



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-203-7-21-30>

Гепатопротекторные пептиды препарата Лаеннек*

Торшин И. Ю.¹, Громова О. А.¹, Тихонова О. В.², Згода В. Г.²

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук, Институт фармакоинформатики, Москва, Россия 119333, Москва, ул. Вавилова, 44, корп. 2

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича», Москва, Россия 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8

Для цитирования: Торшин И. Ю., Громова О. А., Тихонова О. В., Згода В. Г. Гепатопротекторные пептиды препарата Лаеннек. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;203(7): 21–30. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-21-30

✉ Для переписки:

Громова

Ольга Алексеевна

unesco.gromova

@gmail.com

Торшин Иван Юрьевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, научный руководитель

Тихонова О. В., к.б.н.

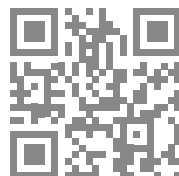
Згода Виктор Гаврилович, д.б.н.

Резюме

* Иллюстрации
к статье –
на цветной
вклейке в журнал
(стр. I–II).

Гидролизаты плаценты человека (ГПЧ) отличаются выраженным гепатопротекторным действием, молекулярные механизмы которого недостаточно изучены. В результате масс-спектрометрического *de novo* секвенирования и биоинформационного анализа пептидов в составе препарата ГПЧ «Лаеннек» было найдено 27 пептидов, которые (1) поддерживают инозитолфосфат-зависимые сигнальные пути гепатоцитов, (2) активируют таргетные белки RARA, AMPK и (3) ингибируют таргетные белки Notch1, GSK-3, PAK1 и TLR4. Проявляя противовоспалительные, антифибротические, вазодилаторные, антиатеросклеротические и антидиабетические свойства, эти пептиды могут вносить существенный вклад в гепатопротекторные свойства ГПЧ.

EDN: XZNEYJ



Ключевые слова: гепатопротекция, стандартизированные гидролизаты плаценты человека, полипептидный состав, биоинформатика, хемоинформатика, Лаеннек

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-203-7-21-30>

Hepatoprotective peptides of the drug Laennec*

I. Yu. Torshin¹, O. A. Gromova¹, V. G. Zgoda², O. V. Tikhonova²¹ Federal Research Center "Informatics and Management", Russian Academy of Sciences, build. 44, Vavilov St., Build. 2, Moscow, 119333, Russia² V. N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, 10, Pogodinskaya St., Build. 8, Moscow, 119121, Russia

For citation: Torshin I. Yu., Gromova O. A., Zgoda V. G., Tikhonova O. V. Hepatoprotective peptides of the drug Laennec. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;203(7): 21–30. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-21-30

✉ *Corresponding author:*

Olga A. Gromova
unesco.gromova@gmail.com

Ivan Yu. Torshin, PhD in Chemistry, senior research fellow at the Institute of Pharmacoinformatics; *ORCID: 0000-0002-2659-7998*
Olga A. Gromova, MD, PhD, DSc, professor, leading research fellow, research director of the Institute of Pharmacoinformatics; *ORCID: 0000-0002-7663-710X*
Viktor G. Zgoda, Dr. Biol. Sc.; *ORCID: 0000-0002-4532-4274, Researcher ID: F-1791-2017, Scopus Author ID: 6602917155*
Olga V. Tikhonova, PhD (Biol.); *ORCID: 0000-0002-2810-566X; Researcher ID: F-5115-2017, Scopus Author ID: 57189102*

Summary

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal (p. I–II).

Human placenta hydrolysates (HPH) have a pronounced hepatoprotective effect, the molecular mechanisms of which are not well understood. As a result of de novo mass spectrometric sequencing and bioinformatics analysis of peptides, 27 peptides were found in the Laennec HPP preparation, which (1) support inositol phosphate-dependent signaling pathways of hepatocytes, (2) activate the target proteins RARA, AMPK, and (3) inhibit target proteins Notch1, GSK-3, PAK1 and TLR4. By exhibiting anti-inflammatory, antifibrotic, vasodilatory, antiatherosclerotic, and antidiabetic properties, these peptides can make a significant contribution to the hepatoprotective properties of HLP.

Keywords: hepatoprotection, standardized human placenta hydrolysates, polypeptide composition, bioinformatics, chemoinformatics, Laennec

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Гиперкалорийная диета с избытком простых сахаров и насыщенных жиров, характерная для современного массового питания, стимулирует развитие метаболических нарушений. Сочетание гипергликемии, гиперлипидемии, гиподинамии, экотоксикантов и хронического воспаления приводит к развитию инсулинрезистентности, ожирения, метаболического синдрома, которые связаны с формированием стеатогепатоза и других заболеваний печени.

Неалкогольный стеатогепатоз или неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) ассоциирована с метаболическим синдромом, включающим висцеральное ожирение, инсулинорезистентность, дислипидемию и артериальную гипертензию [1]. Распространенность НАЖБП оценивается в 25% населения Земли. НАЖБП является прогрессирующим заболеванием, приводящее к различным осложнениям (цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома) и увеличению смертности. В 2019 году, предполагаемые прямые медицинские расходы на лечение НАЖБП только в США превышают 100 миллиардов долларов в год [2].

Применение гидролизатов плаценты человека (ГПЧ) является одним из важных направлений фармакотерапии болезней печени. Результаты работ по «плацентарной терапии», полученные научной школой В. П. Филатова, легли в основу нового направления в фармакологии, связанного с изучением и применением стандартизированных ГПЧ в терапии заболеваний печени, атопического дерматита, вирусных инфекций (вирусного гепатита, герпеса, COVID-19), болезней перегрузки железом и синдрома хронической усталости [3].

Препарат «Лаеннек», получаемый из гидролизата плаценты человека путём ферментации, ультрафильтрации, других высокотехнологичных процессов [4], показан к применению у пациентов с НАЖБП. Лаеннек оказывает противовоспалительное, антиоксидантное действие, уменьшает проявления инсулинрезистентности, фиброза, способствует улучшению показателей липидного обмена и нормализации функции печени [5]. Применение ГПЧ Лаеннек у пациентов с НАЖБП (n=43, 18–60 лет, 53% женщин) приводило к купированию тяжести в правом подреберье, вздутия

живота, проявлений геморрагического синдрома у всех участников. По данным фибромаск-теста на фоне терапии ГПЧ Лаеннек отмечена положительная динамика регрессии фиброза печени [6].

Сложный состав ГПЧ требует стандартизации по различным компонентам (пептидам, аминокислотам, жирным кислотам, микроэлементам и др.). Расшифровка молекулярных механизмов гепатопротекторного действия ГПЧ становится возможной в контексте постгеномной фармакологии. Исследования пептидного состава ГПЧ, проводимые методами современной протеомики, позволили предложить комплекс молекулярных механизмов воздействия ГПЧ при различных патологиях. Например, было показано, что найденные в составе ГПЧ «Лаеннек» пептиды фактора роста гепатоцитов

(HGF), инсулиноподобного фактора роста ИФР-1, пептиды ингибиторы NF- κ B, MAPKAPK2, GSK3 β , BTK-тирозинкиназы, каспазы-3 способствуют патогенетической терапии метаболического синдрома посредством устранения инсулинрезистентности, дислипидемии, хронического воспаления и жировой инфильтрации печени [7].

