

УДК 577.21

НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДОВ В МОЗГЕ: ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ПОДХОДЫ К ИХ ИССЛЕДОВАНИЮ (ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОЗГА)

Обзор

© 2020 И.Б. Филиппенков*, Л.В. Дергунова, С.А. Лимборская, Н.Ф. Мясоедов

Институт молекулярной генетики РАН, 123182 Москва, Россия; электронная почта: Filippenkov@img.ras.ru

Поступила в редакцию 05.12.2019

После доработки 05.12.2019

Принята к публикации 11.12.2019

В настоящее время все большее значение придается изучению механизмов действия лекарственных средств на основе естественных регуляторных пептидов. Особое внимание уделяется пептидным препаратам, способствующим восстановлению функций мозга после острого нарушения мозгового кровообращения (инсульта), которое продолжает уже многие годы оставаться одной из главных угроз для здоровья человека. Однако молекулярно-генетические изменения в мозге в ответ на ишемию, а также механизмы протективных эффектов пептидов изучены недостаточно, что ограничивает их применение и затрудняет разработку новых более эффективных препаратов со специализированным воздействием на функции мозга. Перспективным подходом для изучения механизмов повреждающего действия ишемии мозга, а также механизмов нейропротективных эффектов пептидных препаратов является транскриптомный анализ. Помимо мРНК, направляющих синтез белка, большое значение имеет изучение роли регуляторных РНК при ишемии для разработки новых стратегий нейропротекции. Наибольший интерес представляют микроРНК, а также циклические РНК (циклоРНК), которые имеют замкнутую структуру и преимущественно мозгоспецифическую экспрессию. ЦиклоРНК могут взаимодействовать с микроРНК, нивелировать их активность и тем самым препятствовать микроРНК-опосредованной репрессии мРНК. В последнее время становится очевидным, что анализ системы взаимодействий циклоРНК–микроРНК–мРНК является важной составляющей для детального изучения механизмов повреждения и восстановления. В данном обзоре представлены результаты анализа изменений работы генов при развитии ишемического повреждения, изучения транскриптомного профиля клеток мозга под действием пептидов в условиях экспериментальной ишемии мозга, а также сформулированы основные принципы механизмов пептидной регуляции при ишемическом повреждении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскриптомика, регуляторные пептиды, ишемия мозга, мРНК, некодирующие РНК, микроРНК, циклические РНК.

DOI: 10.31857/S0320972520030033

Регуляторные пептиды – универсальные эндогенные биологические вещества пептидной природы, основное назначение которых заключается в интеграции нервной, эндокринной и иммунной систем в единый функциональный континуум [1]. Многочисленные пептиды, та-

кие как энкефалины, нейротензин, холецистокинин, кортистатин, орексин, ангиотензин II, брадикинин, меланоцитстимулирующие гормоны и др., могут активно функционировать в ЦНС [2, 3]. В настоящее время успешно развиваются медицинские технологии, в т.ч. исполь-

Принятые сокращения: cAMP – циклический аденозин монофосфат; circDLGAP4 – циклическая РНК гена мембраносвязанной гуанилаткиназы *Dlgap4*; circNESTD1 – циклическая РНК гена убиквитинлигазы, содержащей NECD-домен, *Hectd1*; CREB – транскрипционный фактор, опосредующий связь с cAMP (cAMP response element-binding protein); E2 – 17 β -эстрадиол; GLP-1 – инсулино-глюкагоноподобный пептид-1; GPCR – метаботропный рецептор, связанный с G-белком; HMGB1 – амфотерин (high-mobility group protein B1); MSH – меланоцитстимулирующий гормон; N-AsPGP – N-ацетил-Pro-Gly-Pro; NFAT – активность ядерного фактора активированных T-клеток; NF- κ B – ядерный фактор κ B; OGD/R – кислородно-глюкозная депривация–реоксигенация; P – прогестерон; PACAP – полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза; PGP – Pro-Gly-Pro; rMCAO – модель необратимой окклюзии средней мозговой артерии (permanent middle cerebral artery occlusion model); RNA-seq – технология высокопроизводительного секвенирования РНК; tMCAO – модель обратимой окклюзии средней мозговой артерии (transient middle cerebral artery occlusion model); АКТГ – адренокортикотропный гормон; днРНК – длинные некодирующие РНК (long non-coding RNAs, lncRNAs); кэРНК – конкурентные эндогенные РНК (competitive endogenous RNAs, ceRNAs); нкРНК – некодирующие РНК (non-coding RNAs, ncRNAs); циклоРНК – циклические РНК (circular RNAs, circRNAs).

* Адресат для корреспонденции.

зующие нейропротективные, противовоспалительные, нейростимулирующие и противострессовые препараты, созданные на основе природных регуляторных пептидов. Такие лекарственные препараты не имеют побочных эффектов и безопасны в применении. Уже имеющиеся на сегодня пептидные лекарства оказывают значительное воздействие на работу мозга. Однако механизмы такого воздействия недостаточно изучены, что затрудняет разработку новых еще более эффективных препаратов со специализированным действием на функции мозга.

Одной из наиболее распространенных причин нарушений функций мозга является ишемический инсульт. Он возникает вследствие постоянного или временного снижения мозгового кровотока, в большинстве случаев вызванного окклюзией мозговых артерий тромбом или эмболом [4–6]. Ишемический инсульт приводит к гибели нейронов и клеток глии, сопровождающейся массивным воспалением. Таким образом, исключительное значение приобретает развитие новых стратегий нейропротекции и восстановления нервных тканей после ишемического инсульта, направленных на дальнейшую разработку препаратов нейропротективного действия.

Большие надежды при изучении особенностей действия пептидных препаратов можно возлагать на исследования с помощью недавно появившихся транскриптомных подходов, в т.ч. основанных на полногеномном секвенировании клеточных РНК. Анализ транскриптома позволяет не только выявлять отдельные гены или РНК, которые специфичны для того или иного физиологического воздействия, но и предоставляет возможность изучать транскрипционную реакцию всего генома одновременно, а также обнаруживать сигнальные пути и биологические процессы, активность которых может быть связана с природой индуцируемого физиологического ответа клеток, органов и тканей. Применение транскриптомного анализа позволило существенно детализировать изменения работы генов при развитии ишемического повреждения в мозге крыс в условиях транзиторной окклюзии средней мозговой артерии (transient middle cerebral artery occlusion model, tMCAO) [7], а также исследовать механизмы нейропротективного действия синтетических пептидов, в т.ч. успешно применяющихся в качестве лекарственных препаратов при инсульте [8, 9]. В мировой практике имеются и другие примеры успешного использования транскриптомного подхода к изучению механизмов действия ряда пептидов: PACAP38, N-ацетил-Pro-Gly-Pro (N-AcPGP) и др. [10].

Для создания новых нейропротективных препаратов необходимо полное понимание молекулярно-генетических и клеточных изменений в мозге, которые происходят после ишемического повреждения. На сегодняшний день показано, что в ответе на патологическое воздействие участвуют не только кодирующие мРНК, но и различные типы некодирующих РНК (нкРНК), в т.ч. микроРНК и длинные некодирующие РНК (днРНК). Так, микроРНК, взаимодействуя с сайтами-мишенями на мРНК, приводит к деградации мРНК или репрессии ее трансляции [11]. В последнее время активно развивается представление о том, что днРНК могут взаимодействовать с микроРНК и нивелировать их активность [12]. Такие функции приписывают в первую очередь циклическим РНК (циклоРНК) – новому и активно изучаемому в настоящее время типу РНК [13, 14]. Особенности функционирования нкРНК под действием пептидных препаратов изучены недостаточно. Однако для дальнейшего совершенствования стратегии в разработке новых нейроактивных пептидов самое пристальное внимание начинает уделяться изучению роли нкРНК в формировании эффектов пептидных препаратов. В последних работах показано, что мРНК, циклоРНК и микроРНК, а также их взаимодействия играют важную роль в механизмах повреждения и регенерации при патологическом воздействии [15, 16].

