Церебролизин®

Механизм действия

Июль 2013

EVER
NEURO PHARMA

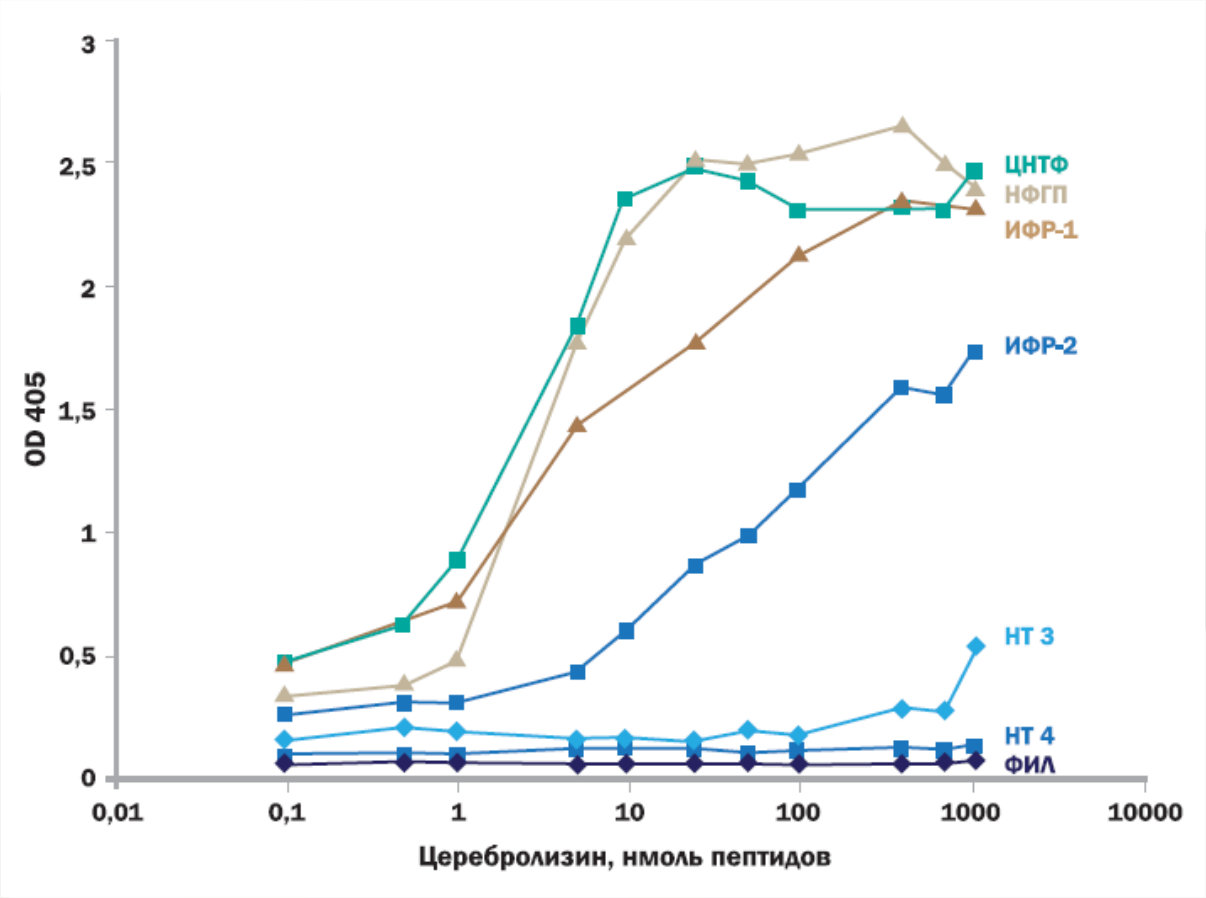
Церебролизин® – нейротрофический препарат для мультимодального лечения неврологических заболеваний

Церебролизин®

- Церебролизин – это рецептурный препарат на основе нейропептидов, полученный из очищенных белков мозга
- Церебролизин отнесен к группе нейротрофических лекарственных средств, так как он имеет характеристики, подобные эндогенным нейротрофическим факторам (НТФ)

Фрагменты НТФ в Церебролизине®

НТФ-подобные нейропептиды, выявленные в Церебролизине:
ЦНТФ – цилиарный нейротрофический фактор (Ciliary Neurotrophic Factor – CNTF);
НФГП – нейротрофический фактор глиального происхождения (Glial Cells Derived Neurotrophic Factor – GDNF);
ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1 (Insulin-like Growth Factor 1 – IGF-1);
ИФР-2 – инсулиноподобный фактор роста 2 (Insulin-like Growth Factor 2 – IGF-2)

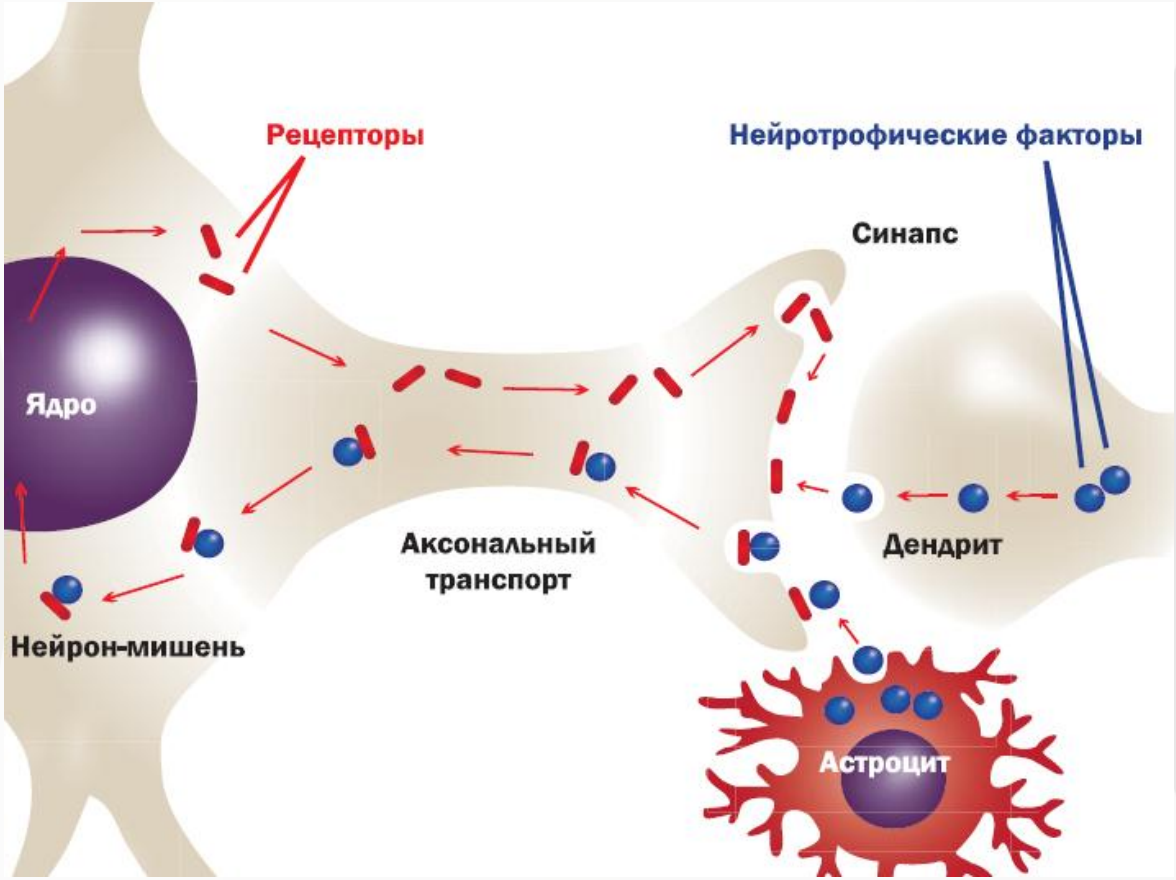


Выявление НТФ-подобных нейропептидов методом ELISA

3. Chen H et al., Trophic factors counteract elevated FGF-2-induced inhibition of adult neurogenesis. Neurobiology of Aging 2007;28(8):1148-11623

Роль нейротрофических факторов

НТФ – это сигнальные молекулы, участвующие в различных клеточных циклах, которые считаются составной частью фундаментальных биологических процессов, определяющих нормальное функционирование здоровой нервной ткани