В настоящей работе представлены результаты масс-спектрометрического *de novo* секвенирования пептидов в составе препарата на основе ГПЧ (Лаеннек, пр-во Japan Bioproducts), отличающего высокой степенью стандартизации химического состава. Биоинформационный анализ полученных последовательностей пептидов позволил сформулировать ранее неизвестные молекулярные механизмы гепатопротекторного действия ГПЧ Лаеннек.

Материалы и методы

Методы протеомного анализа пептидных препаратов были описаны в работах [8, 9]. Вкратце, анализ пептидного состава ГПЧ Лаеннек включил четыре этапа (1) очистка препарата, (2) хроматографическое разделение пептидов, (3) определение многомерного масс-спектра пептидной фракции и (4) *de novo* секвенирование выделенных пептидов.

Очистка препарата состояла в отделении липидной фракции и обессоливании. Пептиды в составе выделенной пептидной фракции разделялись с использованием параллельной системы хроматографического разделения пептидов “Ultimate 3000 RSLC nano-system” (пр-во Dionex) и хроматографической колонки-ловушки

“Acclaim PepMap” (пр-во Thermo Scientific). Масс-спектрометрический анализ осуществляли с использованием масс-спектрометра “Q-Exactive” (Thermo Scientific, Германия).

Масс-спектрометрические данные включили результаты диссоциации пептидов, вызванной столкновением (т.н. «данные CID»). *De novo* секвенирование пептидов проводилось на основании данных CID с использованием программного комплекса DNVSEQP, основанного на математической теории топологического [10], метрического [11], комбинаторного [12] подходов к анализу «больших данных» [13] и на теории анализа хемографов [14].

Результаты и обсуждение

Для 12 образцов ГПЧ Лаеннек было проведено 20 протеомных экспериментов, в результате которых было найдено 95290 откликов в координатах «молекулярная масса – хроматографическое время удержания». При проведении *de novo* секвенирования были идентифицированы последовательности 293452 возможных пептидов, соответствующие 48607 из 95290 откликов (Рис. 1А на цветной вклейке в журнал). При этом, 55434 из 293452 последовательностей пептидов были идентифицированы для более чем одного образца ГПЧ (Рис. 1Б).

Таким образом, анализ масс-спектрометрических данных позволил идентифицировать 55434 последовательностей пептидов, которые встречались в нескольких образцах ГПЧ. В результате биоинформационного анализа 55434 пептидов было выявлено 27 пептидов протяженностью от 4 до 8 аминокислот, которые вносят

существенный вклад в гепатопротекторные свойства ГПЧ (Таблица 1).

Функциональная активность пептидов, найденных масс-спектрометрического *de novo* секвенирования «легкой» (до 1000 Да) пептидной фракции препарата, была установлена посредством биоинформационного анализа аннотаций аминокислотных последовательностей 20532 белков протеома человека. Перечисленные в Таблице 1 пептиды поддерживают инозитолфосфат-зависимые сигнальные пути гепатоцитов, активируют таргетные белки RARA, AMPK и ингибируют таргетные белки Notch1, GSK-3, PAK1 и TLR4 (Таблица 2). В результате, эти пептиды проявляют противовоспалительные, антифибротические, вазодилаторные, антиатеросклеротические и антидиабетические свойства ГПЧ, которые важны для лечения заболеваний печени (в частности, НАЖБП).

Фрагмент VIP пептида – вазодилатация

Пептид VIP (англ. vasoactive intestinal peptide) вызывает вазодилатацию, снижает артериальное давление, стимулирует сократительную способность миокарда, усиливает гликогенолиз и расслабляет гладкую мускулатуру трахеи, желудка и желчного пузыря [15].

Пептид Лаеннека VFTD, соответствующий пептиду VFTD 129–132 белка VIP, потенциально является биологически активным фрагментом пептида VIP, вазодилаторные свойства которого полезны для всасывания других пептидов ГПЧ Лаеннек в печени.

Таблица 1.
Гепатопротекторные пептиды, найденные в составе препарата Лаеннек. Приведены аминокислотные последовательности пептидов, закодированные в стандартном 20-буквенном формате. Названия таргетных белков расшифрованы в Таблице 2. «Встр.», встречаемость пептида в исследованных образцах Лаеннека (число протеомных экспериментов, в которых был найден соответствующий пептид). Пептиды сгруппированы по их биологическим функциям.

Встр.	Пептид Лаеннека	Фрагмент белка протеома	Ген	Белок протеома	Функция пептида
7	VFTD	VFTD	VIP	VIP-пептид	Вазодилатация
4	SATSPE	SATTPE	CD14	Антиген дифференцировки моноцитов CD14	Ингибирование сигналов TLR4
12	NMLL	NMLL	PIK3IP1	Белок 1, взаимодействующий с фосфоинозитид 3-киназой	Сигнальные пути инозитолфосфатов
7	VEYR	VEYR	INSM2	Белок INSM2	Связывание цинка
9	GHYA	GHYA	PEG10	Белок PEG10 ретротранспозона	Связывание цинка
12	LGQF	LGQF	IGHMBP2	ДНК-связывающий белок SMUBP-2	Связывание цинка
14	TLGLFC	TLGQFC	IGHMBP2	ДНК-связывающий белок SMUBP-2	Связывание цинка
11	QLPFLF	QLPFNF	DLL4	Дельта-подобный белок 4	Ингибитор Notch1
9	GHYA	GHYA	JAG1	Белок «зубчатый-1»	Ингибитор Notch1
9	TGEY	TGEY	DLL4	Дельта-подобный белок 4	Ингибитор Notch1
8	TWLGTF	TWPGTF	DLL4	Дельта-подобный белок 4	Ингибитор Notch1
6	TLFPPL	TLFPAL	PSEN1	Пресенилин-1	Ингибитор Notch1
4	LGALAASL	LGAL-ASL	NOTCH1	Белок notch1	Ингибитор Notch1
5	GL-LMLL	GLKLMLL	ACTN4	Альфа-актинин-4	Активатор RARA
5	MQLHQG	MQLLQG	ASXL1	Белок ASXL1	Активатор RARA
11	HTVY	HTVY	ADIPOR1	Белок рецептора адипонектина 1	Активатор AMPK
2	DVPPFD	DVSPFD	PTPN1	Тир-фосфатаза-1	Ингибитор CLK2
19	RGLGPG	RGMGPG	SFPQ	Пролин-глутаминовый фактор сплайсинга	Ингибитор GSK-3
8	YLDS	YLDS	CTNNB1	Катенин бета-1	Ингибитор GSK-3
7	PPYA	PPYA	MARK2	Серин/треонин-протеинкиназа MARK2	Ингибитор GSK-3
7	ASANF	ASANF	CEACAM8	Молекула адгезии клеток CEACAM8	Ингибитор GSK-3
4	LPSGLL	LPSGLL	CCNE1	G1/S-специфический циклин-E1	Ингибитор GSK-3
4	PAGEPGL	PPGEPGL	BCAM	Молекула адгезии базальных клеток	Ингибитор GSK-3
4	LPLSP	LPLSP	NFKB1	Фактор NF-κB, субъединица p105	Ингибитор GSK-3
6	PNQGGF	PNAGGF	FAM188B2	Белок FAM188B2	Ингибитор PAK1
4	LQPN SG	LQPNAG	FAM188B2	Белок FAM188B2	Ингибитор PAK1
11	LGPLGG	LGPLAG	CSNK2A1	Казеинкиназа-II	Ингибитор CDK1
10	QGLVAE	QGLVPE	DLGAP5	Диск-белок-5	Ингибитор CDK1
7	RGLGPN	RGLAPN	PRC1	Цитокинез-регулятор 1	Ингибитор CDK1
5	LSSASSH	LQSASSH	DNM2	Динамин-2	Ингибитор CDK1