В настоящем обзоре представлены результаты анализа изменений работы генов при развитии ишемического повреждения, изучения транскриптомного профиля клеток мозга под действием пептидов в условиях экспериментальной ишемии мозга, а также сформулированы основные принципы механизмов пептидной регуляции при ишемическом повреждении.

ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРИ ИШЕМИИ

Церебральная ишемия возникает в результате острого снижения мозгового кровотока, ограничения поступления в нервную ткань кислорода и глюкозы, приводящего к истощению энергетических запасов, и каскада биохимических изменений в тканях мозга. После окклюзии сосуда активируется глутамат-кальциевый каскад, способствующий притоку ионов Ca^{2+} , образованию внутриклеточных медиаторов (фосфоинозитол, диацилглицерин), деполяризации мембраны, накоплению глутамата и дальнейшему притоку Ca^{2+} , приводящему к повреждению макромолекул и, в конечном итоге, к гибели клеток [17, 18]. В регуляции ишемического про-

песса также активно участвуют пептиды. Роль и возможные механизмы протективного действия ряда биологически активных пептидов, исследованные в условиях экспериментальной ишемии мозга на животных, описаны в обзоре Wu et al. [19].

Было показано, что после ишемического повреждения эндогенные пептиды могут принимать участие в регулировании кровотока [20–24] и в работе гематоэнцефалического барьера [25, 26], препятствовать развитию отека [27, 28], оказывать противовоспалительное иммуномодулирующее действие [29–31], уменьшать повреждение нейронов и образование зоны инфаркта [32]. Из ранних работ было известно, что к числу пептидов, активно функционирующих в условиях церебральной ишемии и обладающих множеством эффектов при ишемии, относится брадикинин. Показано, что при ишемическом инсульте брадикинин оказывает антиоксидантное, противовоспалительное, антиапоптотическое, антиэксцитотоксическое действие, подавляет митохондриально-опосредованный клеточный апоптоз, способствует выживанию клеток глии в ядре и пенумбре [21–24, 33, 34].

В последние годы активно разрабатываются препараты на основе пептидов меланокортинового ряда. Меланокортины – это большое семейство нейропептидов, образованных из общего предшественника – молекулы проопиомеланокортина, включающее в себя группу меланостимулирующих гормонов (α -, β -, γ -MSH), аденокортикотропный гормон (АКТГ) и некоторые фрагменты, содержащие, по крайней мере, аминокислотную последовательность His-Phe-Arg-Trp. Меланокортины принимают активное участие в балансе дофаминергической, холинергической и опиоидной систем. Кроме того, они проявляют противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства, оказывают влияние на процессы обучения и памяти, эмоциональное состояние, рост и регенерацию нервов, пищевое и половое поведение и ряд других функций организма [35, 36]. В моделях ишемии и воспаления головного мозга сильные противовоспалительные, нейрогенные и нейропротективные эффекты проявляет α -MSH [37–39]. α -MSH индуцирует активацию протеинкиназы А, транскрипционного фактора, опосредующего связь с cAMP (CREB), подавляет активность ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT) и ядерного фактора κ B (NF- κ B), снижает уровень провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-6 и активность каспазы 3, а также индуцирует экспрессию интерлейкина IL-10 и апоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xL [39, 40].

Пептидным препаратом, успешно зарекомендовавшим себя в клинической практике при лечении инсульта, является синтетический пептид меланокортинового ряда семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro), N-конец которого содержит фрагмент АКТГ(4–7), а C-конец стабилизирован присоединением пептида Pro-Gly-Pro (PGP). Семакс обладает ярко выраженным ноотропным, нейропротективным, противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектом [41–43]. При действии семакса было показано существенное снижение размеров ишемического повреждения в условиях модели фотоиндуцированного тромбоза у крыс [44].

Все большее значение приобретают новые пептидные препараты, относящиеся к классу глипролинов. Они содержат в своем составе дипептид Gly-Pro, имеют повышенную метаболическую стабильность, участвуют в различных биологических процессах, включая провоспалительную хемоаттракцию нейтрофилов при заболеваниях легких, воспалительных заболеваниях кишечника или при ишемическом инсульте [45]. Одним из наиболее простых глипролинов является пептид PGP. В ряде работ было показано, что пептид PGP оказывает противоязвенное и противовоспалительное действие [46, 47]. На основе данного пептида получен ряд синтетических производных, которые проявляют активность в отношении широкого спектра патологических и стрессовых состояний [48–51].

Таким образом, регуляторные пептиды и лекарственные препараты, созданные на их основе, являются полифункциональными, способными влиять сразу на несколько физиологических функций, однако многие аспекты молекулярных механизмов их действия остаются неизвестными и требуют дальнейших исследований. Можно полагать, что значительный вклад в изучение молекулярных механизмов действия пептидных препаратов внесет транскриптомный анализ.

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИШЕМИИ

Острое снижение мозгового кровотока, вызывающее каскад патофизиологических и биохимических изменений, сопровождается немедленными реакциями генома в клетках мозга [18]. Реперфузия в сочетании с ишемическим повреждением также приводит к многочисленным нарушениям регуляции мРНК, участвующих в повреждении [52–54]. Технологии с использованием биочипов и высокопроизводительного секвенирования РНК (RNA-seq) пре-

доставили возможность изучения реакции всего генома на подобные повреждения [7, 52, 53].

В условиях tMCAO с помощью RNA-seq нами были обнаружены сотни генов, уровень экспрессии которых изменился в подкорковых структурах мозга крыс, содержащих зону некроза и пенумбру. Более четырехсот генов изменили экспрессию через 4,5 ч и в 4 раза больше — через 24 ч после tMCAO [7]. Сравнение дифференциально экспрессированных генов, выявленных в двух временных точках, позволило нам изучить динамику изменений содержания транскриптов в процессе развития повреждения. В подкорковых структурах мозга крыс в условиях ишемии/реперфузии была обнаружена активация огромного числа генов, участвующих в воспалении, иммунном ответе, апоптозе, в ответе на стресс, в функционировании рибосом, репликации ДНК и других процессах (*Hspa1a*, *Hspb1*, *Lrg1*, *Jun*, *Socs3*, *Cish*, *Cd14*, *Cd63*, *Cd74*, *Ccl6*, *Ccl9*, *Nfkb2* и др.) [7]. Наряду с этим было показано массивное угнетение генов, обеспечивающих работу нейротрансмиттерных систем (*Chrm1*, *Chrm4*, *Cplx2*, *Drd2*, *Gabra5*, *Gria3*, *Grm3*, *Htr6*, *Neurod6*, *Ntsr2*, *Drd1*, *Grm5* и др.), были выявлены десятки сигнальных путей, с функционированием которых связан ответ клеток мозга на повреждение [7]. Таким образом, анализ транскриптома дает новое понимание транскриптомных функциональных изменений генома в тканях мозга в ответ на ишемическое повреждение.