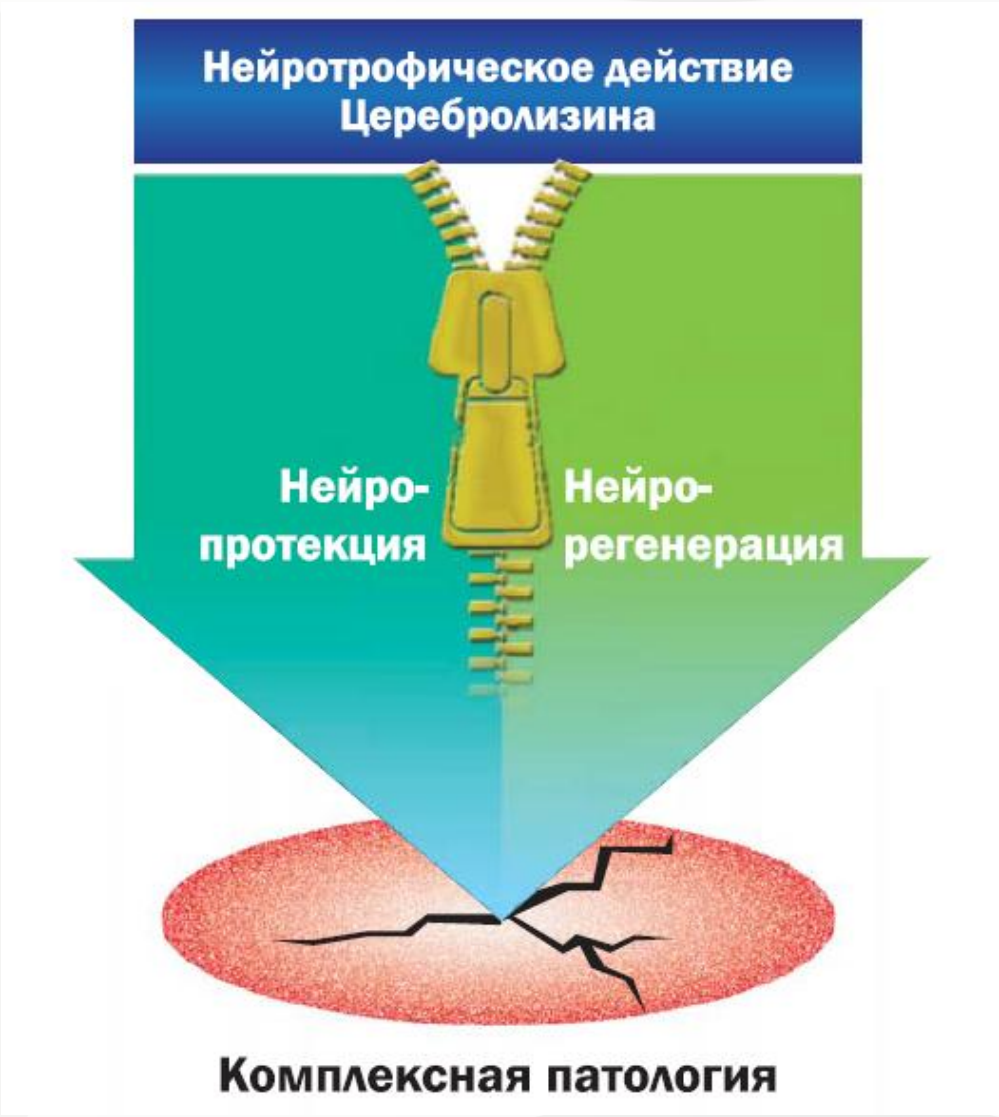
Нейротрофическая регуляция в ЦНС

Нейротрофические факторы [1,2,3]
- важные регуляторные молекулы НС с основными физиологическими функциями:

- Регуляция процессов развития ЦНС
- Поддержание надлежащего фенотипа ЦНС у взрослых и регуляция пластических процессов
- Регуляция эндогенной защитной активности (ЭЗА) нервной ткани при патологии

1. Gould T. W. and Oppenheim R. W., Motor Neuron Trophic Factors: Therapeutic Use in ALS?, Brain Res Rev 2011;June24;67(1-2):1-39
2. Muresanu D., Neurotrophic Factors 2003; Libripress SRL, Bucharest
3. Finklestein S. P. and Ren J. M., Growth factors as treatments for stroke, Brain Repair After Stroke, Cambridge University Press 2010

Мультимодальное действие Церебролизина®



Мультимодальное действие Церебролизина®

Терапия на основе нейротрофических факторов противодействует патологическим изменениям двумя путями:

- нейропротекция – защита нейронов от прямого повреждения и некроза наряду с предотвращением развития апоптозоподобных процессов;
- нейрорегенерация – запуск процессов нейропластичности и нейрогенеза в поврежденной области центральной нервной системы (ЦНС).

Мультимодальное действие Церебролизина®

Плейотропное действие Церебролизина®

Уменьшение ферментативной активности супероксиддисмутазы и каталазы, активирующихся при оксидативном стрессе	**Антиоксидантное действие**	**Нейропротекция** (защита нейронов от повреждения) - **Плейотропное действие**
Уменьшение образования гидроксильных радикалов		
Уменьшение активации глиальных клеток	**Противовоспалительное действие**	
Уменьшение высвобождения провоспалительных цитокинов (интерлейкин-1ß)		
Уменьшение актиности кальпаина	**Антиапоптотическое действие**	
Уменьшение образования внеклеточных депозитов ß-амилоида и внутриклеточных tau-клубков	**Антиамилоидное действие**	

Термин «плейотропное действие»
говорит о том, что Церебролизин проявляет все компоненты
нейропротективного действия

Антиоксидантное действие

✓**Свободные радикалы** (СР) играют значительную роль в ряде биологических процессов…
уничтожение бактерий внутри клетки нейтрофильными гранулоцитами или передача ряда клеточных сигналов

✓**СР также вовлечены в патологические процессы**…
б. Паркинсона, старческая или индуцированная медикаментами глухота, шизофрения, болезнь Альцгеймера и ишемический каскад, запускаемый травматическими или нетравматическими повреждениями мозга

✓**Снижение концентрации СР** в пораженной нервной ткани - потенциальная стратегия нейропротекции, направленная на уменьшение объема повреждения ткани мозга

Нейропротекция при атаке радикалов *OH на молекулу салициловой кислоты

Продукты реакции радикалов OH с молекулой салициловой кислоты.

Sugita Y et al., The protective effect of Cerebrolysin on delayed neuronal death in the hippocampus and its relationship with OH-radicals.

Антиоксидантное действие

Нейтрализация свободных радикалов

Церебролизин® воздействует на активность каталазы и супероксид-дисмутазы [1]

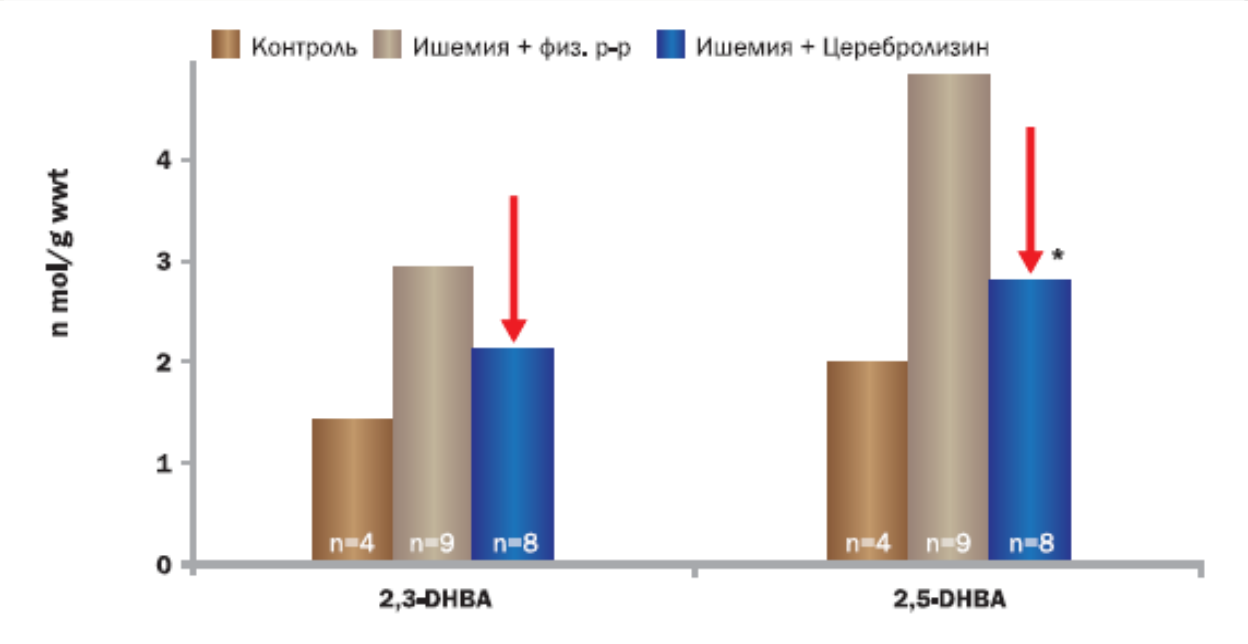
Церебролизин® нейтрализует свободные радикалы и уменьшает перекисное повреждение [2]

1) Gonzalez et al J Neural Transm 1998;53:333–341

2) Sun and Wang

Антиоксидантное действие

Концентрация свободных радикалов (2,3-DHBA и 2,5-DHBA) была ниже в гиппокампе и в коре

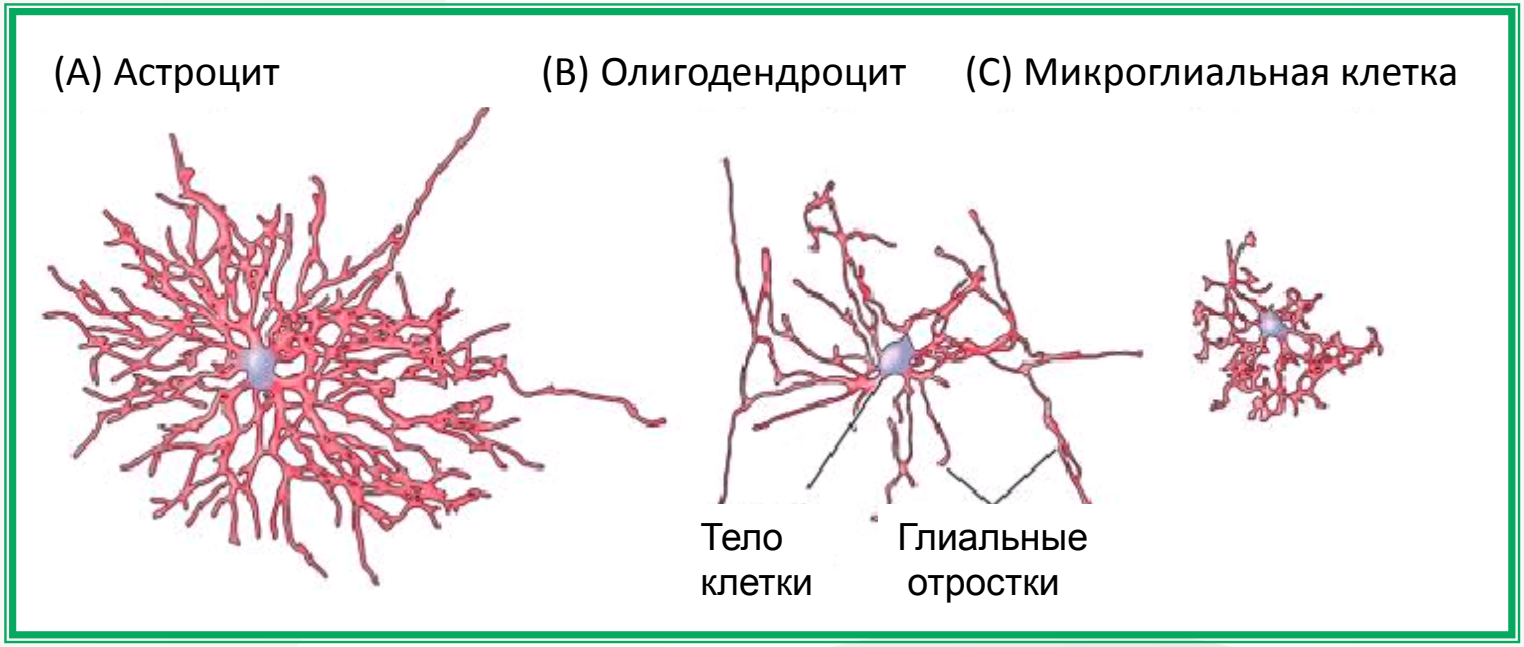


Церебролизин значимо уменьшает образование свободных радикалов при экспериментально вызванной ишемии в модели *in vivo*