Пептидные фрагменты CD14 и толл-рецепторы

Белок CD14 является ко-рецептором бактериальных липополисахаридов (ЛПС), участвующий в активации толл-рецептора TLR4, тем самым опосредуя провоспалительный иммунный ответ на ЛПС [16]. Избыточная активность TLR4 связана с повышением уровней провоспалительных цитокинов ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6, МІР-1 и СРБ, активацией сигнального пути NF-κB [17] и приводит к хронизации воспаления и к развитию ряда коморбидных патологий, в т.ч. патологий

печени [18]. Активация белка CD14 осуществляется посредством протеолиза сигнального пептида, расположенного в остатках 1–19 про-белка CD14. Пептид Лаеннека SATSPE, соответствующий пептиду SATTPE 18–23 белка CD14 содержит сайт 19–20 гидролиза про-белка. Связываясь с пептидазой, «отрезающей» сигнальный пептид 1–19, этот пептид может блокировать созревание CD14, тем самым снижая про-воспалительную активность толл-рецептора TLR4.

Таблица 2.
Таргетные белки, на которые воздействуют гепатопротекторные пептиды Лаеннека.

Ген	Белок	Функция белка
NOTCH1	Белок, ассоциированный с транслокацией	Деление, дифференцировка, апоптоз гепатоцитов, тяжесть НАЖБП
RARA	Рецептор ретиноидов альфа	Дифференцировка и энергетический обмен гепатоцитов, терапия НАЖБП
AMPK	Альфа-2 5'-AMP-активируемая протеинкиназа	Активация энергопродуцирующих путей, снижение воспаления и фиброза печени
CDK1	Циклинзависимая киназа CDK1	Контроль цикла клеточного деления, воспаление, фиброз печени
CLK2	Протеинкиназа CLK2	Сплайсинг мРНК, синтез глюкозы в печени, подавляет окисление жирных кислот
GSK3A	Киназа-3 альфа гликогенсинтазы	Гормональный контроль гомеостаза глюкозы, резистентность к инсулину, стеатогепатоз, био-генез митохондрий
PAK1	Серин/треонин р21-активируемая киназа -протеинкиназа PAK1	Регуляция секреции инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы, выработка коллагена при фиброзе печени

Пептидный фрагмент белка PIK3IP1 – воздействие на инозитолфосфатные пути
Белок PIK3IP1 – отрицательный регулятор активности печеночной фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). Пептид Лаеннека NMLL, соответствующий пептиду NMLL 13–16 белка PIK3IP1, является частью сигнального пептида 1–21 и, потенциально, может ингибировать пептидазу. В результате, замедляется биосинтез зрелой формы белка PIK3IP1 и поддерживаются биологические эффекты инозитолфосфатных сигнальных путей в гепатоцитах. Инозитолфосфаты, так же как и сами молекулы инозитолов (мио-инозитол, D-хиро-инозитол и др.), проявляют гепатопротекторные свойства [19].

Цинк-содержащие пептиды
ГПЧ Лаеннек содержит стабильные и достаточно высокие уровни микроэлемента цинка [20], который характеризуется противовоспалительными, иммуномодулирующими и гепатопротекторными свойствами [21]. Найденные в настоящем исследовании пептиды Лаеннека VEYR (соответствует пептиду VEYR 289–292 цинк-связывающего

сайта белка INSM2), GHYA (соответствует GHYA 302–305 белка PEG10), LGQF (LGQF 909–912 белка IGHMBP2) и TLGLFC (TLGQFC 908–913 белка IGHMBP2) являются потенциальными цинк-связывающими пептидами, способствующими поступлению цинка в печень и, соответственно, осуществлению гепатопротекции.

Пептиды-ингибиторы белка Notch-1: защита гепатоцитов

Белок Notch-1, ассоциированный с транслокацией (ген NOTCH1) – рецептор лигандов “Jagged1”, “Jagged2” и “Delta1”, которые ингибируют дифференцировку, деление и апоптоз клеток. Повышенная активность сигнального пути Notch1 связана с тяжестью НАЖБП. Передача сигналов по пути Notch1 активируется в клетках печени линии HepG2, обработанных свободными жирными кислотами, что сопровождается накоплением липидов, окислительным стрессом, повреждением митохондрий и апоптозом гепатоцитов. Ингибирование белка Notch1 стимулирует аутофагию и уменьшает повреждение гепатоцитов при НАЖБП [22].
В настоящем исследовании было найдено 6 пептидов с достаточно высокой встречаемостью в ГПЧ (25–58%, Таблица 1), которые с высокой вероятностью являются ингибиторами таргетного белка Notch-1. Ниже представлены соответствующие аргументы по каждому из этих пептидов.
Пептид Лаеннека QLPFLF, соответствующий пептиду QLPFNF 104–109 белка DLL4 находится в сайте связывания белка Notch1 и может блокировать взаимодействия этого таргетного белка с другими сигнальными молекулами.

Пептид Лаеннека GHYA, соответствующий пептиду GHYA 208–211 белка JAG1 (Jagged1) и вовлечен во взаимодействия с белком NOTCH1. Замена остатка 207 F->A сильно снижает связывание NOTCH1 [23]. Поэтому пептид GHYA, связываясь с таргетным белком NOTCH1, будет блокировать взаимодействия NOTCH1 с Jagged1, тем самым ингибируя активность данного сигнального пути (Рис. 2А).
Пептид Лаеннека TGEY, соответствующий пептиду TGEY 213–216 белка DLL4, через остаток 216 участвует во взаимодействии с Notch1 и, тем самым, может ингибировать взаимодействия Notch1 с другими белками сигнальных каскадов.
Пептид Лаеннека TWLGTF, соответствующий пептиду TWPGETF 110–115 белка DLL4 остатком треонин-110 взаимодействует с Notch1. Пептид Лаеннека TLFPPPL, соответствующий пептиду TLFPAL 281–286 белка PSEN1 расположен в сайте взаимодействия с белком NOTCH1 [24].
Пептид Лаеннека LGALASL, соответствующий пептиду LGALASL 1703–1709 белка NOTCH1, расположен перед сайтом 1710–1711 белка NOTCH1. Пептидаза ADAM17 расщепляет сайт 1710–1711, тем самым активируя белок NOTCH1 (Рис. 2Б).