РОЛЬ ТРАНСКРИПТОМА В ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ ИШЕМИИ МОЗГА

Анализ транскриптома может являться одним из наиболее эффективных подходов в исследовании механизмов действия регуляторных пептидов и препаратов на их основе в норме и при различных физиологических и патологических состояниях. Основанием для этого служит представление о том, что при взаимодействии пептида с рецепторами на клеточной мембране сигнал передается по системе сигнальных путей (сAMP, PI3K, ERK и др.) в ядро клетки. Далее происходит активация транскрипционных факторов (*Fos*, *Jun*, *Steb* и др.) и инициация транскрипционного ответа клетки, связанного с эффектом пептида. Транскриптомные исследования действия регуляторных пептидов в значительной степени подтвердили эту гипотезу. Так, *Nori et al.* показали, что в условиях модели экспериментальной ишемии мозга, вызванной электрокоагуляционной окклюзией дистального участка средней мозговой артерии

(permanent middle cerebral artery occlusion model, pMCAO model), полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (PACAP), и продукт его деградации PACAP38 существенно модулировали экспрессию генов передачи нервного импульса (*Gabra6*), иммунного ответа (*Crtam*), а также генов семейства интерлейкинов. Авторами было сделано предположение, что PACAP активирует механизм защиты нейронов на ранней стадии ишемического повреждения [10].

Применение транскриптомного анализа позволило нам в условиях модели pMCAO существенно детализировать механизмы действия пептидного препарата семакс и его C-концевого пептида PGP. Анализ экспрессии более 22 000 генов с использованием микрочипов Illumina RatRef-12 Expression BeadChip позволил нам выявить изменение содержания транскриптов нескольких десятков генов, определяющих работу важнейших метаболических систем клеток мозга, связанных с функционированием семакса в условиях pMCAO [8, 9]. В первые часы после окклюзии под действием семакса было обнаружено существенное увеличение экспрессии генов транскрипционных факторов (*Fos*, *Junb*, *Egr2*, *Egr4*), белковые продукты которых запускают сигнальные пути, корректирующие деструктивные процессы при ишемии. Семакс оказал положительное воздействие на экспрессию генов факторов роста, участвующих в трофических и протективных процессах (*Bdnf*, *Nov*), в васкуляризации поврежденных тканей (*Cyr61*, *Atf3*, *Klf4*, *Adamts1*, *Nfil3*, *Ptgs2*, *Cox2* и др.). Введение семакса оказало существенное влияние на экспрессию генов, ассоциированных с процессами иммунного ответа. Спустя 24 ч после окклюзии было выявлено увеличение экспрессии генов, кодирующих иммуноглобулины, белки комплекса гистосовместимости (*RT1-Ba*, *RT1-A3*, *RT1-A1*), а также белки, участвующие в регуляции синтеза антител и миграции иммунных клеток [55, 56]. Нами также был проведен полногеномный анализ изменений транскриптома мозга крыс в условиях pMCAO под воздействием пептида PGP [55]. Поскольку пептид PGP является одним из преобладающих производных семакса в плазме крови и тканях мозга животных [57], то можно было ожидать, что наблюдаемые эффекты семакса и PGP будут схожи. Однако влияние PGP на экспрессию генов факторов роста лишь частично совпадало с действием семакса [58]. Было показано увеличение экспрессии генов, ответственных за процессы пролиферации, дифференцировки, миграции, выживаемости и гибели клеток (*Bdnf*, *Nos3*, *Nts*, *Ttr* и др.) [8, 56]. Однако под действием PGP, в отличие от семакса, была существенно снижена экспрессия генов, ассо-

цированных с функцией иммунного ответа (*Adora3*, *C1qa*, *C1qc*, *C2*, *Cd74*, *Cxcl1*, *Cxcl11*, *Cxcl13*, *Cxcl9* и др.) [8, 9, 55]. В число белков, кодируемых генами, экспрессия которых уменьшилась под действием PGP, вошли цитокины, транспортные белки, факторы транскрипции и трансмембранные рецепторы. Сравнительный анализ действия PGP и семакса в условиях рМСаО показал специфичность воздействия этих пептидов на транскриптом при ишемии. Таким образом, применение транскриптомного анализа позволяет выявить большее количество генов, которые связаны с протективным эффектом пептидов в условиях ишемии.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ нкРНК – НОВЫЕ МИШЕНИ В МЕХАНИЗМАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ И НЕЙРОПРОТЕКЦИИ

В настоящее время показано, что в ответе на патологическое и стрессовое воздействия участвуют не только мРНК, но и различные типы нкРНК, которые обладают значительным регуляторным потенциалом. Большое внимание исследователей уделяется сегодня изучению особенностей функционирования микроРНК и днРНК. Так, микроРНК представляют собой молекулы нкРНК длиной 20–22 нуклеотидов. Они действуют путем непосредственного взаимодействия с сайтами-мишенями на мРНК, которое приводит к деградации мРНК или репрессии ее трансляции [11]. В настоящее время активно развивается концепция, связанная с нивелированием действия микроРНК с помощью днРНК, выполняющих функции конкурентных эндогенных РНК (кэРНК). кэРНК конкурируют с мРНК за связывание с микроРНК и нивелируют действие последних на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях регуляции экспрессии генов [12]. В ряде последних работ отмечается, что эффективные кэРНК должны иметь множество сайтов связывания микроРНК, а также высокий уровень экспрессии или повышенную стабильность [12, 14].

На сегодняшний день имеются данные о том, что значительная часть днРНК существует в виде циклической формы [59–61]. ЦиклоРНК не подвергаются действию экзонуклеаз и вследствие своей повышенной устойчивости могут более эффективно играть роль кэРНК [13, 14]. Большинство циклоРНК человека и грызунов обладают мозгоспецифической экспрессией [13, 61, 62], что может указывать на их особые функции в мозге.

В последние годы активно изучаются особенности функционирования нкРНК в качестве

регуляторов в механизмах повреждения и нейропротекции [63]. В недавних исследованиях были выявлены микроРНК, вовлеченные в пост-ишемическое повреждение нейронов и тромбоз [64, 65], а также показано, что мРНК генов *HMGB1*, *YWHAZ*, *PIK3R1*, *STAT3*, *MAPK1*, *CBX5*, *CAPZB*, *THBS1*, *TNFRSF10B* и *RCOR1*, связанных с воспалением, свертыванием крови и активацией тромбоцитов, являются мишенями для микроРНК при инсульте [66]. Несколько обзоров посвящено использованию микроРНК в качестве диагностических и прогностических маркеров, а также возможных терапевтических агентов при инсульте [64–68].

В одной из последних работ Herzog et al. изучили роль стероидных гормонов 17 β -эстрадиола (E2) и прогестерона (P) в мозге в качестве регуляторных факторов для miR-223-3p, miR-200c-3p, miR-375-3p, miR-199-3p и miR-214-3p и их целевых генов при ишемии в условиях модели tMCAO [69]. Было показано, что упомянутые микроРНК демонстрировали увеличение уровня экспрессии через 12 или 72 ч после воздействия tMCAO. При этом E2 и P избирательно подавляли miR-223 и miR-214, но дополнительно повышали содержание miR-375. Интересно, что экспрессия генов *Nr2b* и *Gria2*, которые являются мишенями для miR-223, была снижена после воздействия tMCAO, а применение E2 и P отменяло этот эффект. Кроме того, стероидная терапия ингибировала индуцированное tMCAO увеличение экспрессии генов *Bcl-2* и *Rad1*, являющихся мишенями для miR-375. Таким образом, была показана роль E2 и P в качестве косвенных микроРНК-опосредованных регуляторов трансляции проапоптотических и провоспалительных генов. В результате функционирования E2 и P приводило к ослаблению ишемического повреждения ткани [69].