Противовоспалительное действие

ЦНС: глиальные клетки

- **Астроциты: структура**
- **Эпендимальные клетки: выстилают желудочки**
- **Олигодендроциты: генерация миелина**
- **Микроглиальные клетки: иммунная система**



Противовоспалительное действие

Функции глиальных клеток

- Формирование структуры и защита нейрона
- Миграция направления развития нейронов на ранней стадии
- Обеспечение нейронов трофическими факторами
- Буферный уровень внеклеточных ионов
- Запас гликогена как энергетического резерва ГМ
- Высвобождение нейроактивных агентов
- Участие в развитии иммунного ответа мозга
- Формирование рубцовой ткани на месте гибели нейронов

Противовоспалительное действие

Микроглия: Иммунная система ЦНС

- **Активированные глиальные клетки вырабатывают провоспалительные цитокины IL-1**
- **IL-1β вовлечены в нейрогенез множества острых и хронических воспалительных заболеваний (БА)**
- **При БА уровени IL-1β значительно повышены в ЦСЖ, крови и ткани мозга**

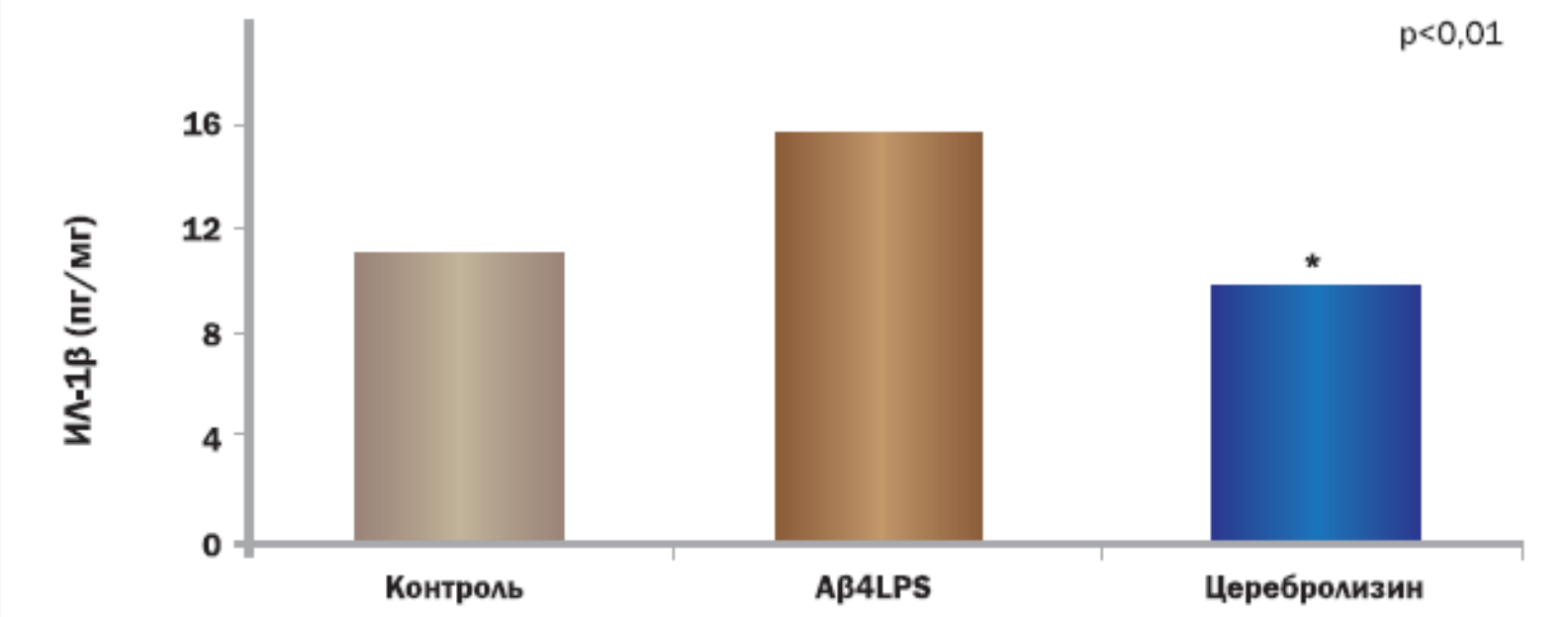
Противовоспалительное действие

✓**Воспалительная реакция** – нормальный физиологический процесс – должна быть немедленно прекращена, как только положительная роль этой реакции выполнена, с целью предотвращения ненужного "случайного" повреждения тканей

✓В противном случае, развивается **хроническое воспаление** с нарушением репаративных процессов в ткани

✓Такая патологическая воспалительная реакция ассоциируется с острыми и хроническими нейродегенеративными процессами, когда **активируются клетки глии**

Противовоспалительное действие



Влияние Церебролизина на уровень интерлейкина-1β в коре животных в модели болезни Альцгеймера у трансгенных мышей.

Alvarez X A et al., Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection, J Neuronal Trasnsm (2000);[Suppl] 59:281-292

Иммуномодулирующее действие *in vivo* в экспериментальной модели б. Альцгеймера на трансгенных животных (Aβ4LPS)

Противовоспалительное действие

Уменьшение воспалительной p<0,01 реакции за счет Церебролизина в модели на основе первичной культуры клеток микроглии.

Alvarez XA et al., Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection, J Neuronal Trasnsm (2000); [Suppl] 59:281-292

Церебролизин уменьшает вызванную липополисахаридами секрецию ИЛ-1β

Антиапоптическое действие

Апоптоз

«Физиологическая» смерть клетки:

- Уплотнение ДНК
- Фрагментация ДНК
- Уменьшение клетки
- Апоптоидные тела

Некроз

«Патологическая» смерть клетки:

- Массивный приток ионов
- Разбухание митохондрий
- Неспецифические повреждения ДНК
- Плазма-мембранные разрывы

Антиапоптическое действие

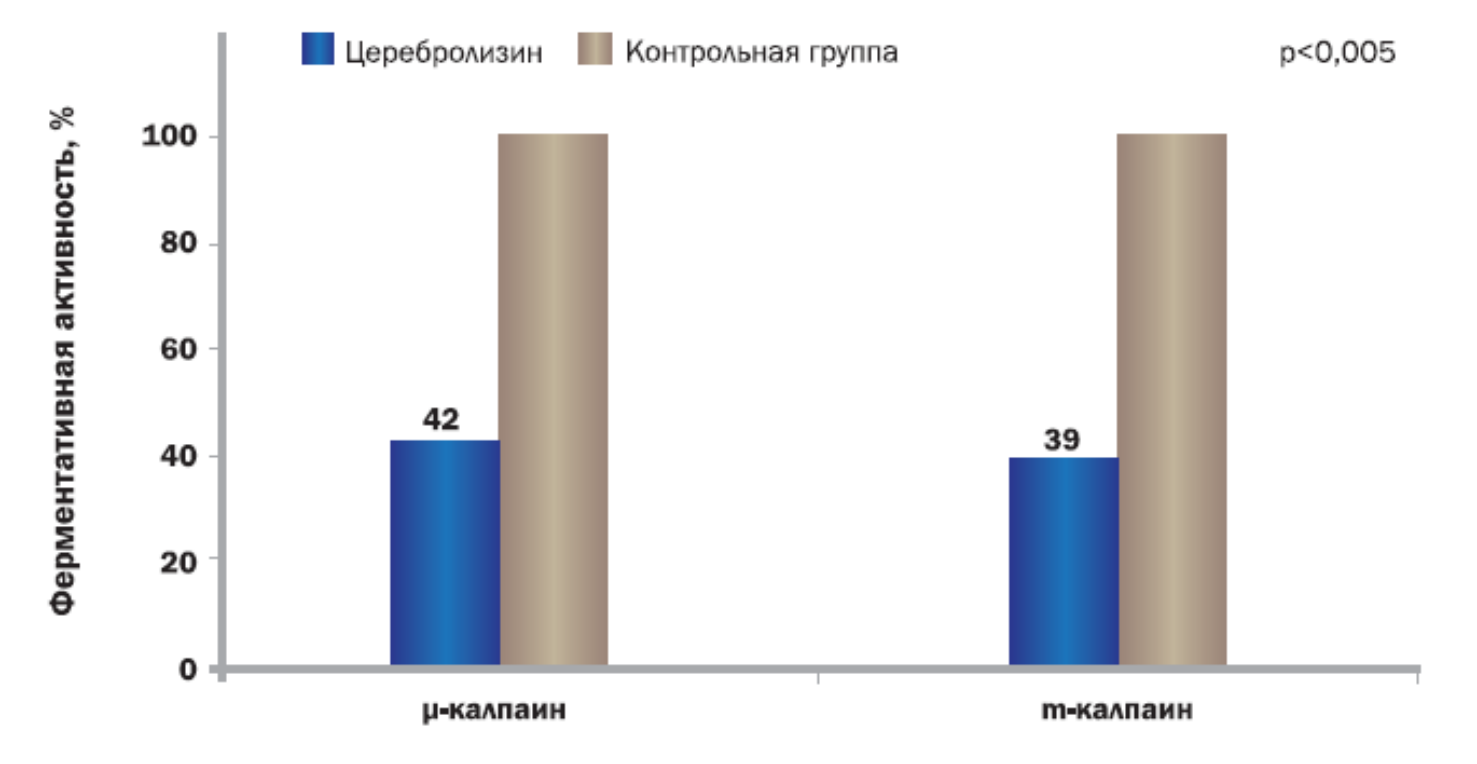
✓В отличие от физиологического, **патологический апоптозный каскад** происходит в результате острого или хронического повреждения, несмотря на участие одних и тех же молекулярных механизмов

