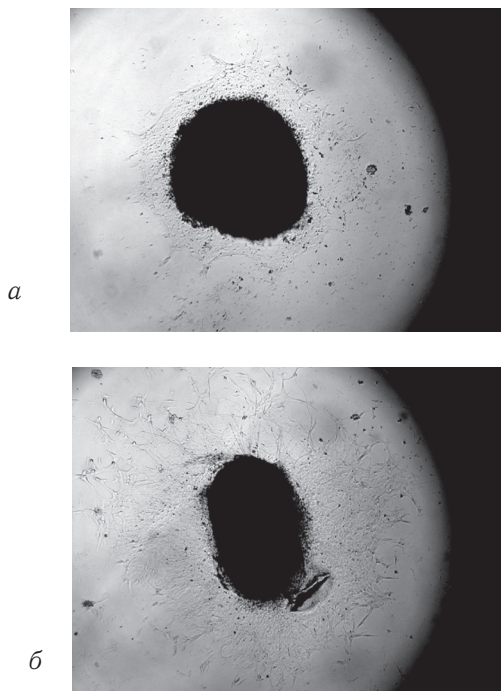


Рис. 5. Кортексин стимулирует рост нейритов в органотипической культуре коры головного мозга эмбриона цыпленка: а — контроль; б — Кортексин (Штучная Г. В., 2008)

нейротрофическое воздействие на клетки, например, стимулируя рост нейритов (рис. 5) или снижая гибель нейронов, культивируемых в среде, лишенной ростовых факторов [4].

Основные механизмы этого влияния, вероятно, базируются на изменении экспрессии генов, регулирующих синтез собственных нейротрофических факторов, таких как мозговой нейротрофический фактор (BDNF) и фактор роста нервов (NGF).

Результаты клинических исследований также свидетельствуют о влиянии Кортексина на цитокиновый обмен. Препарат через систему противовоспалительных цитокинов улучшает нейротрофическое обеспечение нервного волокна и уменьшает аутоиммунную агрессию, способствуя восстановлению и росту аксонов [9].

## ВЫВОДЫ

1. Многочисленные независимые исследования убедительно доказывают наличие у Кортексина множественных эффектов, затрагивающих каскадную регуляцию апоптоза, экспрессию нейротрофических факторов, энергетическое обеспечение нервной клетки и митохондриальный потенциал, функционирование рецепторов глутамата и регулирование концентрации кальция в клетке, что выражается в нейропротекторном и нейротрофическом действии препарата.

2. Представленные новые данные о механизме действия Кортексина объясняют его широкую терапевтическую эффективность у пациентов с различными поражениями головного мозга с первых дней жизни до старческого возраста.

3. Сбалансированность пептидов Кортексина, их четкая «адресность» очагу поражения и приведенные выше многоплановые тонкие механизмы действия объясняют не только терапевтическую эффективность, но и отсутствие побочного действия препарата. Последнее обстоятельство заметно выделяет Кортексин из всего списка ноотропов, нейропротекторов и антиоксидантов.

## Литература

1. O'Collins V. E. 1,026 Experimental Treatments in Acute Stroke / V. E. O'Collins, M. R. Macleod, G. A. Donnan [et al.] // *Ann. of Neurol.* — 2006. — Vol. 59. — P. 467–477.
2. Королева С. В. Разработка и применение экспертной системы анализа функционального континуума регуляторных пептидов / С. В. Королева, И. П. Ашмарин // *Биоорганическая химия.* — 2006. — Т. 32, № 3. — С. 249–257.
3. Скоромец А. А. Новые возможности нейропротекции в лечении ишемического инсульта» / А. А. Скоромец, Л. В. Стаховская, А. А. Белкин [и др.] // *Журнал неврол. и психиатр.* — 2008. — Т. 22. — С. 32–38.
4. Pinelis V. G. Neuroprotective effects of cortagen, cortexin and semax on glutamate neurotoxicity / V. G. Pinelis, T. P. Storozhevyykh, A. M. Surin [et al.] // *J. Peptide Science.* — 2008. — Vol. 14, № 8, Suppl. — P. 159–160.
5. Сорокина Е. Г. / Изменение содержания АТФ в зернистых клетках мозжечка при гиперстимуляции глутаматных рецепторов: возможное участие NO и нитритных ионов / Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов, Я. Е. Сенилова [и др.] // *Бюлл. эксперим. биол.* — 2007. — № 4. — С. 419–422.
6. Krieger C. Mitochondria, Ca<sup>2+</sup> and neurodegenerative disease / C. Krieger, M. R. Duchon // *Europ. J. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 447. — P. 177–188.
7. Ходоров Б. И. Митохондриальная деполяризация играет доминирующую роль в механизме нарушения нейронального кальциевого гомеостаза, вызванного глутаматом / Б. И. Ходоров, Т. П. Сторожевых, А. М. Сурин [и др.] // *Биол. мембраны.* — 2001. — Т. 18, № 6. — С. 421–432.
8. De Wied D. / Neuropeptides in learning and memory processes / D. de Wied // *Behav. Brain. Res.* — 1997. — Vol. 83. — P. 83–90.
9. Герасимова М. М. Влияние Кортексина на цитокиновый обмен при пояснично-крестцовых радикулопатиях / М. М. Герасимова, А. Ю. Петушков // *Нейроиммунология.* — 2004. — Т. II, № 2. — С. 26.