Bai et al. показали, что циклоРНК гена мембраносвязанной гуанилаткиназы *Dlgap4* (circDLGAP4) функционирует как «губка» для микроРНК, связывая их на себе и удаляя тем самым из клеточного пула. Ее нивелирующая активность для miR-143 приводит к ингибированию экспрессии гомологов E6-AP C-концевого домена E3 убиквитинлигазы 1 в условиях церебральной ишемии [16]. При этом уровень circDLGAP4 был значительно снижен даже в плазме пациентов с острым ишемическим инсультом, а также в условиях модели tMCAO в мозге у мышей. Было показано, что увеличение экспрессии circDLGAP4 значительно ослабляло неврологический дефицит, уменьшало размер ядра инфаркта и повреждение гематоэнцефалического барьера в модели инсульта у мышей. В работе Nan et al. (2018) также сообщается, что в

мозге мышей в условиях модели tMCAO, в клетках глиобластомы человека A172 в условиях кислородно-глюкозной депривации—реоксигенации (OGD-R) и в крови пациентов с ишемическим инсультом повышена экспрессия циклоРНК гена убиквитинлигазы, содержащей НЕСТ-домен, *Hectd1* (circNESTD1) [70]. Было показано, что circNESTD1 участвует в регуляции регенеративных механизмов клеток мозга при ишемии [63, 68].

РОЛЬ нкРНК В ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ МОЗГА

Некодирующие РНК могут также влиять на функционирование пептидов. Так, Shang et al. исследовали потенциальное участие микроРНК в эффекте инсулино-глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) на глюкозостимулированную секрецию [71]. Было показано, что GLP-1 увеличивает экспрессию miR-132 и miR-212 через протеинкиназа A/cAMP-зависимый путь в панкреатических β -клетках поджелудочной железы [71]. В работе Madadi et al. (2019) описана роль микроРНК в ингибировании трансляции мРНК, кодирующих ключевые белки путей транспорта β -амилоида из клетки, что способствует его накоплению при болезни Альцгеймера. Так, miR-34a и miR-29b ингибируют по меньшей мере три пути транспорта β -амилоида и могут быть в перспективе использованы для лечения болезни Альцгеймера [72].

Несмотря на то, что днРНК, в первую очередь циклоРНК, играют критическую роль в развитии и прогрессировании ишемического инсульта [15, 16], особенности их функционирования под действием пептидных препаратов остаются неясными. Однако в последнее время становится очевидным, что анализ системы взаимодействий циклоРНК—микроРНК—мРНК является важной составляющей для детального изучения механизмов повреждения и регенерации при патологическом или стрессовом состоянии и действии терапевтических средств, в т.ч. пептидной природы.

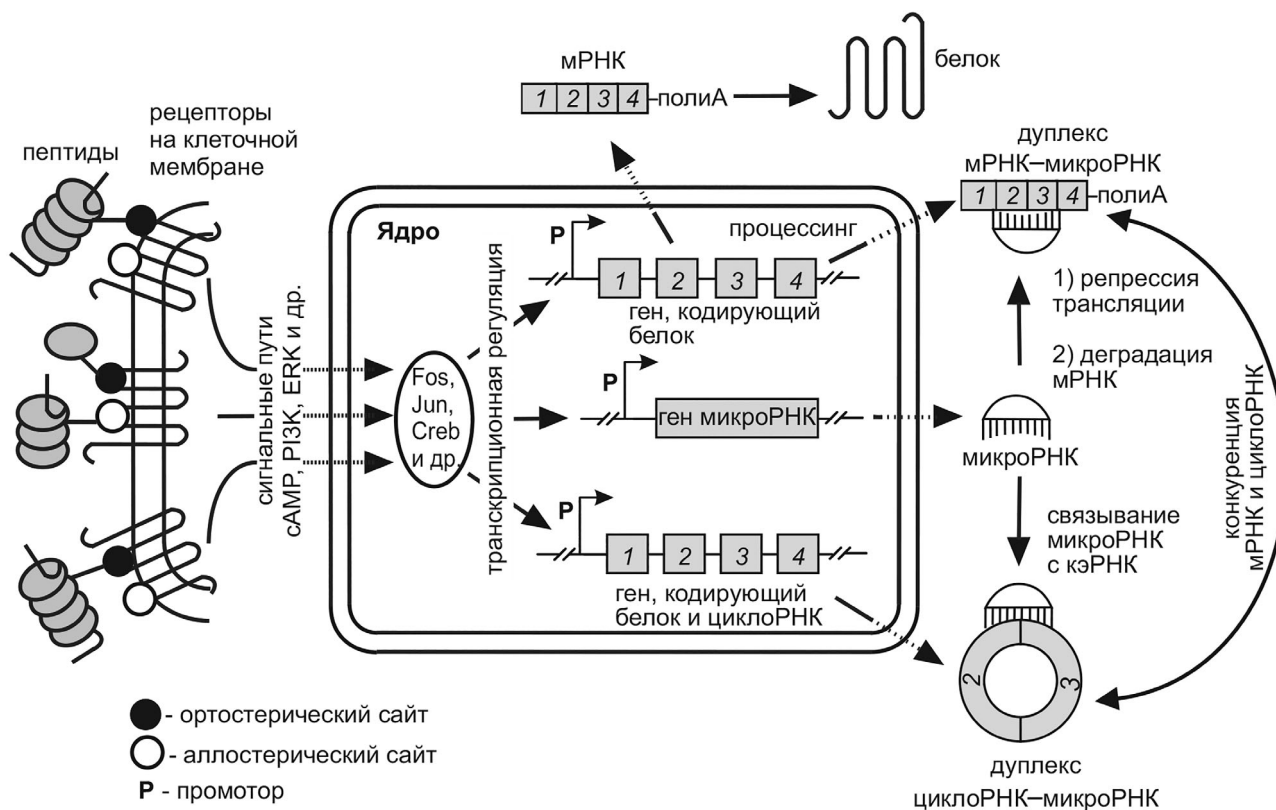
СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОВ В МОЗГЕ

Механизмы действия регуляторных пептидов обусловлены, по-видимому, их специфическими лиганд-рецепторными взаимодействиями на плазматических мембранах клеток-мишеней. Нейропептидные рецепторы, связанные с

G-белком (GPCR), составляют самое большое семейство рецепторов клеточной поверхности, которые опосредуют многочисленные пути передачи сигналов в клетках, участвуют в разнообразных физиологических процессах и являются мишенями, на которые нацелены лекарственные средства [73, 74]. Молекулярный механизм передачи сигналов семейства рецепторов GPCR изложен в ряде обзоров [75–77].

Недавние исследования показали, что механизмы функционирования пептидов могут не ограничиваться ортостерическим взаимодействием с рецепторами [78, 79]. Обнаружено, что один и тот же регуляторный пептид может иметь собственные высокоспецифичные места связывания на поверхности клетки, а также способен влиять на работу сразу нескольких рецепторных групп, относящихся к различным системам клеточной сигнализации [80, 81]. Экспериментальные данные по специфическому связыванию пептидов позволили выдвинуть предположение об аллостерическом действии пептидов на различные рецепторные системы. Аллостерическое связывание приводит к изменению влияния эндогенных ортостерических лигандов на рецептор и специфическим ответам клеток [82]. Это предположение объясняет полифункциональность пептидов, а также специфичность и «мягкость» их действия.