Отличие - в недостаточном контроле над началом процесса в патологически измененной нервной ткани

✓**Развитие апоптоза** начинается с поступления в клетку большого количества ионов Ca2+, что приводит к активации внутриклеточных ферментов — кальпаинов

✓**Патологически гиперактивированный кальпаин** разрушает белки цитоскелета, такие как MAP-2 (белок, ассоциированный с микротрубочками-2), а также ряд других белков.
В результате **развивается апоптоз и клетки гибнут…**

Антиапоптическое действие

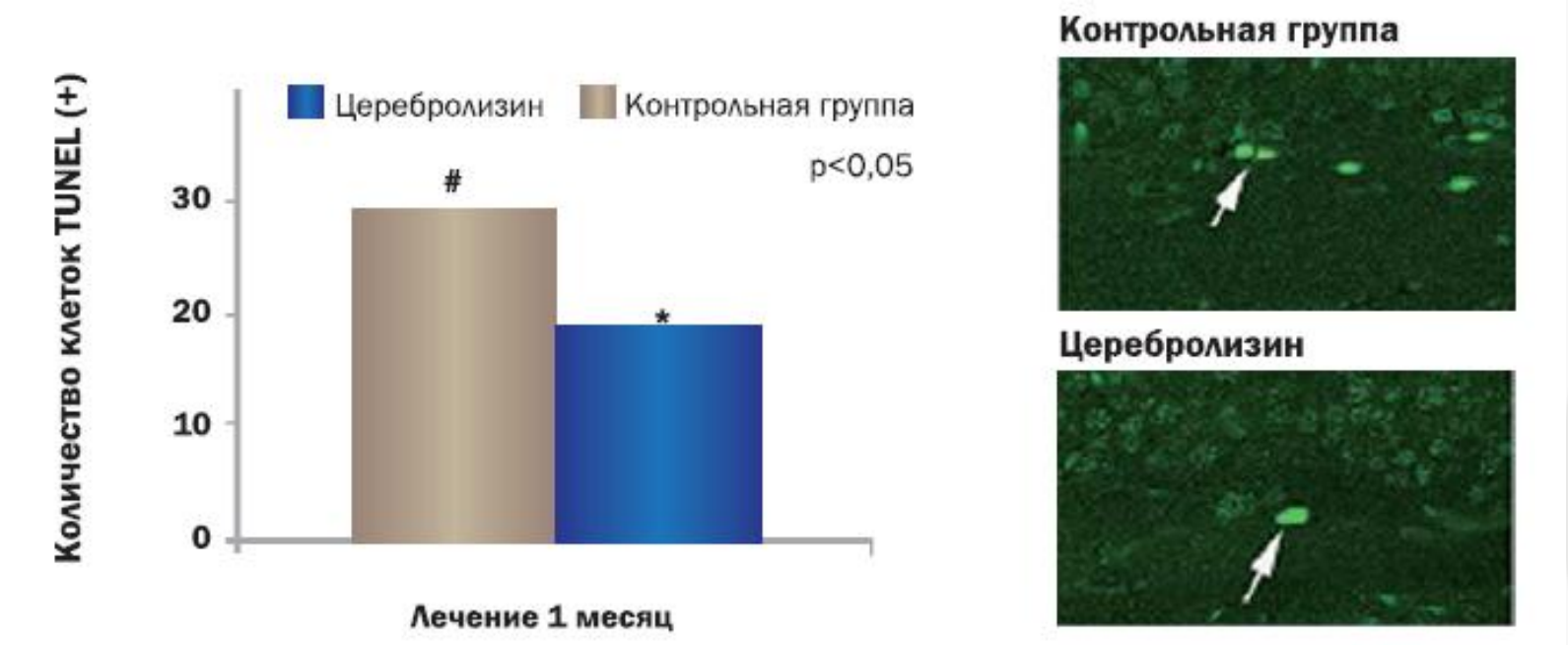


Церебролизин уменьшает активность калпаина на 60%.

Wronski R et al., Inhibitory effect of a brain derived peptide preparation on the intracellular calcium Ca++-dependent protease, calpain. J Neural Transm (2000); 107: 145-57

Церебролизин *in vitro* снижал активность калпаина и уменьшал апоптотическую гибель нейронов

Антиапоптическое действие



Значимое снижение количества апоптозных ядер в гиппокампальной субгранулярной зоне зубчатой извилины у БПА-трансгенных мышей, получивших лечение Церебролизином.

Rockenstein E et al., Effects of Cerebrolysin on neurogenesis in an APP trangenic model of Alzheimer's disease, Acta Neuropathol (2007); 113:265-275.

На более поздних стадиях апоптозного каскада происходит фрагментация ДНК, которая является независимым индикатором дегенерации нейронов

Церебролизин значительно уменьшает количество апоптозных ядер на модели б. Альцгеймера (у трансгенных животных)

Антиамилоидное действие

✓**Патологическая агрегация протеинов** может быть причиной многих серьезных заболеваний, известных как протеопатии

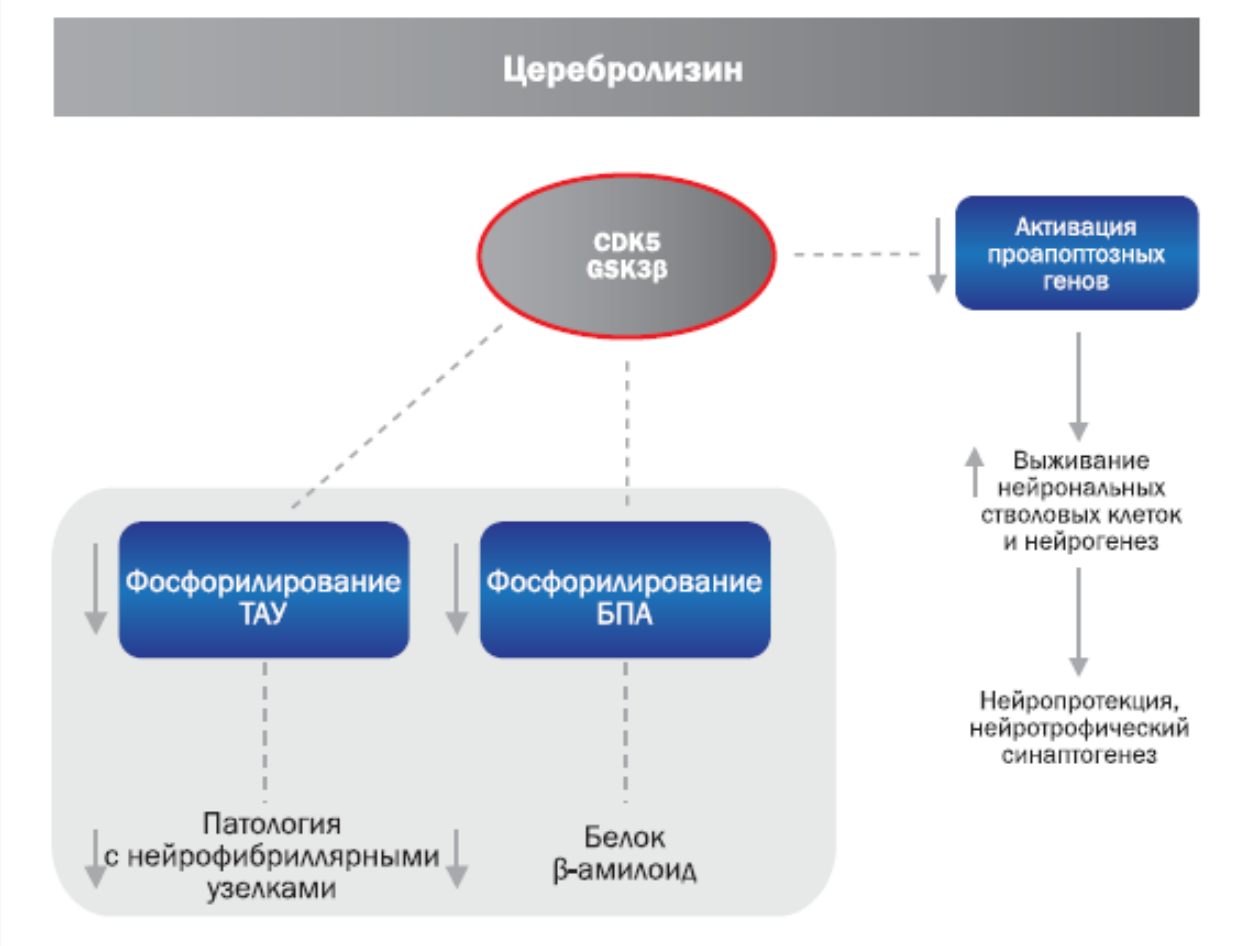
✓При этих заболеваниях некоторые **белки имеют аномальную структуру** и нарушают функционирование клеток, тканей и органов

✓**Белки не сворачиваются в свою обычную конфигурацию** – при такой ненормальной структуре белки могут быть токсичными или перестают выполнять свои обычные функции

✓**Протеопатии** включают б. Альцгеймера, б. Паркинсона, сахарный диабет 2-го типа, амилоидоз, селективные гиперпротеолитические болезни и др.