Пептиды-активаторы ретиноидных сигналов: гепатопротекция

Молекулы ретиноидов (витамин А) взаимодействуют с рецепторами RAR α , RAR β , RAR γ , которые регулируют экспрессию генов, связываясь с элементами ДНК 5'-AGGTCA-3' [25]. Рецептор ретиноевой кислоты RAR α (ген RARA) воздействует на энергетический обмен и дифференцировку клеток. Печень является основным органом для хранения и метаболизма ретиноидов. Снижение передачи сигналов от рецептора RAR α связано с заболеваниями печени, в т.ч. с НАЖБП и с алкогольным поражением печени. Улучшение передачи сигналов от RAR α и других рецепторов ретиноидов способствует гепатопротекции [26].

Пептид Лаеннека GLLMLL, соответствующий пептиду GLKMLL 81–87 белка ACTN4, является

частью аминокислотного мотива LXXLL 84–88, взаимодействующего с RAR α (Рис. 3). Замена 87–88 LL->AA в GLKMLL уменьшает его взаимодействие с рецептором RAR α , приводя к потере активности данного мотива [27]. Таким образом, этот пептид Лаеннека GLLMLL может поддерживать активность рецептора RAR α , усиливая действие гепатопротекторных ретиноидов.

Пептид Лаеннека MQLHQG, соответствующий пептиду MQLLQG 1109–1114 белка ASXL1, участвует во взаимодействии с рецептором RAR α . Замена остатка 1111 L->A устраняет взаимодействие с RAR α [28], что подтверждает функциональное значение данного пептида.

Пептид-активатор AMPK:

чувствительность к инсулину и противовоспалительное действие

В ответ на снижение уровня внутриклеточного АТФ, 5'-AMP-активируемая протеинкиназа AMPK (ген AMPK) активирует энергопродуцирующие пути и ингибирует энергозатратные процессы (биосинтез белков, углеводов и липидов, деление клеток). Киназа AMPK участвует в регуляции передачи сигналов от рецепторов путем фосфорилирования белков IRS1, PFKFB2 и PFKFB3, участвующих в интернализации рецептора инсулина INSR [29], стимулирует всасывание

глюкозы клетками за счет увеличения экспрессии белка-транспортёра глюкозы SLC2A4/GLUT4 на плазматической мембране [30]. Активация AMPK приводит к купированию воспалительной реакции и к увеличению продукции IL-10, снижая фибротические изменения ткани печени [31]. Пептид Лаеннека HTVY, соответствующий пептиду HTVY 191–194 белка ADIPOR1 (Рис. 4), способствует активации AMPK, а замена 191 H->A снижает активацию AMPK [32].

Пептиды-ингибиторы CLK2: переработка жиров

Протеинкиназа CLK2 (ген CLK2) регулирует сплайсинг мРНК, глюконеогенез и синтез глюкозы в печени. У худых мышей печеночный белок Clk2 очень низок во время голодания и сильно увеличивается во время кормления. У мышей с ожирением, вызванным жирной диетой, уровни белка Clk2 повышены как во время еды, так и натощак. CLK2 подавляет окисление жирных кислот в печени посредством разрушения комплекса PGC-1 α и MED1. Делеция гена Clk2 в печени у мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, приводила к повышению экспрессии генов окисления жирных

кислот и кетогенных путей, так что ингибирование Clk2 может обеспечить новые методы лечения НАЖБП [33]. Пептид Лаеннека DVPPFD соответствует пептиду DVSPFD 48–53 в структуре тирозин-фосфатазы-1 (ген PTPN1). В пептиде DVSPFD остаток Ser-50 подвергается фосфорилированию киназой CLK2 [34] и замена данного остатка (на аланин, аспартат и др.) приводит к потере фосфорилирования [35]. В пептиде Лаеннека DVPPFD в соответствующей позиции содержится пролин (DVPPFD вместо DVSPFD), так что пептид DVPPFD – потенциальный ингибитор Clk2.

Пептиды-ингибиторы GSK-3:

цитопротекция, митохондриальная функция, окисление жиров

Альфа киназа-3 гликогенсинтазы (GSK-3 α , ген GSK3A) – негативный регулятор гормонального контроля гомеостаза глюкозы, передачи сигналов по каскаду Wnt. Ингибиторы GSK3 исследуются в процессе поиска терапевтических средств и проявляют антидиабетические, противовоспалительные, гепатопротекторные, нейропротекторные свойства [36]. Ингибирование GSK-3 α снижает резистентность к инсулину в модели диабета у мышей, вызванной жирной диетой: скорость клиренса глюкозы из плазмы крови увеличивалась на 60% по сравнению с плацебо [37]. В частности, ингибиторы GSK-3 α уменьшают стеатогепатоз за счет модуляции митохондриальной функции (активация экспрессии белков NDUFB8 и NDUFB9 митохондриального комплекса I), увеличивают скорость потребления кислорода клетками печени и окисление жирных кислот гепатоцитами за счёт усиления экспрессии

транскрипционных факторов PGC-1 α , TFAM и NRF1, участвующих в биогенезе митохондрий [38].

В настоящей работе в составе ГПЧ Лаеннек была найдена серия пептидов, являющихся потенциальными ингибиторами GSK-3 α . Наиболее часто в исследованных образцах ГПЧ были найдены пептиды RGLGPG, YLDS, PPYA, ASANF. Пептид Лаеннека RGLGPG, соответствующий пептиду RGMGPG 681–686 белка SFPQ находится вблизи от остатка треонин-687. Замена 687 T->A препятствует фосфорилированию этого пептида киназой GSK3 [39]. Пептид RGLGPG не содержит остатка треонина, поэтому является эффективным ингибитором GSK-3 α / β .

Пептид Лаеннека YLDS, соответствующий пептиду YLDS 30–33 белка CTNNB1 находится после серина-29, который фосфорилируется GSK-3 α / β [40]. Т.к. остаток серина отсутствует

в соответствующей позиции пептида, то этот пептид – ингибитор GSK-3 α/β . Пептид Лаеннека PPYA, соответствующий пептиду PPYA 213–216 белка MARK2 расположен рядом с серином-212, фосфорилируемым GSK-3 α/β , но не содержит серинового остатка, поэтому ингибитор. Пептид Лаеннека ASANF, соответствующий пептиду ASANF 221–225 белка CEACAM8 вблизи серина-226, фосфорилируемого GSK-3 α/β .

Пептиды-ингибиторы CDK1: противовоспалительное и антифибротическое действие

Циклинзависимая киназа CDK1 (ген CDK1) контролирует цикл клеточного деления посредством взаимодействия с белками-циклинами [43]. Ингибиторы CDK1 оказывают противовоспалительное и антифибротическое действие при остром или хроническом повреждении печени, вызванном тетрахлористым углеродом (CCl₄). Ингибирование CDK1 защищает от заболеваний печени за счет подавления воспалительного действия макрофагов и активации звездчатых клеток печени [44].

Ряд пептидов Лаеннека, идентифицированных в настоящей работе, являются ингибиторами CDK1. Пептид Лаеннека LGPLGG, соответствующий пептиду LGPLAG 364–369 белка CSNK2A1, расположен перед остатком серин-370,

Кроме того, пептид Лаеннека LPSGLL, соответствующий пептиду LPSGLL 389–394 белка CCNE1, расположен рядом с треонином-395, фосфорилируемым GSK-3 α/β . Пептид Лаеннека PAGEPGL, соответствующий пептиду PPGEPL 589–595 белка BCAM рядом с серином-596, фосфорилируемым GSK-3 α/β [41]. Пептид Лаеннека LPLSP, соответствующий пептиду LPLSP 904–908 белка NFkB1 вблизи серина-903, фосфорилируемого GSK-3 α/β [42].