Чтобы объяснить множественное влияние пептидов на межмолекулярные процессы, была предложена гипотеза, согласно которой в основе действия регуляторных пептидов лежит синактонный механизм [82]. Суть механизма заключается в том, что помимо самого пептида можно выделить функциональное ядро, представленное основными продуктами его метаболизма. Эти вторичные пептиды могут иметь свои собственные сайты связывания и вместе с родительским пептидом составлять единый комплекс биорегуляторов, действующих в определенной последовательности и во взаимодействии, — синактон. В частности, примером синактонного механизма является действие семакса. В общем пуле его метаболитов, который включает продукты расщепления родительской молекулы, можно выделить функциональное ядро, представленное пептидами HFPGP и RGP — основными продуктами его метаболизма. Эффект пептидов, которые действуют в синактоне, значительно расширяет регуляторный потенциал исходной молекулы. В результате, помимо ортостерического связывания, наблюдается аллостерическое взаимодействие с различными типами рецепторов, что указывает на множественный (плейотропный) характер действия пептидов.



Модель пептидной регуляции с участием некодирующих РНК в мозге. Экзоны показаны пронумерованными блоками, интроны – линиями, соединяющими экзоны

С учетом вышеизложенных данных мы предлагаем модель пептидной регуляции в мозге с участием нкРНК на основе известных механизмов их функционирования (рисунок). При взаимодействии пептида с рецептором на мембране сигнал передается в ядро клетки по системе сигнальных путей. Активация транскрипционных факторов приводит к транскрипции генов, направляющих синтез мРНК, микроРНК и циклоРНК. Численность активных мРНК, способных обеспечивать синтез белка, регулируется взаимодействием кэРНК циклической природы с микроРНК и удалением последних из клеточного пула. Таким образом, действие пептидов на транскриптом может быть обусловлено системой взаимодействий циклоРНК-микроРНК-мРНК, которая, в конечном итоге, может приводить клетки мозга в иное функциональное состояние. Изучение данной системы взаимодействий позволит сформулировать основные принципы пептидной регуляции и на основе этого определить новые подходы для дальнейшей разработки препаратов направленного нейропротективного действия.

В современном мире церебральная ишемия является одной из главных угроз для здоровья

человека. В борьбе с ишемией большие надежды возлагаются на новые препараты пептидной природы, которые обладают широким спектром действия и минимальным побочным воздействием на организм. Обзор экспериментальных данных свидетельствует о том, что большое число пептидов обладает нейропротективными полифункциональными свойствами, однако многие аспекты молекулярных механизмов их действия, а также метаболические звенья и возможные мишени зачастую остаются неизвестными и требуют дальнейших исследований. В формировании физиологических ответов пептидов существенное значение имеет регуляция на уровне транскриптома. Важную роль в регулировании внутриклеточных процессов помимо мРНК играют нкРНК, среди которых особый интерес представляют микроРНК и циклоРНК. В настоящее время роль нкРНК в пептидной регуляции в мозге остается недостаточно изученной. Однако становится очевидным, что изучение механизмов действия терапевтических средств, в т.ч. пептидной природы, а также определение стратегии в достижении нейропротективного эффекта препаратов невозможно без учета вклада нкРНК.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00268).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ашмарин И.П., Ляпина Л.А., Пасторова В.Е. (1996) Модуляция гемостатических реакций *in vitro* и *in vivo* представителями семейств регуляторных пептидов, *Вестник Российской академии медицинских наук*, **6**, 50–57.
2. Snyder, S. (1980) Brain peptides as neurotransmitters, *Science*, **209**, 976–983, doi: 10.1126/science.6157191.
3. Hoyer, D., and Bartfai, T. (2012) Neuropeptides and neuropeptide receptors: drug targets, and peptide and non-peptide ligands: a tribute to Prof. Dieter Seebach, *Chem. Biodivers.*, **9**, 2367–2387, doi: 10.1002/cbdv.201200288.
4. Kalara, R.N., and Ballard, C. (2001) Stroke and cognition, *Curr. Atheroscler. Rep.*, **3**, 334–339, doi: 10.1007/s11883-001-0028-5.
5. Seshadri, S., Beiser, A., Kelly-Hayes, M., Kase, C.S., Au, R., Kannel, W.B., and Wolf, P.A. (2006) The lifetime risk of stroke: estimates from the Framingham Study, *Stroke*, **37**, 345–350, doi: 10.1161/01.STR.0000199613.38911.b2.
6. Mukherjee, D., and Patil, C.G. (2011) Epidemiology and the global burden of stroke, *World Neurosurg.*, **76**, S85–S90, doi: 10.1016/j.wneu.2011.07.023.
7. Dergunova, L.V., Filippenkov, I.B., Stavchansky, V.V., Denisova, A.E., Yuzhakov, V.V., Mozerov, S.A., Gubsky, L.V., and Limborska, S.A. (2018) Genome-wide transcriptome analysis using RNA-Seq reveals a large number of differentially expressed genes in a transient MCAO rat model, *BMC Genomics*, **19**, 655, doi: 10.1186/s12864-018-5039-5.
8. Medvedeva, E.V., Dmitrieva, V.G., Povarova, O.V., Limborska, S.A., Skvortsova, V.I., Myasoedov, N.F., and Dergunova, L.V. (2014) The peptide semax affects the expression of genes related to the immune and vascular systems in rat brain focal ischemia: genome-wide transcriptional analysis, *BMC Genomics*, **15**, 228, doi: 10.1186/1471-2164-15-228.
9. Medvedeva, E.V., Dmitrieva, V.G., Limborska, S.A., Myasoedov, N.F., and Dergunova, L.V. (2017) Semax, an analog of ACTH₍₄₋₇₎, regulates expression of immune response genes during ischemic brain injury in rats, *Mol. Genet. Genomics*, **292**, 635–653, doi: 10.1007/s00438-017-1297-1.
10. Hori, M., Nakamachi, T., Shibato, J., Rakwal, R., Shioda, S., and Numazawa, S. (2015) Unraveling the specific ischemic core and penumbra transcriptome in the permanent middle cerebral artery occlusion mouse model brain treated with the neuropeptide PACAP38, *Microarrays*, **4**, 2–24, doi: 10.3390/microarrays4010002.
11. Bartel, D.P. (2009) MicroRNAs: target recognition and regulatory functions, *Cell*, **136**, 215–233, doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
12. Broderick, J.A., and Zamore, P.D. (2014) Competitive endogenous RNAs cannot alter microRNA function *in vivo*, *Mol. Cell*, **54**, 711–713, doi: 10.1016/j.molcel.2014.05.023.
13. Hansen, T.B., Jensen, T.I., Clausen, B.H., Bramsen, J.B., Finsen, B., Damgaard, C.K., and Kjems, J. (2013) Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges, *Nature*, **495**, 384–388, doi: 10.1038/nature11993.
14. Denzler, R., Agarwal, V., Stefano, J., Bartel, D.P., and Stoffel, M. (2014) Assessing the ceRNA hypothesis with quantitative measurements of miRNA and target abundance, *Mol. Cell*, **54**, 766–776, doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.045.
15. Saugstad, J.A. (2015) Non-coding RNAs in stroke and neuroprotection, *Front. Neurol.*, **6**, 50, doi: 10.3389/fneur.2015.00050.
16. Bai, Y., Zhang, Y., Han, B., Yang, L., Chen, X., Huang, R., Wu, F., Chao, J., Liu, P., Hu, G., Zhang, J.H., and Yao, H. (2018) Circular RNA DLGAP4 ameliorates ischemic stroke outcomes by targeting miR-143 to regulate endothelial-mesenchymal transition associated with blood-brain barrier integrity, *J. Neurosci.*, **38**, 32–50, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1348-17.2017.
17. Pellegrini-Giampietro, D.E., Bennett, M.V., and Zukin, R.S. (1992) Are Ca²⁺-permeable kainate/AMPA receptors more abundant in immature brain? *Neurosci. Lett.*, **144**, 65–69, doi: 10.1016/0304-3940(92)90717-1.
18. Гусев Е.И., Скворцова В.И. (2001) *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва.
19. Wu, D., Wang, J., Wang, H., Ji, A., and Li, Y. (2017) Protective roles of bioactive peptides during ischemia-reperfusion injury: from bench to bedside. *Life Sci.*, **180**, 83–92, doi: 10.1016/j.lfs.2017.05.014.
20. Miyazaki, T., Otani, K., Chiba, A., Nishimura, H., Tokudome, T., Takano-Watanabe, H., Matsuo, A., Ishikawa, H., Shimamoto, K., Fukui, H., Kanai, Y., Yasoda, A., Ogata, S., Nishimura, K., Minamino, N., and Mochizuki, N. (2018) A new secretory peptide of natriuretic peptide family, osteocrin, suppresses the progression of congestive heart failure after myocardial infarction, *Circ. Res.*, **122**, 742–751, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312624.
21. Zhang, H.Y., Li, J., Guo, N., and Zhang, B.Y. (2019) Brain functions and unusual β -amyloid accumulation in the hypertensive white matter lesions of rats, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, **33**, 1073–1084.
22. Martins, A.H., Zayas-Santiago, A., Ferrer-Acosta, Y., Martinez-Jimenez, S.M., Zueva, L., Diaz-Garcia, A., and Inyushin, M. (2019) Accumulation of amyloid beta (A β) peptide on blood vessel walls in the damaged brain after transient middle cerebral artery occlusion, *Biomolecules*, **9**, 350, doi: 10.3390/biom9080350.
23. Guo, S., Barringer, F., Zois, N.E., Goetze, J.P., and Ashina, M. (2014) Natriuretic peptides and cerebral hemodynamics, *Regul. Pept.*, **192–193**, 15–23, doi: 10.1016/j.regpep.2014.07.003.
24. James, M.L., Wang, H., Venkatraman, T., Song, P., Lascola, C.D., and Laskowitz, D.T. (2010) Brain natriuretic peptide improves long-term functional recovery after acute CNS injury in mice, *J. Neurotrauma*, **27**, 217–228, doi: 10.1089/neu.2009.1022.
25. Liu, Z., Liu, Q., Cai, H., Xu, C., Liu, G., and Li, Z. (2011) Calcitonin gene-related peptide prevents blood-brain barrier injury and brain edema induced by focal cerebral ischemia reperfusion, *Regul. Pept.*, **171**, 19–25, doi: 10.1016/j.regpep.2011.05.014.
26. Huang, Q., Zhong, W., Hu, Z., and Tang, X. (2018) A review of the role of cav-1 in neuropathology and neural recovery after ischemic stroke, *J. Neuroinflammation*, **15**, 348, doi: 10.1186/s12974-018-1387-y.