✓**Внеклеточные скопления β-амилоида и внутриклеточные тау-узелки** представляют собой 2 типа белковых агрегатов, которые являются ключевым патоморфологическим признаком и вероятной причиной б. Альцгеймера

Антиамилоидное действие



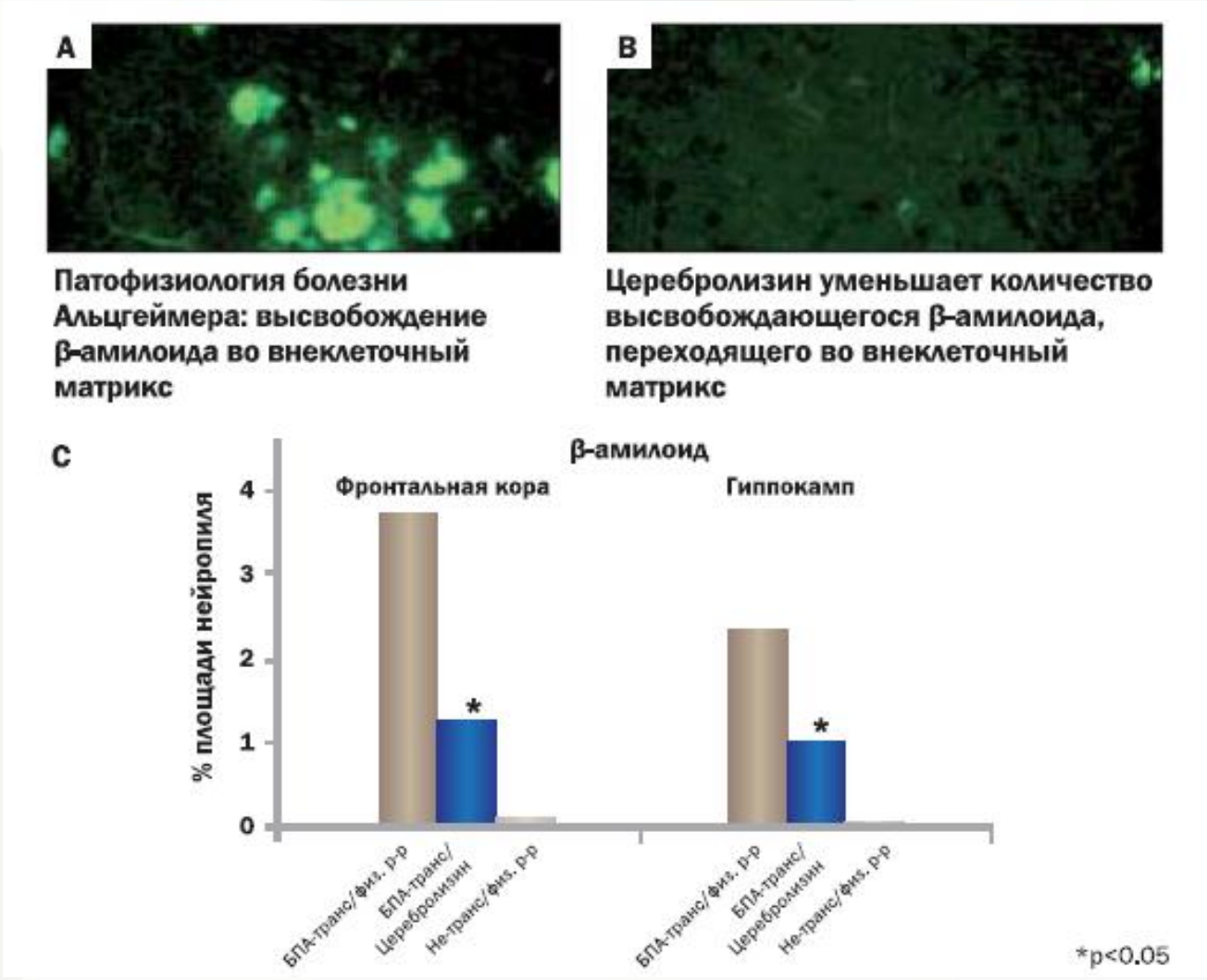
Церебролизин уменьшает накопление внеклеточных скоплений β-амилоида и внутриклеточных ТАУ-узелков

посредством модуляции активности гликогенсинтетазы киназы-3β (GSK3β) и циклинзависимой киназы-5 (CDK-5)

Антиамилоидное действие

Сравнение иммунореактивности β-амилоида (Аβ) во фронтальной коре у БПА-трансгенных мышей, получавших физ. Р-р (А) или Церебролизин (В).

Вычисление по рисунку процента площади, покрытой Аβ-иммунореактивными бляшками во фронтальной коре и гиппокампе (С).



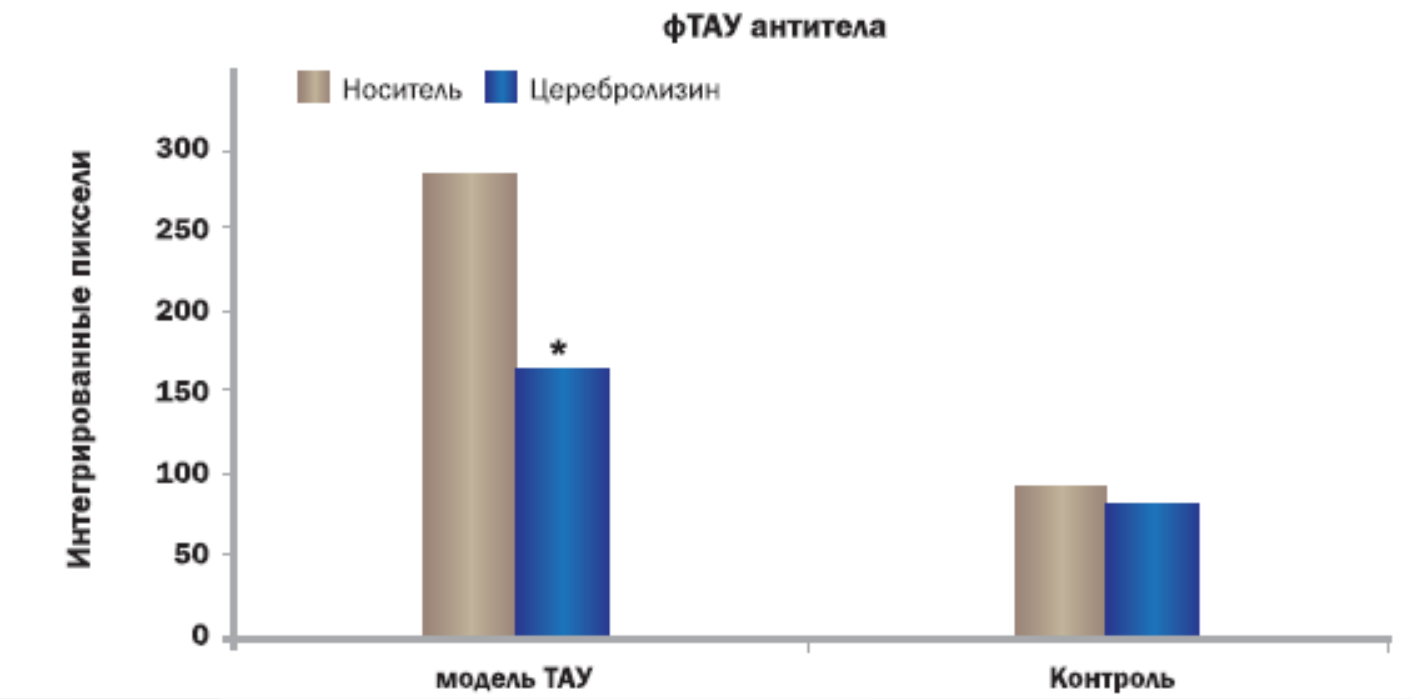
Rockenstein E et al, Cerebrolysin Decreases AmyloidSi Production by Regulating Amyloid Protein Percursor Maturation in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease; Journal of Neu roscience Research (2006); 83: 12521261

Церебролизин уменьшает накопление внеклеточных скоплений β-амилоида

Антиамилоидное действие

Количественный анализ иммунореактивности фТАУ у мышей AAV2-mut-TAU и AAV2-GFP, которые получали инъекции носителя или Церебролизина. *p<0,05.

Ubhi K et al., Neurofibrillary and neurodegenerative pathology in APP-transgenic mice injected with AAV2-mutant TAU: Neuroprotective effects of Cerebrolysin. Acta Neuropathologica (2009) подано в печать.



Церебролизин уменьшает накопление внутриклеточных ТАУ-узелков

Мультимодальное действие Церебролизина

Нейропластичность

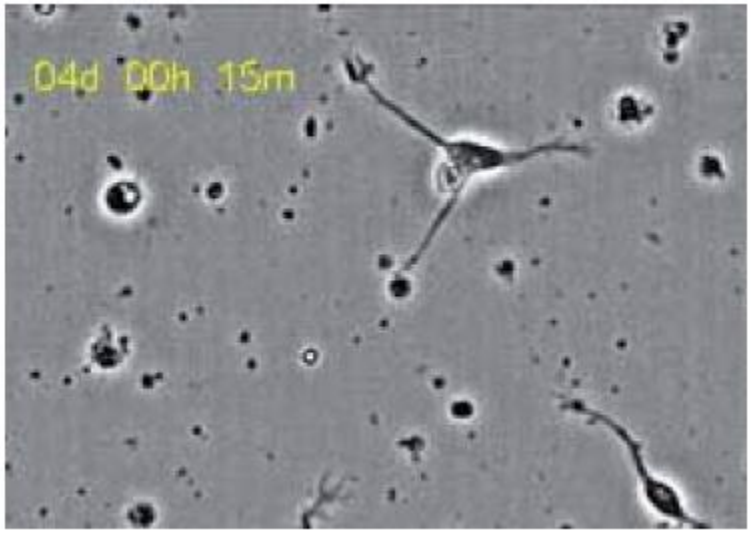
✓**Нейропластичность** - изменения организации мозга, которые происходят в результате развития нервной системы на протяжении жизни