фосфорилируемым CDK1 [45]. Пептид Лаеннека RGLGPN, соответствующий пептиду RGLAPN 475–480 белка PRC1 расположен перед треонином-481, который фосфорилирует CDK1 и замена которого на аланин приводит к потере фосфорилирования [42]. Пептид Лаеннека QGLVAE, соответствующий пептиду QGLVPE 68–73 белка DLGAP5 расположен после остатка серин-67, фосфорилируемым CDK1 [42]. Пептид Лаеннека LSSASSH, соответствующий пептиду LQSASSH 757–763 белка DNM2 расположен перед серином-764, который фосфорилируется CDK1. Поскольку все перечисленные пептиды не содержат остатков серина/треонина в соответствующих позициях аминокислотной последовательности, то они являются ингибиторами CDK1.

Пептиды-ингибиторы PAK1: антифибротическое действие

Серин/треонин р21-активируемая протеинкиназа PAK1 (ген PAK1) участвует во внутриклеточных сигнальных путях, играя важные роли в клеточной адгезии, делении, апоптозе и регуляция секреции инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы. Ингибитор PAK1 уменьшал выработку коллагена звездчатыми клетками печени человека, снижая фиброз печени. При делеции гена PAK1 у мышей затруднялось воспроизведение модели фиброза печени, индуцированного веществом “BDL”. Таким образом, PAK1 – перспективный

таргетный белок для разработки антифибротических препаратов [46].

Пептид Лаеннека PNQGGF, соответствующий пептиду PNAGGF 190–195 белка FAM188B2 расположен после остатка серин-189, который фосфорилируется киназой PAK1 [47]. Пептид Лаеннека LQPNSG, соответствующий пептиду LQPNA 188–193 белка FAM188B2 также расположен вблизи остатка серин-189, фосфорилируемого киназой PAK1 [48]. Оба пептида не содержат фосфорилируемых остатков серина/треонина и, поэтому, являются ингибиторами PAK1.

Заключение

Накоплению избыточного жира в тканях печени способствует недостаточная физическая активность, избыточная калорийность и микронутриентная неполноценность потребляемой пищи. Поэтому, лечение НАЖБП возможно немедикаментозными методами: увеличение двигательной активности, уменьшение калорийности диеты и улучшение макро- и микронутриентного состава пищи. В комплексной терапии ожирения применяются гепатопротекторы, антиоксиданты, противовоспалительные, сахароснижающие и другие средства.

Гидролизаты плаценты человека отличаются выраженным гепатопротекторным действием. В работе представлены результаты масс-спектрометрического *de novo* секвенирования пептидов в составе препарата «Лаеннек» на основе ГПЧ, отличающегося высокой степенью стандартизации

химического состава. Для 12 образцов ГПЧ было проведено 20 протеомных экспериментов.

Масс-спектрометрический анализ позволил установить последовательности 293452 пептидов, из которых 55434 пептидов встречались более чем в одном из исследованных образцов ГПЧ. В результате биоинформационного анализа выявлено 27 пептидов протяженностью 4–8 аминокислот, которые могут вносить вклад в гепатопротекторные свойства ГПЧ.

Эти пептиды поддерживают инозитолфосфат-зависимые сигнальные пути гепатоцитов, активируют таргетные белки RARA, AMPK, ингибируют таргетные белки Notch1, GSK-3, PAK1 и TLR4. В результате, проявляются противовоспалительные, антифибротические, вазодилаторные, антиатеросклеротические и антидиабетические свойства ГПЧ, которые важны, в частности, для лечения НАЖБП (Рис. 5).

Работа выполнена по государственному заданию № 0063–2019–0003 «Математические методы анализа данных и прогнозирования» с использованием инфраструктуры Центра коллективного пользования «Высокопроизводительные вычисления и большие данные» ФИЦ «Информатика и управление» РАН.

Хромато-масс-спектрометрический анализ и идентификацию пептидов проводили с использованием оборудования ЦКП «Протеом человека» в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича».

The work was carried out according to the state task No. 0063–2019–0003 “Mathematical methods for data analysis and forecasting” using the infrastructure of the Center for Collective Use “High-Performance Computing and Big Data” of the Federal Research Center “Informatics and Control” of the Russian Academy of Sciences.

Chromatography-mass-spectrometric analysis and identification of peptides were carried out using the equipment of the Center for Collective Use “Human Proteom” at the V.N. Orekhovich».

Литература | References

1. Sheka A. C., Adeyi O., Thompson J., Hameed B., Crawford P. A., Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA*. 2020 Mar 24;323(12):1175–1183. doi: 10.1001/jama.2020.2298. PMID: 32207804.
2. Mundi M. S., Velapati S., Patel J., Kellogg T. A., Abu Dayyeh B. K., Hurt R. T. Evolution of NAFLD and Its Management. *NutrClinPract*. 2020 Feb;35(1):72–84. doi: 10.1002/ncp.10449. PMID: 31840865.
3. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Chuchalin A. G., Maksimov V. A. Human placenta hydrolysates: from V.P. Filatov to the present day. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2022;94(3):434–441. (in Russ.) doi: 10.2644/2/00403660.2022.03.201408
Громова О. А., Торшин И. Ю., Чучалин А. Г., Максимов В. А. Гидролизаты плаценты человека: от В.П. Филатова до наших дней. *Терапевтический архив*. 2022;94(3):434–441. doi: 10.2644/2/00403660.2022.03.201408
4. Maksimov V. A., Minushkin O. N. Recommendations for the use of human placenta hydrolysate in liver diseases. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2016;136(12):75–77. (in Russ.)
Максимов В. А., Минушкин О. Н. Рекомендации по применению гидролизата человеческой плаценты при заболеваниях печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016;136(12):75–77.
5. Lazebnik L. B., Radchenko V. G., Seliverstov P. V., Sitkin S. I., Jadhav S. N. The contemporary understanding of liver fibrosis and approaches to treatment in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2017;(12):98–109. (in Russ.)
Лазебник Л. Б., Радченко В. Г., Селиверстов П. В., Ситкин С. И., Джадхав С. Н. Современное представление о фиброзе печени и подходах к его лечению у больных неалкогольным стеатогепатитом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2017. – № 12 (148). – С. 98–109.
6. Lazebnik L. B., Radchenko V. G., Dzhadhav S. N., Sitkin S. I., Seliverstov P. V. Systemic inflammation and non-alcoholic fatty liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;165(5): 29–41. (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-165–5–29–41
Лазебник Л. Б., Радченко В. Г., Джадхав С. Н., Ситкин С. И., Селиверстов П. В. Системное воспаление и неалкогольная жировая болезнь печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;165(5): 29–41. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-165–5–29–41.
7. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Zgoda V. F., Tomilova I. K. Molecular mechanisms of action of Laennec against development of metabolic syndrome and obesity. *Therapy*. 2017; 5(15):73–83. (in Russ.)
О. А. Громова, И. Ю. Торшин, В. Ф. Згода, И. К. Томилова. Молекулярные механизмы действия препарата Лаеннек против формирования метаболического синдрома и ожирения. *Терапия*, 2017, 5(15):73–83.
8. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Maksimov V. A., Chuchalin A. G., Zgoda V. G., Gromov A. N., Tikhonova O. V. Peptides contained in the composition of Laennec that contribute to the treatment of hyperferritinemia and iron overload disorders. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(4):413–425. (In Russ.) doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2020.070
Громова О. А., Торшин И. Ю., Максимов В. А., Чучалин А. Г., Згода В. Г., Тихонова О. В. Пептиды в составе препарата Лаеннек, способствующие устранению гиперферритинемии и перегрузки железом. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная Фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология*. 2020; 13 (4): 413–425. doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2020.070
9. Torshin I. Yu., Gromova O. A., Dibrova E. A., et al. [Peptides in the composition of the drug Laennec, potentiating its antiviral effects in the treatment of atopic dermatitis of herpes infection]. *Rossiyskiy allergologicheskii zhurnal*. 2018; 15 (1–1): 82–90. (in Russ.) doi: 10.36691/rja191
Торшин И. Ю., Громова О. А., Диброва Е. А. и др. Пептиды в составе препарата Лаеннек, потенцирующие его антивирусные эффекты в лечении atopического дерматита герпетической инфекции. *Российский аллергологический журнал*. 2018; 15 (1–1): 82–90. doi: 10.36691/rja191
10. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. Part 1: factorization approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017; 27 (1): 16–28. (in Russ.)
11. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. 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 (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017; 27 (2): 184–199. (in Russ.)
12. Torshin I. Yu. Optimal dictionaries of the final information on the basis of the solvability criterion and their applications in bioinformatics. *Pattern Recognition and*

- Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications). 2013; 23 (2): 319–327. (in Russ.)
13. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. On the Procedures of Generation of Numerical Features Over Partitions of Sets of Objects in the Problem of Predicting Numerical Target Variables. *Pattern Recognition and Image Analysis*. 2019; 29 (4): 654–667. (in Russ.) doi: 10.1134/S1054661819040175.
14. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. Part 1: Fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph. *Pattern Recognit. Image Anal.* 24, 11–23 (2014). doi: 10.1134/S1054661814010209
15. Ma J. N., Currier E. A., Essex A., Feddock M., Spalding T. A., Nash N. R., Brann M. R., Burstein E. S. Discovery of novel peptide/receptor interactions: identification of PHM-27 as a potent agonist of the human calcitonin receptor. *Biochem Pharmacol.* 2004 Apr 1;67(7):1279–84. doi: 10.1016/j.bcp.2003.11.008. PMID: 15013843.
16. Kelley S. L., Lukk T., Nair S. K., Tapping R. I. The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic amino-terminal pocket. *J Immunol.* 2013 Feb 1;190(3):1304–11. doi: 10.4049/jimmunol.1202446. PMID: 23264655
17. Torshin I. Yu., Lila A. M., Gromova O. A. Hepatoprotective effects of chondroitin sulfate and glucosamine sulfate. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2021;14(4):537–547. (In Russ.) doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2021.112
 Торшин И. Ю., Лила А. М., Громова О. А. Гепатопротекторные эффекты хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2021; 14 (4): 515–525. doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2021.112
18. Torshin I. Yu., Gromova O. A., Lila A. M., et al. Toll-like receptors as a part of osteoarthritis pathophysiology: anti-inflammatory, analgesic and neuroprotective effects. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2021;13(4):123–129. (in Russ.) doi: 10.14412/2074–2711–2021–4–123–12
 Торшин И. Ю., Громова О. А., Лила А. М., Алексеева Л. И., Таскина Е. А. Толл-подобные рецепторы как компонент патофизиологии остеоартрита: противовоспалительное, анальгетическое и нейропротекторное действие. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2021. Т. 13. № 4. С. 123–129.
19. Gromova O. A., Torshin I. Yu. Micronutrients and reproductive health. Management. 2nd edition revised and enlarged. Moscow. GEOTAR-Media, 2022, 832 pp., (in Russ.) ISBN 978–5–9704–6786–2.
 Громова О. А., Торшин И. Ю. Микронутриенты и репродуктивное здоровье. Руководство. 2-е издание переработанное и дополненное. ГЭОТАР-Медиа, 2022, 832 с., ISBN 978–5–9704–6786–2.
20. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Volkov A. Yu., Smarygin S. N., Nazarenko O. A., Karimova I. M. Laennec drug: elemental composition and pharmacological action. *Plastic surgery and cosmetology*. 2011. No. 2, pp. 327–333. (in Russ.)
 Громова О. А., Торшин И. Ю., Волков А. Ю., Смарыгин С. Н., Назаренко О. А., Каримова И. М. Препарат Лаеннек: элементный состав и фармакологическое действие. *Пластическая хирургия и косметология*. 2011. № 2. С. 327–333.
21. Zhao H., Wang Y., Guo M., Fei D., Mu M., Yu H., Xing M. Hepatoprotective effects of zinc (II) via cytochrome P-450/reactive oxygen species and canonical apoptosis pathways after arsenite waterborne exposure in common carp. *Chemosphere*. 2019 Dec;236:124869. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124869. Epub 2019 Sep 14. PMID: 31549675.
22. Zhang M., Wu P., Li M., Guo Y., Tian T., Liao X., Tan S. Inhibition of Notch1 signaling reduces hepatocyte injury in nonalcoholic fatty liver disease via autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 Apr 2;547:131–138. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.039. Epub 2021 Feb 17. PMID: 33610041
23. Cordle J., Johnson S., Tay J. Z., Roversi P., Wilkin M. B., de Madrid B. H., Shimizu H., Jensen S., Whiteman P., Jin B., Redfield C., Baron M., Lea S. M., Handford P. A. A conserved face of the Jagged/Serrate DSL domain is involved in Notch trans-activation and cis-inhibition. *Nat Struct Mol Biol*. 2008 Aug;15(8):849–57. doi: 10.1038/nsmb.1457. Epub 2008 Jul 27. PMID: 18660822
24. Kulic L., Walter J., Multhaup G., Teplow D. B., Baumeister R., Romig H., Capell A., Steiner H., Haass C. Separation of presenilin function in amyloid beta-peptide generation and endoproteolysis of Notch. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 May 23;97(11):5913–8. doi: 10.1073/pnas.100049897. PMID: 10811883
25. Santos N. C., Kim K. H. Activity of retinoic acid receptor-alpha is directly regulated at its protein kinase A sites in response to follicle-stimulating hormone signaling. *Endocrinology*. 2010 May;151(5):2361–72. doi: 10.1210/en.2009–1338. Epub 2010 Mar 9. PMID: 20215566
26. Melis M., Tang X. H., Trasino S. E., Gudas L. J. Retinoids in the Pathogenesis and Treatment of Liver Diseases. *Nutrients*. 2022 Mar 31;14(7):1456. doi: 10.3390/nu14071456. PMID: 35406069
27. Khurana S., Chakraborty S., Lam M., Liu Y., Su Y. T., Zhao X., Saleem M. A., Mathieson P. W., Bruggeman L. A., Kao H. Y. Familial focal segmental glomerulosclerosis (FSGS)-linked α -actinin 4 (ACTN4) protein mutants lose ability to activate transcription by nuclear hormone receptors. *J Biol Chem*. 2012 Apr 6;287(15):12027–35. doi: 10.1074/jbc.M112.345421. Epub 2012 Feb 17. PMID: 22351778
28. Cho Y. S., Kim E. J., Park U. H., Sin H. S., Um S. J. Additional sex comb-like 1 (ASXL1), in cooperation with SRC-1, acts as a ligand-dependent coactivator for retinoic acid receptor. *J Biol Chem*. 2006 Jun 30;281(26):17588–98. doi: 10.1074/jbc.M512616200. Epub 2006 Apr 10. PMID: 16606617
29. Boutchueng-Djidjou M., Collard-Simard G., Fortier S., Hébert S. S., Kelly I., Landry C. R., Faure R. L. The last enzyme of the de novo purine synthesis pathway 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase (ATIC) plays a central role in insulin signaling and the Golgi/endosomes protein network. *Mol Cell Proteomics*. 2015 Apr;14(4):1079–92. doi: 10.1074/mcp.M114.047159. Epub 2015 Feb 16. PMID: 25687571
30. McDonald A., Fogarty S., Leclerc I., Hill E. V., Hardie D. G., Rutter G. A. Cell-wide analysis of secretory granule dynamics in three dimensions in living pancreatic beta-cells: evidence against a role for AMPK-dependent phosphorylation of KLC1 at Ser517/Ser520 in glucose-stimulated insulin granule movement. *Biochem Soc Trans*. 2010 Feb;38(Pt 1):205–8. doi: 10.1042/BST0380205. PMID: 20074060