27. Wang, Y.F., and Parpura, V. (2018) Astroglial modulation of hydromineral balance and cerebral edema, *Front. Mol. Neurosci.*, **11**, 204, doi: 10.3389/fnmol.2018.00204.
28. Jia, S.W., Liu, X.Y., Wang, S.C., and Wang, Y.F. (2016) Vasopressin hypersecretion-associated brain edema formation in ischemic stroke: underlying mechanisms, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **25**, 1289–1300, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.02.002.
29. Waschek, J.A. (2013) VIP and PACAP: neuropeptide modulators of CNS inflammation, injury, and repair, *Br. J. Pharmacol.*, **169**, 512–523, doi: 10.1111/bph.12181.
30. Lakhan, S.E., Kirchgessner, A., and Hofer, M. (2009) Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches, *J. Transl. Med.*, **7**, 97, doi: 10.1186/1479-5876-7-97.
31. La, M., Taylor, A., D'Amico, M., Flower, R.J., and Perretti, M. (2001) Analysis of the protection afforded by annexin 1 in ischaemia–reperfusion injury: focus on neutrophil recruitment, *Eur. J. Pharmacol.*, **429**, 263–278, doi: 10.1016/S0014-2999(01)01325-5.
32. Wang, M., Wang, J., Liu, Z., Guo, X., Wang, N., Jia, N., Zhang, Y., and Yuan, J. (2018) Effects of intermedin on autophagy in cerebral ischemia/reperfusion injury, *Neuropeptides*, **68**, 15–21, doi: 10.1016/j.npep.2017.10.004.
33. Ji, B., Cheng, B., Pan, Y., Wang, C., Chen, J., and Bai, B. (2017) Neuroprotection of bradykinin/bradykinin B2 receptor system in cerebral ischemia, *Biomed. Pharmacother.*, **94**, 1057–1063, doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.042.
34. Li, M., Chen, S., Shi, X., Lyu, C., Zhang, Y., Tan, M., Wang, C., Zang, N., Liu, X., Hu, Y., Shen, J., Zhou, L., and Gu, Y. (2018) Cell permeable HMGB1-binding heptamer peptide ameliorates neurovascular complications associated with thrombolytic therapy in rats with transient ischemic stroke, *J. Neuroinflammation*, **15**, 237, doi: 10.1186/s12974-018-1267-5.
35. De Wied, D. (1999) Behavioral pharmacology of neuropeptides related to melanocortins and the neurohypophysal hormones, *Eur. J. Pharmacol.*, **375**, 1–11, doi: 10.1016/s0014-2999(99)00339-8.
36. Catania, A., Gatti, S., Colombo, G., and Lipton, J.M. (2004) Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation, *Pharmacol. Rev.*, **56**, 1–29, doi: 10.1124/pr.56.1.1.
37. Giuliani, D., Ottani, A., Neri, L., Zaffe, D., Grieco, P., Jochem, J., Cavallini, G.M., Catania, A., and Guarini, S. (2017) Multiple beneficial effects of melanocortin MC4 receptor agonists in experimental neurodegenerative disorders: therapeutic perspectives, *Prog. Neurobiol.*, **148**, 40–56, doi: 10.1016/j.pneurobio.2016.11.004.
38. Lisak, R.P., and Benjamins, J.A. (2017) Melanocortins, melanocortin receptors and multiple sclerosis, *Brain Sci.*, **7**, 104, doi: 10.3390/brainsci7080104.
39. Mykicky, N., Herrmann, A.M., Schwab, N., Deenen, R., Sparwasser, T., Limmer, A., Wachsmuth, L., Klotz, L., Kohrer, K., Faber, C., Wiendl, H., Luger, T.A., Meuth, S.G., and Loser, K. (2016) Melanocortin-1 receptor activation is neuroprotective in mouse models of neuroinflammatory disease, *Sci. Transl. Med.*, **8**, 362ra146, doi: 10.1126/scitranslmed.aaf8732.
40. Giuliani, D., Minutoli, L., Ottani, A., Spaccapelo, L., Bitto, A., Galantucci, M., Altavilla, D., Squadrito, F., and Guarini, S. (2012) Melanocortins as potential therapeutic agents in severe hypoxic conditions, *Front. Neuroendocrinol.*, **33**, 179–193, doi: 10.1016/j.yfrne.2012.04.001.
41. De Wied, D. (1997) Neuropeptides in learning and memory processes, *Behav. Brain Res.*, **83**, 83–90, doi: 10.1016/s0166-4328(97)86050-0.
42. Grivennikov, I.A., Dolotov, O.V., and Gol'dina, I.I. (1999) Peptide factors in processes of proliferation, differentiation, and extended viability of mammalian nervous system cells, *Mol. Biol. (Mosk.)*, **33**, 120–126.
43. Kolomin, T., Shadrina, M., Slominsky, P., Limborska, S., and Myasoedov, N. (2013) A new generation of drugs: synthetic peptides based on natural regulatory peptides, *Neurosci. Med.*, **4**, 223–252, doi: 10.4236/nm.2013.44035.
44. Romanova, G.A., Silachev, D.N., Shakova, F.M., Kvashennikova, Y.N., Viktorov, I.V., Shram, S.I., and Myasoedov, N.F. (2006) Neuroprotective and antiapoptotic effects of Semax during experimental ischemic infarction of the cerebral cortex, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **142**, 663–666, doi: 10.1007/s10517-006-0445-0.
45. Misiura, M., and Milytyk, W. (2019) Proline-containing peptides – new insight and implications: a review, *Biofactors*, **45**, 857–866, doi: 10.1002/biof.1554.
46. Бондаренко Н.С., Шнейдерман А.Н., Гусева А.А., Умарова Б.А. (2017) Пептид пролил–глицил–пролин (PGP) препятствует повышению проницаемости кровеносных сосудов при воспалении, *Acta Naturae*, **1**, 55–59.
47. Безуглов В.В., Грецкая Н.М., Васильева Т.М., Петрухина Г.Н., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Макаров В.А. (2014) Антиагрегационная активность конъюгатов арахионовой кислоты и нейротропных пептидов проглипрола и семакса, *Экспериментальная и клиническая фармакология*, **77**, 30–32.
48. Мясоедов Н.Ф., Рочев Д.Л., Ляпина Л.А., Оберган Т.Ю., Андреева Л.А. (2013) Лейцинсодержащие глипролины (PRO-GLY-PRO-LEU и LEU-PRO-GLY-PRO): участие в реакциях гемостаза *in vitro* и *in vivo* в условиях нарушений процессов свертывания крови и жирового обмена у крыс, *Доклады Академии наук*, **453**, 457–460.
49. Ляпина Л.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А., Ульянов А.М., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Пасторова В.Е. (2010) Фибринолитический и гипогликемический эффекты пептида Pro-Gly-Pro-Leu при развитии инсулинзависимого диабета у крыс, *Известия РАН Сер. биол.*, **3**, 375–379.
50. Ashmarin, I.P., Samonina, G.E., Lyapina, L.A., Kamenskii, A.A., Levitskaya, N.G., Grivennikov, I.A., Dolotov, O.V., Andreeva, L.A., and Myasoedov, N.F. (2005). Natural and hybrid (“chimeric”) stable regulatory glyproline peptides, *Pathophysiology*, **11**, 179–185, doi: 10.1016/j.pathophys.2004.10.001.
51. Filatova, E., Kasian, A., Kolomin, T., Rybalkina, E., Alieva, A., Andreeva, L., Limborska, S., Myasoedov, N., Pavlova, G., Slominsky, P., and Shadrina, M. (2017) GABA, Selank, and olanzapine affect the expression of genes involved in GABAergic neurotransmission in IMR-32 cells, *Front. Pharmacol.*, **8**, 89, doi: 10.3389/fphar.2017.00089.
52. Ford, G., Xu, Z., Gates, A., Jiang, J., and Ford, B.D. (2006) Expression analysis systematic explorer (EASE) analysis reveals differential gene expression in permanent and transient focal stroke rat models, *Brain Res.*, **1071**, 226–236, doi: 10.1016/j.brainres.2005.11.090.
53. Wang, C., Liu, M., Pan, Y., Bai, B., and Chen, J. (2017) Global gene expression profile of cerebral ischemia–reperfusion injury in rat MCAO model, *Oncotarget*, **8**, 74607–74622, doi: 10.18632/oncotarget.20253.
54. DeGracia, D.J. (2017) Regulation of mRNA following brain ischemia and reperfusion, *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **8**, 4, doi: 10.1002/wrna.1415.
55. Медведева Е.В., Дмитриева В.Г., Поварова О.В., Лимборская С.А., Скворцова В.И., Мясоедов Н.Ф., Дергунова Л.В. (2014) Трипептид Pro-Gly-Pro влияет на транскриптом коры головного мозга крыс в условиях фокальной ишемии, *Молекулярная биология*, **48**, 277–287.