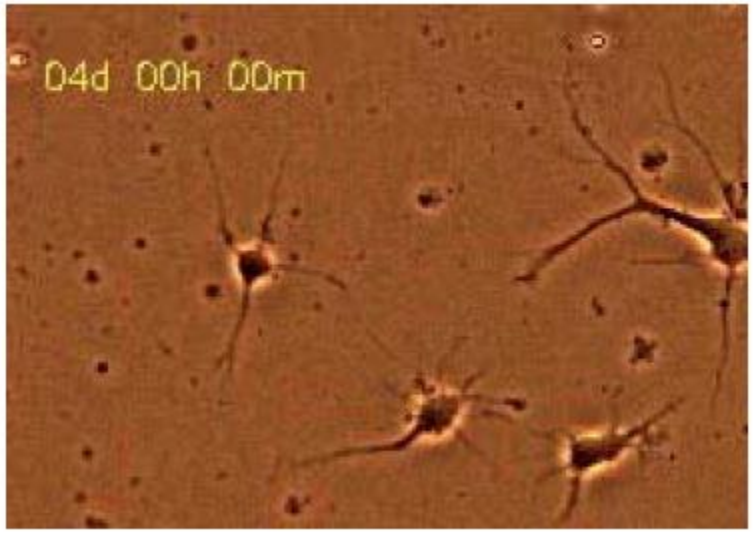
✓**Особенность нейропластичности…**
активность мозга, связанная с определенной функцией, может перемещаться в другие зоны вследствие приобретаемого опыта или повреждения и последующего восстановления мозга

✓**Нейропластичность зависит** от двух основных составляющих:
способности нервных клеток образовывать отростки и
вступать в синаптические соединения с другими нейронами

Как правило, при повреждении нервной ткани нейропластичность снижается или полностью утрачивается

Нейропластичность





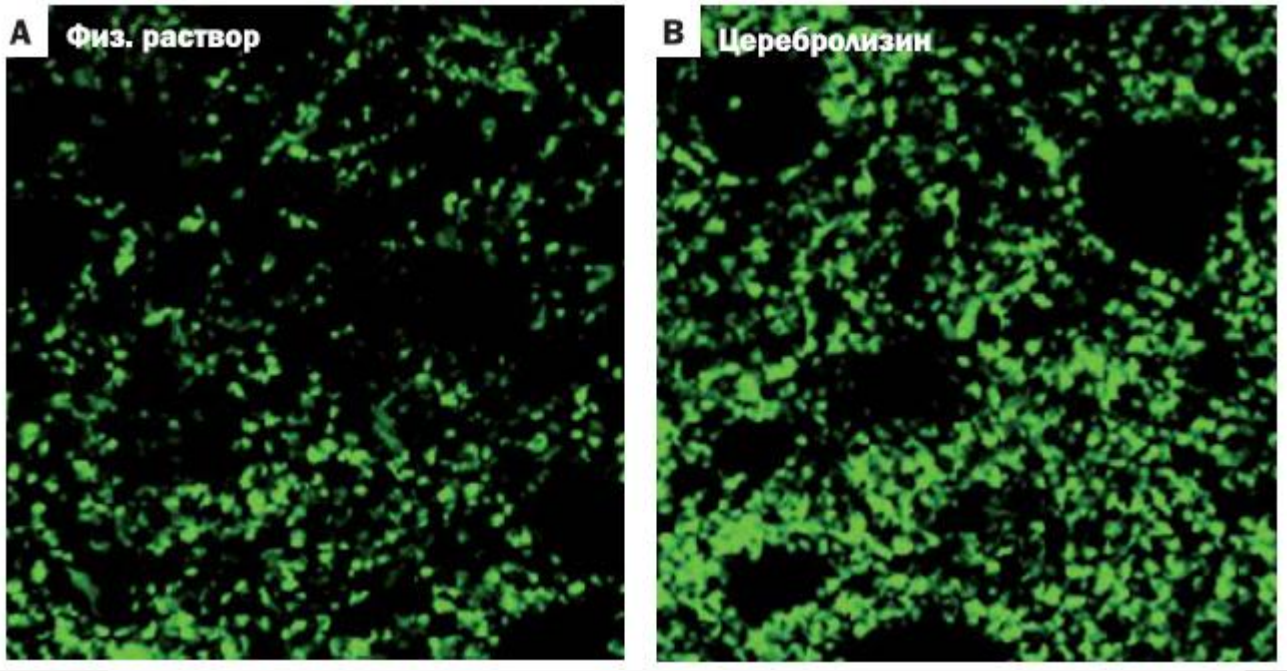
Hartbauer et al., Antiapoptotic effects of the peptidergic drug Cerebrolysin on primary cultures of embryonic chick cortical neurons. J Neural Transm. (2001b); 108: 459-473

Церебролизин индуцирует спраутинг и образование связей – увеличивает жизнестойкость нейронов

Нейропластичность

Трансгенные мыши, служащие моделью БА (mThy 1-hAPP751 tg), которые получали лечение (A) физ. р-ром или (B) Церебролизином; иммунофлуоресцентная визуализация.

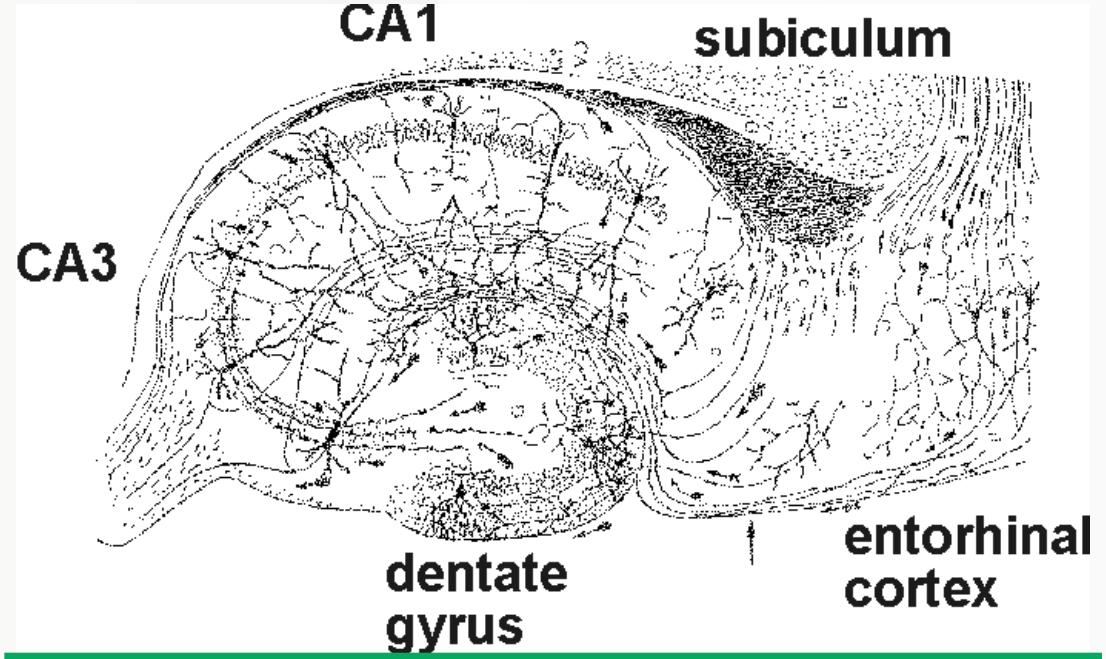
Rockenstein E et al., The neuroprotective effects of Cerebrolysin trade mark in a transgenic model of Alzheimer's disease are associated with improved behavioral performance. J Neural Transm (2003); 110: 1313-27

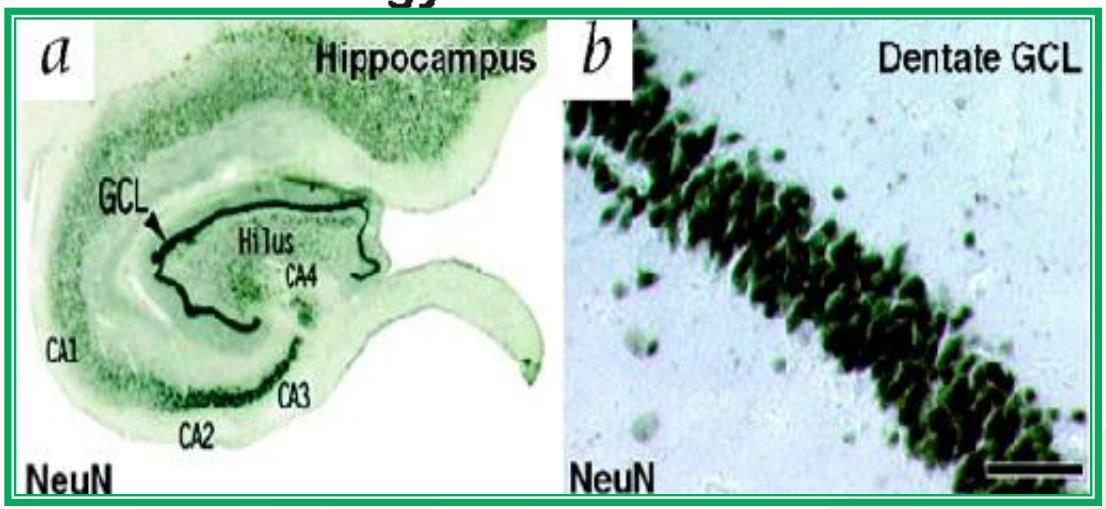


Церебролизина способствует значительному увеличению количества новых синаптических связей