31. Liang Z., Li T., Jiang S., Xu J., Di W., Yang Z., Hu W., Yang Y. AMPK: a novel target for treating hepatic fibrosis. *Oncotarget*. 2017 Jul 19;8(37):62780–62792. doi: 10.18632/oncotarget.19376. eCollection 2017 Sep 22. PMID: 28977988
32. Tanabe H., Fujii Y., Okada-Iwabu M., Iwabu M., et al. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature*. 2015 Apr 16;520(7547):312–316. doi: 10.1038/nature14301. Epub 2015 Apr 8. PMID: 25855295
33. Tabata M., Rodgers J. T., Hall J. A., Lee Y., Jedrychowski M. P., Gygi S. P., Puigserver P. Cdc2-like kinase 2 suppresses hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis through disruption of the PGC-1 α and MED1 complex. *Diabetes*. 2014 May;63(5):1519–32. doi: 10.2337/db13-1304. Epub 2014 Jan 23. PMID: 24458359
34. Zhou H., Di Palma S., Preisinger C., Peng M., Polat A. N., Heck A. J., Mohammed S. Toward a comprehensive characterization of a human cancer cell phosphoproteome. *J Proteome Res*. 2013 Jan 4;12(1):260–71. doi: 10.1021/pr300630k. Epub 2012 Dec 18. PMID: 23186163
35. Ravichandran L. V., Chen H., Li Y., Quon M. J. Phosphorylation of PTP1B at Ser(50) by Akt impairs its ability to dephosphorylate the insulin receptor. *Mol Endocrinol*. 2001 Oct;15(10):1768–80. doi: 10.1210/mend.15.10.0711. PMID: 11579209
36. Jho E. H., Lomvardas S., Costantini F. A GSK3 β phosphorylation site in axin modulates interaction with beta-catenin and Tcf-mediated gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Dec 9;266(1):28–35. doi: 10.1006/bbrc.1999.1760. PMID: 10581160.
37. Rao R., Hao C. M., Redha R., Wasserman D. H., McGuinness O. P., Breyer M. D. Glycogen synthase kinase 3 inhibition improves insulin-stimulated glucose metabolism but not hypertension in high-fat-fed C57BL/6J mice. *Diabetologia*. 2007 Feb;50(2):452–60. doi: 10.1007/s00125-006-0552-5. Epub 2006 Dec 7. PMID: 17151860.
38. Li Y., Lin Y., Han X., Li W., Yan W., Ma Y., Lu X., Huang X., Bai R., Zhang H. GSK3 inhibitor ameliorates steatosis through the modulation of mitochondrial dysfunction in hepatocytes of obese patients. *iScience*. 2021 Feb 6;24(3):102149. doi: 10.1016/j.isci.2021.102149. PMID: 33665568
39. Heyd F., Lynch K. W. Phosphorylation-dependent regulation of PSF by GSK3 controls CD45 alternative splicing. *Mol Cell*. 2010 Oct 8;40(1):126–37. doi: 10.1016/j.molcel.2010.09.013. PMID: 20932480
40. van Noort M., van de Wetering M., Clevers H. Identification of two novel regulated serines in the N terminus of beta-catenin. *Exp Cell Res*. 2002 Jun 10;276(2):264–72. doi: 10.1006/excr.2002.5520. PMID: 12027456
41. Gauthier E., Rahuel C., Wautier M. P., et al. Protein kinase A-dependent phosphorylation of Lutheran/basal cell adhesion molecule glycoprotein regulates cell adhesion to laminin alpha5. *J Biol Chem*. 2005 Aug 26;280(34):30055–62. doi: 10.1074/jbc.M503293200. Epub 2005 Jun 23. PMID: 15975931
42. Zhou H., Di Palma S., Preisinger C., Peng M., Polat A. N., Heck A. J., Mohammed S. Toward a comprehensive characterization of a human cancer cell phosphoproteome. *J Proteome Res*. 2013 Jan 4;12(1):260–71. doi: 10.1021/pr300630k. PMID: 23186163.
43. Nakamura A., Naito M., Arai H., Fujita N. Mitotic phosphorylation of Aki1 at Ser208 by cyclin B1-Cdk1 complex. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar 19;393(4):872–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.103. Epub 2010 Feb 18. PMID: 20171170
44. Liu Y., Li J., Liao L., Huang H., Fan S., Fu R., Huang J., Shi C., Yu L., Chen K. X., Zhang Y. Y., Luo C., Li G. M. Cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine attenuates liver inflammation and fibrosis by influencing initiating steps of liver injury. *Clin Sci (Lond)*. 2021 Apr 16;135(7):925–941. doi: 10.1042/CS20201111. PMID: 33786590.
45. Daub H., Olsen J. V., Bairlein M., Gnad F., Oppermann F. S., Körner R., Greff Z., Kéri G., Stemmann O., Mann M. Kinase-selective enrichment enables quantitative phosphoproteomics of the kinome across the cell cycle. *Mol Cell*. 2008 Aug 8;31(3):438–48. doi: 10.1016/j.molcel.2008.07.007. PMID: 18691976
46. Martin K., Pritchett J., Mullan A., et al. PAK1 represents a novel therapeutic target for urgently needed anti-fibrotic drug development in liver fibrosis. 2018, pp. 920–924.
47. Dephoure N., Zhou C., Villén J., Beausoleil S. A., Bakalarski C. E., Elledge S. J., Gygi S. P. A quantitative atlas of mitotic phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Aug 5;105(31):10762–7. doi: 10.1073/pnas.0805139105. Epub 2008 Jul 31. PMID: 18669648
48. Oppermann F. S., Gnad F., Olsen J. V., Hornberger R., Greff Z., Kéri G., Mann M., Daub H. Large-scale proteomics analysis of the human kinome. *Mol Cell Proteomics*. 2009 Jul;8(7):1751–64. doi: 10.1074/mcp.M800588-MCP200. PMID: 19369195