56. Medvedeva, E.V., Dmitrieva, V.G., Povarova, O.V., Limborska, S.A., Skvortsova, V.I., Myasoedov, N.F., and Dergunova, L.V. (2013) Effect of semax and its C-terminal fragment Pro-Gly-Pro on the expression of VEGF family genes and their receptors in experimental focal ischemia of the rat brain, *J. Mol. Neurosci.*, **49**, 328–333, doi: 10.1007/s12031-012-9853-y.
57. Dolotov, O.V., Zolotarev, I.A., Dorokhova, E.M., Andreeva, L.A., Alfeeva, L.I., Grivennikov, I.A., and Miasoedov, N.F. (2004) The binding of Semax, АСТН 4-10 heptapeptide, to plasma membranes of the rat forebrain basal nuclei and its biodegradation, *Bioorg. Khim.*, **30**, 241–246, doi: 10.1023/b:rubi.0000030127.46845.f0.
58. Дмитриева В.Г., Дергунова Л.В., Поварова О.В., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф. (2008) Действие семакса и его С-концевого трипептида РРР на экспрессию генов факторов роста и их рецепторов в условиях экспериментальной ишемии мозга крыс, *Доклады Академии наук*, **422**, 258–261.
59. Lasda, E., and Parker, R. (2014) Circular RNAs: diversity of form and function, *RNA*, **20**, 1829–1842, doi: 10.1261/rna.047126.114.
60. Filippenkov, I.B., Kalinichenko, E.O., Limborska, S.A., and Dergunova, L.V. (2017) Circular RNAs – one of the enigmas of the brain, *Neurogenetics*, **18**, 1–6, doi: 10.1007/s10048-016-0490-4.
61. Filippenkov, I.B., Sudarkina, O.Y., Limborska, S.A., and Dergunova, L.V. (2015) Circular RNA of the human sphingomyelin synthase 1 gene: multiple splice variants, evolutionary conservatism and expression in different tissues, *RNA Biol.*, **12**, 1030–1042, doi: 10.1080/15476286.2015.1076611.
62. Rybak-Wolf, A., Stottmeister, C., Glazar, P., Jens, M., Pino, N., Giusti, S., Hanan, M., Behm, M., Bartok, O., Ashwal-Fluss, R., Herzog, M., Schreyer, L., Papavasileiou, P., Ivanov, A., Ohman, M., Refojo, D., Kadener, S., and Rajewsky, N. (2015) Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed, *Mol. Cell*, **58**, 870–885, doi: 10.1016/j.molcel.2015.03.027.
63. Heydari, E., Alishahi, M., Ghaedrahmati, F., Winlow, W., Khoshnam, S.E., and Anbiyaiee, A. (2019) The role of non-coding RNAs in neuroprotection and angiogenesis following ischemic stroke, *Metab. Brain Dis.*, doi: 10.1007/s11011-019-00485-2.
64. He, W., Chen, S., Chen, X., Li, S., and Chen, W. (2016) Bioinformatic analysis of potential microRNAs in ischemic stroke, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **25**, 1753–1759, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.03.023.
65. Dewdney, B., Trollope, A., Moxon, J., Thomas Manapathe, D., Biros, E., and Golledge, J. (2018) Circulating microRNAs as biomarkers for acute ischemic stroke: a systematic review, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **27**, 522–530, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.058.
66. Eyileten, C., Wicik, Z., De Rosa, S., Mirowska-Guzel, D., Soplinska, A., Indolfi, C., Jastrzebska-Kurkowska, I., Czlonkowska, A., and Postula, M. (2018) MicroRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers in ischemic stroke – a comprehensive review and bioinformatic analysis, *Cells*, **7**, 249, doi: 10.3390/cells7120249.
67. Khoshnam, S.E., Winlow, W., Farbood, Y., Moghaddam, H.F., and Farzaneh, M. (2017) Emerging roles of microRNAs in ischemic stroke: as possible therapeutic agents, *J. Stroke*, **19**, 166–187, doi: 10.5853/jos.2016.01368.
68. Wang, S.W., Liu, Z., and Shi, Z.S. (2018) Non-coding RNA in acute ischemic stroke: mechanisms, biomarkers and therapeutic targets, *Cell Transplant.*, **27**, 1763–1777, doi: 10.1177/0963689718806818.
69. Herzog, R., Zendedel, A., Lammerding, L., Beyer, C., and Slowik, A. (2017) Impact of 17 β -estradiol and progesterone on inflammatory and apoptotic microRNA expression after ischemia in a rat model, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **167**, 126–134, doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.11.018.
70. Han, B., Zhang, Yuan, Zhang, Yanhong, Bai, Y., Chen, X., Huang, R., Wu, F., Leng, S., Chao, J., Zhang, J.H., Hu, G., and Yao, H. (2018) Novel insight into circular RNA *HECTD1* in astrocyte activation via autophagy by targeting *MIR142-TIPARP*: implications for cerebral ischemic stroke, *Autophagy*, **14**, 1164–1184, doi: 10.1080/15548627.2018.1458173.
71. Shang, J., Li, J., Keller, M.P., Hohmeier, H.E., Wang, Y., Feng, Y., Zhou, H.H., Shen, X., Rabaglia, M., Soni, M., Attie, A.D., Newgard, C.B., Thornberry, N.A., Howard, A.D., and Zhou, Y.P. (2015) Induction of miR-132 and miR-212 expression by glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in rodent and human pancreatic β -cells, *Mol. Endocrinol.*, **29**, 1243–1253, doi: 10.1210/me.2014-1335.
72. Madadi, S., Schwarzenbach, H., Saidijam, M., Mahjub, R., and Soleimani, M. (2019) Potential microRNA-related targets in clearance pathways of amyloid- β : novel therapeutic approach for the treatment of Alzheimer’s disease, *Cell Biosci.*, **9**, 91, doi: 10.1186/s13578-019-0354-3.
73. Edward Zhou, X., Melcher, K., and Eric Xu, H. (2019) Structural biology of G protein-coupled receptor signaling complexes, *Protein Sci.*, **28**, 487–501, doi: 10.1002/pro.3526.
74. Левченко М.Е., Поройков В.В., Канехиса М. (2004) Пептидные рецепторы, сопряженные с G-белками, и их эндогенные лиганды в геноме человека, *Биомедицинская химия*, **50**, 149–158.
75. Duc, N.M., Kim, H.R., and Chung, K.Y. (2015) Structural mechanism of G protein activation by G protein-coupled receptor, *Eur. J. Pharmacol.*, **763**, 214–222, doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.016.
76. Culhane, K.J., Liu, Y., Cai, Y., and Yan, E.C. (2015) Transmembrane signal transduction by peptide hormones via family B G protein-coupled receptors, *Front. Pharmacol.*, **6**, 264, doi: 10.3389/fphar.2015.00264.
77. Lohse, M.J., Maiellaro, I., and Calebiro, D. (2014) Kinetics and mechanism of G protein-coupled receptor activation, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **27**, 87–93, doi: 10.1016/j.ccb.2013.11.009.
78. Vyunova, T.V., Andreeva, L., Shevchenko, K., and Myasoedov, N. (2018) Peptide-based anxiolytics: the molecular aspects of heptapeptide Selank biological activity, *Protein. Pept. Lett.*, **25**, 914–923, doi: 10.2174/0929866525666180925144642.
79. Lee, S.M., Hay, D.L., and Pioszak, A.A. (2016) Calcitonin and amylin receptor peptide interaction mechanisms: insights into peptide-binding modes and allosteric modulation of the calcitonin receptor by receptor activity-modifying proteins, *J. Biol. Chem.*, **291**, 8686–8700, doi: 10.1074/jbc.M115.713628.
80. Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Бобров М.Ю., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. (2018) Взаимодействие трипептида Pro-Gly-Pro, меченного по С-концевому остатку пролина, с плазматическими мембранами мозга крыс, *Доклады Академии наук*, **419**, 136–137, doi: 10.1017/SBO9781107415324.004.
81. Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Бобров М.Ю., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. (2014) Особенности специфического связывания пентапептида НРРРР, меченного по С-концевому остатку пролина, с плазматическими мембранами нервных клеток головного мозга крысы, *Доклады Академии наук*, **456**, 490–493, doi: 10.7868/s0869565214160312.
82. Vyunova, T.V., Andreeva, L.A., Shevchenko, K.V., and Myasoedov, N.F. (2017) Synacton and individual activity of synthetic and natural corticotropins, *J. Mol. Recognit.*, **30**, e2597, doi: 10.1002/jmr.2597.