в различных зонах гиппокампа

Нейрогенез

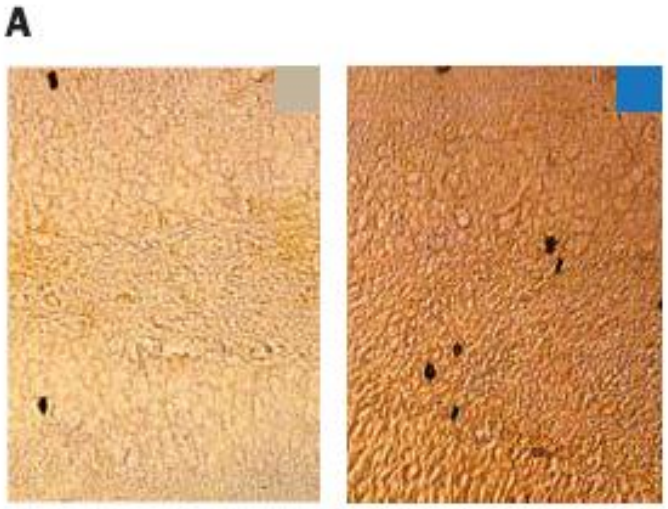


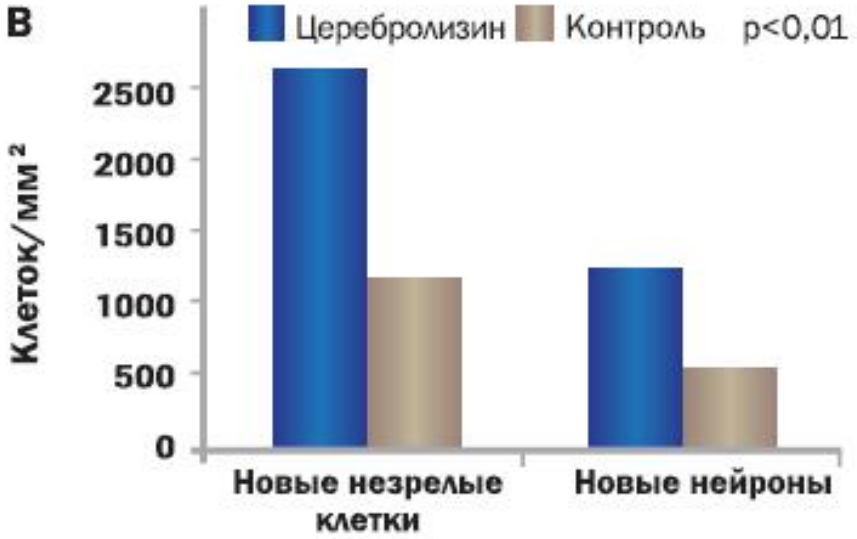


Субгранулярная зона зубчатой извилины

Стенка бокового желудочка

Нейрогенез



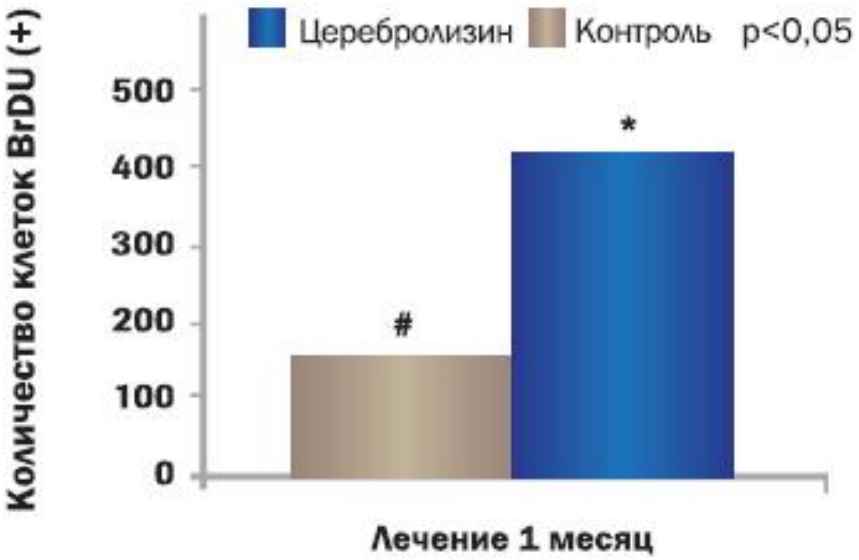


A, B. Усиление нейрогенеза в зубчатой извилине с помощью Церебролизина у нормальных взрослых крыс. BrdU иммуногистохимия.

Tatebayashi et al., The dentate gyrus neurogenesis: A therapeutic target for Alzheimer disease. Acta Neuropathol (Berl). (2003); 105:225-32.

Церебролизин стимулирует процессы нейрогенеза, способствуя оптимальному восстановлению функций мозга

Нейрогенез



Церебролизин стимулирует нейрогенез в субгранулярной зоне зубчатой извилины у трансгенных мышей – модели болезни Альцгеймера (БПА транс.).

Rockenstein E. et al., Effects of Cerebrolysin on neurogenesis in an APP transgenic model of Alzheimer's disease; Acta Neuropathol (2007); 113:265-275.

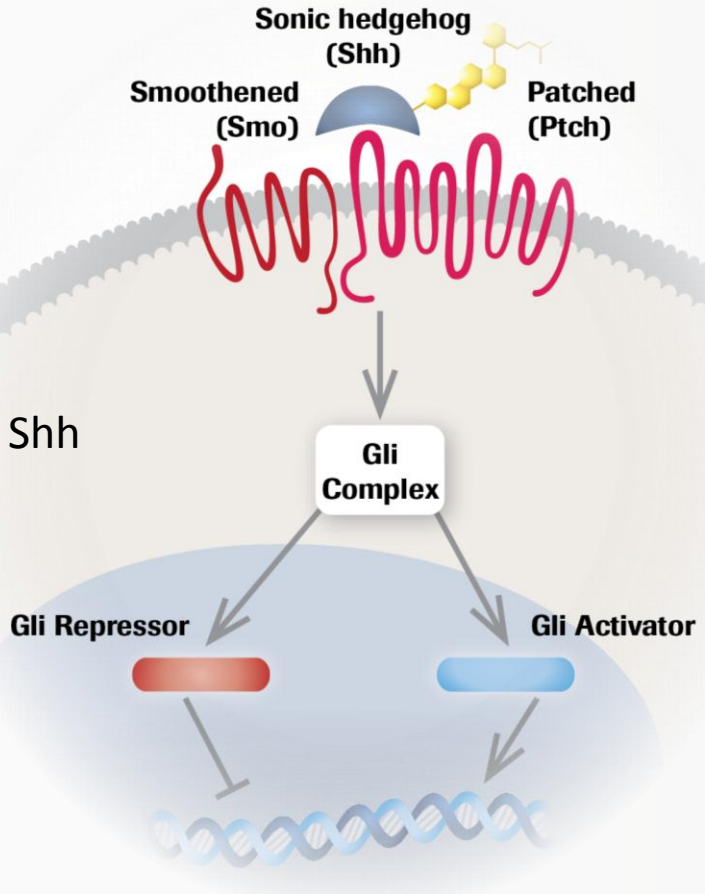
Церебролизин стимулирует процессы нейрогенеза, способствуя оптимальному восстановлению функций мозга

Sonic hedgehog (Shh) регуляция ЦНС

Sonic hedgehog сигнальный путь ответственен за запуск механизмов развития нервной ткани и ее реконструкции при повреждении через:

- стимуляцию экспрессии генов, восстанавливающих нервную ткань

Как НТФ, так и Shh – цели для разработки новых мультимодальных терапевтических агентов[1,2,3]



Gli комплекс - Shh сигнальный путь активирует факторы транскрипции и ответственен за экспрессию генов, регулирующих процессы нейро-восстановления

1. Rui Lan Zhang, Zheng Gang Zhang, Michael Chop, Ischemic stroke and neurogenesis in the subventricular zone, Neuropharmacology 2008;55:345-352
2. Lei Wang, Zheng Gang Zhang, Sara R. Gregg, Rui Lan Zhang, Zhongxian Jiao, Yvonne LeTourneau, Xianshuang Liu, Yifan Feng, Jens Gerwien, Lars Torup, Marcel Leist, Constance Tom , Noguchi, Zhi-Yong Chen and Michael Chopp, The Sonic Hedgehog Pathway Mediates Carbamylated Erythropoietin-enhanced Proliferation and Differentiation of Adult Neural Progenitor Cells, The Journal of Biological Chemistry 2007;Nov(2);vol.282;44:32462-32470
3. Teng H, Chopp M, Hozeska-Slogot A, Shen L, Lu M, Tang C, Zhang ZG, Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 contribute to sonic hedgehog-induced in vitro cerebral angiogenesis, PLoS ONE 2012;7:e33444

Механизм действия Церебролизина®

Zhang Ch, Chopp M, Cui Y, Wang L, Zhang R, Zhang L, Lu M, Szalad A, Doppler E, Hitzl M, Gang Zhang Z. Cerebrolysin Enhances Neurogenesis in the Ischemic Brain and Improves Functional Outcome After Stroke. Journal of Neuroscience Research (2010); 88:3275–3281.

Chopp M and Yi Li. Stimulation of plasticity and functional recovery after stroke- cell-based and pharmacological Therapy. European Neurological Review. 2011;6(2):97–100.