К статье

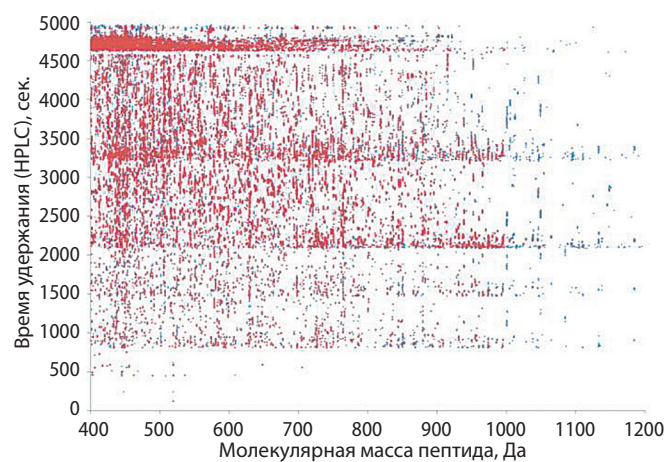
Гепатопротекторные пептиды препарата Лаеннек (стр. 21–30)

To article

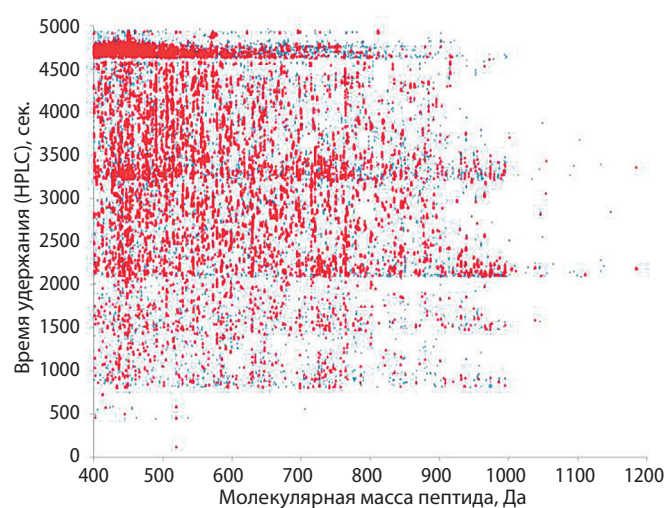
Hepatoprotective peptides of the drug Laennec (p. 21–30)

Рисунок 1.

Результаты протеомных экспериментов. А) Отклики в координатах «молекулярная масса-время удержания» для 20 протеомных экспериментов. Красным отмечены отклики, которые были расшифрованы в результате *de novo* секвенирования (48607 откликов). Б) Идентифицированные пептиды. Красным отмечены отклики, соответствующие 55434 пептидам, которые встречались более чем в одном образце ГПЧ.

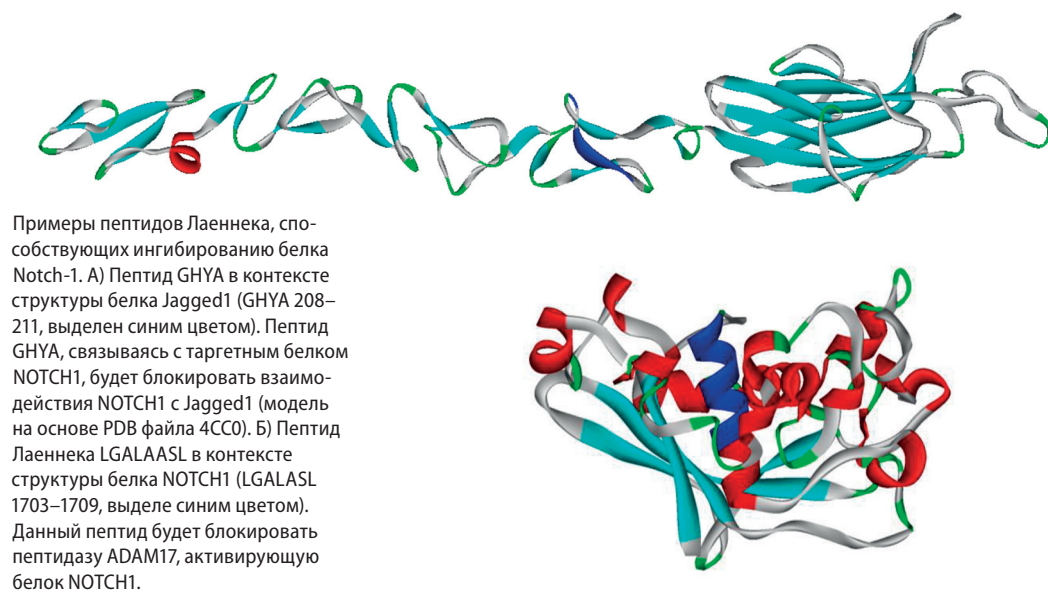


А



Б

Рисунок 2.



А

Б

Примеры пептидов Лаеннека, способствующих ингибированию белка Notch-1. А) Пептид GHYA в контексте структуры белка Jagged1 (GHYA 208–211, выделен синим цветом). Пептид GHYA, связываясь с целевым белком NOTCH1, будет блокировать взаимодействия NOTCH1 с Jagged1 (модель на основе PDB файла 4CC0). Б) Пептид Лаеннека LGALAASL в контексте структуры белка NOTCH1 (LGALAASL 1703–1709, выделен синим цветом). Данный пептид будет блокировать пептидазу ADAM17, активирующую белок NOTCH1.

Рисунок 3.

Пептид Лаеннека GLLMLL в контексте структуры белка ACTN4 (GLKLMLL 81–87, синий цвет). Данный пептид может активировать ретиноидный рецептор RARα. Модель на основе PDB файла 2R00.



Рисунок 4.

Пептид Лаеннека HTVY (синий цвет) в контексте структуры белка ADIPOR1. Данный пептид может активировать киназу AMPK. Модель на основе PDB файла 3WXV.

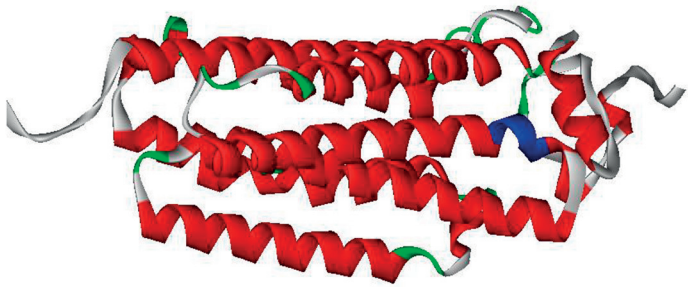


Рисунок 5.
Пептиды Лаеннека, участвующие в реализации гепатопротекторных свойств препарата.