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF PEPTIDES IN THE BRAIN: TRANSCRIPTOME APPROACH

Review

I. B. Filippenkov*, L. V. Dergunova, S. A. Limborska, and N. F. Myasoedov

Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, 123182 Moscow, Russia; E-mail: Filippenkov@img.ras.ru

Received December 5, 2019

Revised December 5, 2019

Accepted December 11, 2019

The importance of studying the action mechanisms of drugs based on natural regulatory peptides is commonly recognized. Particular attention is paid to the peptide drugs that contribute to the restoration of brain functions after acute cerebrovascular accidents (stroke), which for many years continues to be one of the main problems and threats to human health. However, molecular genetic changes in the brain in response to ischemia, as well as the mechanisms of protective effects of peptides, have not been sufficiently studied. This limits the use of neuroprotective peptides and makes it difficult to develop new, more efficient drugs with targeted action on brain functions. Transcriptome analysis is a promising approach for studying the mechanisms of the damaging effects of cerebral ischemia and neuroprotective action of peptide drugs. Beside investigating the role of mRNAs in protein synthesis, the development of new neuroprotection strategies requires studying the involvement of regulatory RNAs in ischemia. Of greatest interest are microRNAs (miRNAs) and circular RNAs (circRNAs), which are expressed predominantly in the brain. CircRNAs can interact with miRNAs and diminish their activity, thereby inhibiting miRNA-mediated repression of mRNAs. It has become apparent that analysis of the circRNA/miRNA/mRNA system is essential for deciphering the mechanisms of brain damage and repair. Here, we present the results of studies on the ischemia-induced changes in the activity of genes and peptide-mediated alterations in the transcriptome profiles in experimental ischemia and formulate the basic principles of peptide regulation in the ischemia-induced damage.

Keywords: transcriptomics, regulatory peptides, brain ischemia, mRNA, non-coding RNA, microRNA, circular RNA