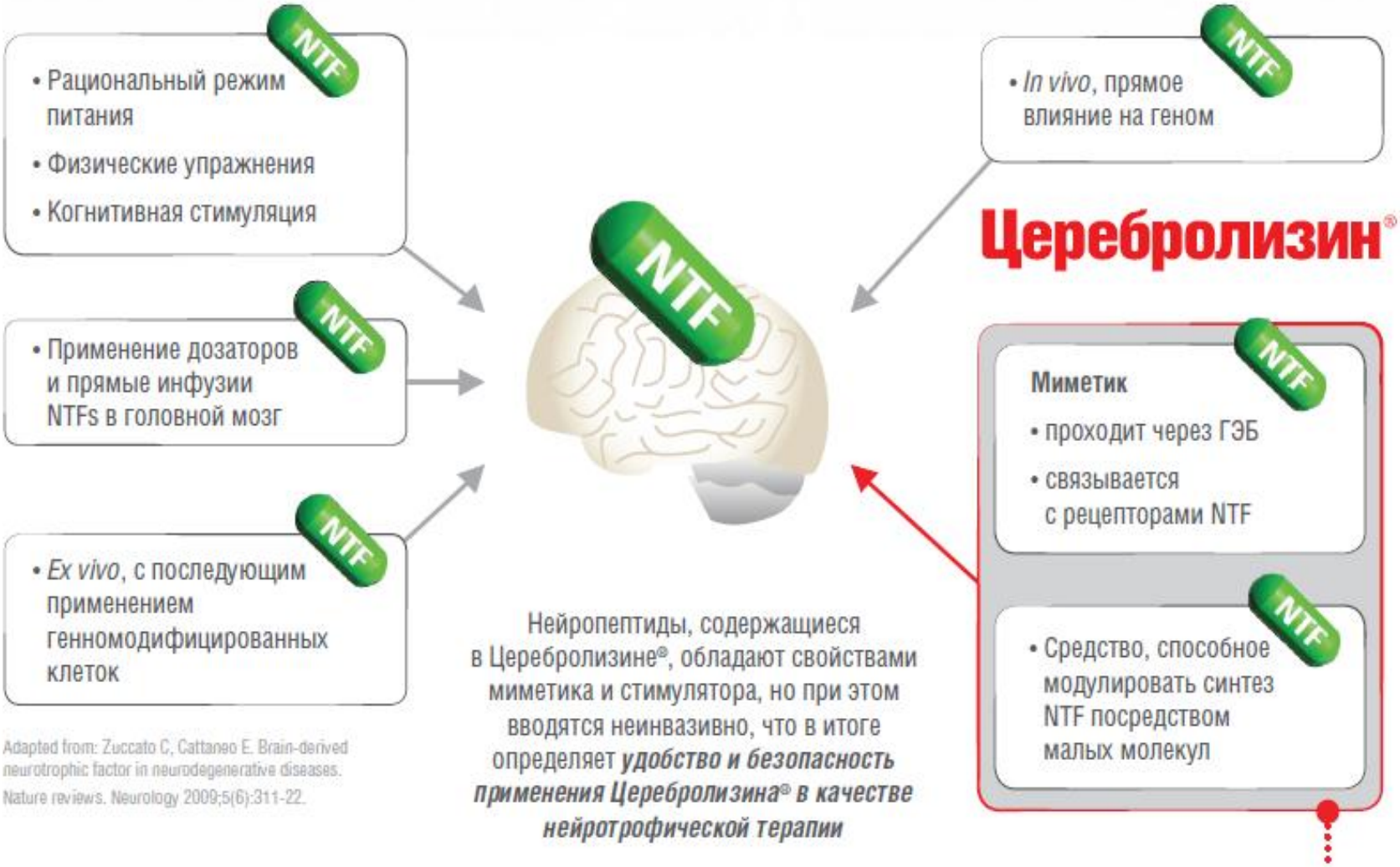
Lang W et al., A prospective, randomized, placebo controlled, double blind trial about safety and efficacy of combined treatment with Alteplase (rt-PA) and Cerebrolysin in acute ischemic hemispheric stroke. 2010 (submitted for publication).

Hong Z., Moessler H, Bornstein N, Brainin M, and Heiss W-D, CASTA-Investigators. International Journal of Stroke Vol 4,October 2009, 406–412 (and data submitted for publication).

Ladurner G., Kalvach P, Moessler H. Neuroprotective Treatment with Cerebrolysin in Patients with Acute Stroke: a randomised controlled trial. J Neural Transm. 2005; 112: 415-28.

Guekht A., Moessler H, Novak P, Gusev E on behalf of the Cerebrolysin Investigators. Prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group, multicenter study. Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases (E-Pub). 2010.

Возможные стратегии применения нейротрофических факторов (NTFs)



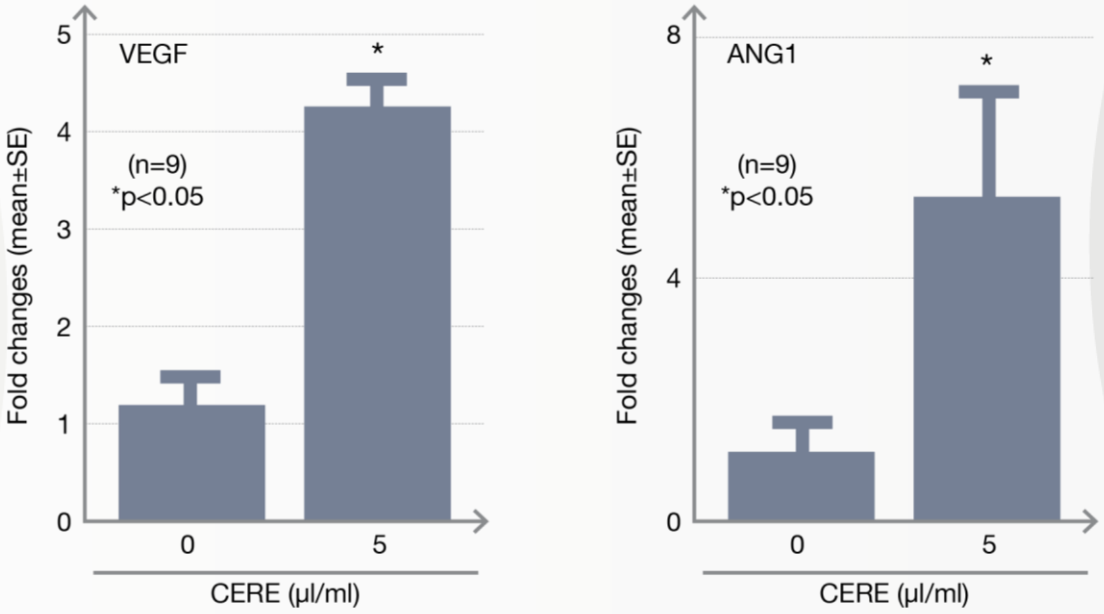
Adapted from: Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. Nature reviews. Neurology 2009;5(6):311-22.

Нейропептиды, содержащиеся в Церебролизине®, обладают свойствами миметика и стимулятора, но при этом вводятся неинвазивно, что в итоге определяет ***удобство и безопасность применения Церебролизина® в качестве нейротрофической терапии***

Церебролизин принадлежит к группе уже существующих нейротрофических препаратов

Церебролизин® стимулирует выработку НТФ в ЦНС

Церебролизин повышает экспрессию VEGF and ANG-1 в эндотелиальных клетках ГМ (показан уровень mRNA в эксперименте in vitro)

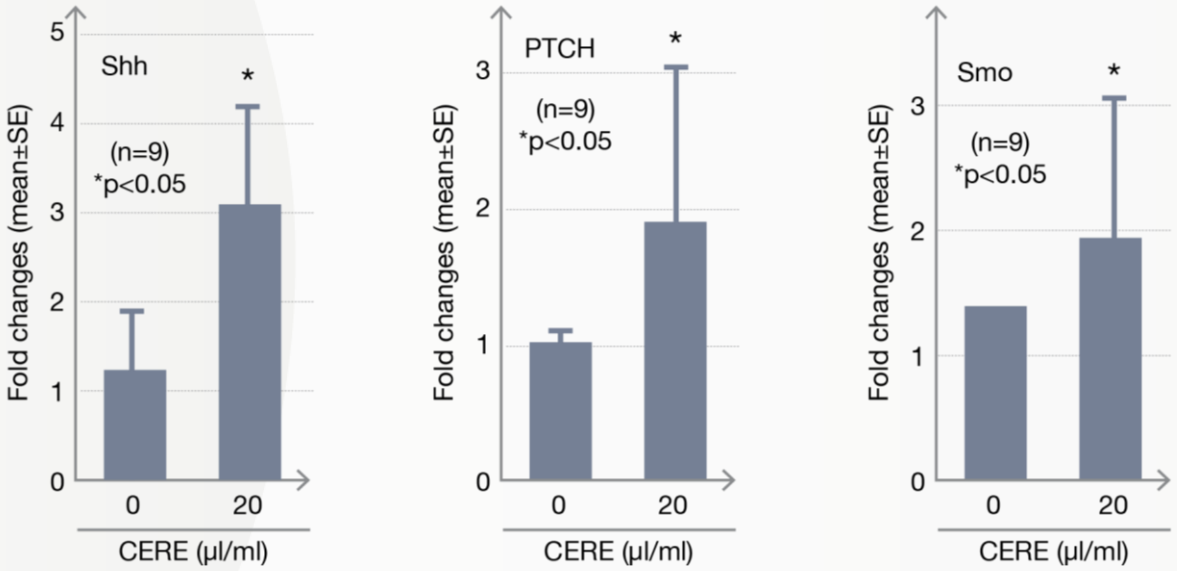


(M. Chopp, unpublished results)

1. Alvarez A., Sampedro C., Cacabelos R., Linares C., Aleixandre M., García-Fantini M. and Moessler H., Reduced TNF-α and increased IGF-I levels in the serum of Alzheimer's disease patients treated with the neurotrophic agent Cerebrolysin, International Journal of Neuropsychopharmacology 2009;12:867-872
2. Selianina N. V., Karakulova I. V., The effect of neurotrophic treatment on the activation of reparative processes in patients with acute traumatic brain injury, Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova 2012;112(5):46-9; CNS Neurol Disord Drug Targets 201;Feb;11(1):40-9
3. Menon P. K., Muresanu D. F., Sharma A., Mössler H., Sharma H. S., Cerebrolysin, a mixture of neurotrophic factors induces marked neuroprotection in spinal cord injury following intoxication of engineered nanoparticles from metals, CNS Neurol Disord Drug Targets 2012;Feb;11(1):40-9
4. Ubhi K., Rockenstein E., Vazquez-Roque R., Mante M., Inglis C., Patrick C., Adame A., Fahnestock M., Doppler E., Novak P., Moessler H. and Masliah E., Cerebrolysin Modulates Pronerve Growth Factor/Nerve Growth Factor Ratio and Ameliorates the Cholinergic Deficit in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease, Journal of Neuroscience Research 2013;91:167–177

Церебролизин® стимулирует Shh в ЦНС

Церебролизин стимулирует экспрессию компонентов sonic hedgehog сигнального пути в нейрональных клетках-предшественниках
(показан уровень mRNA в эксперименте in vitro)



Zhang L., Chopp M., Meier D. H., Winter S., Wang L., Szalad A., Lu M., Wei M., Cui Y., Zhang Z. G., Sonic Hedgehog Signaling Pathway Mediates Cerebrolysin-Improved Neurological Function After Stroke, Stroke; 2013 May 21; [Epub ahead of print]

Механизм действия Церебролизина:
Инсульт, сосудистая деменция и ЧМТ

NTFs – НТФы

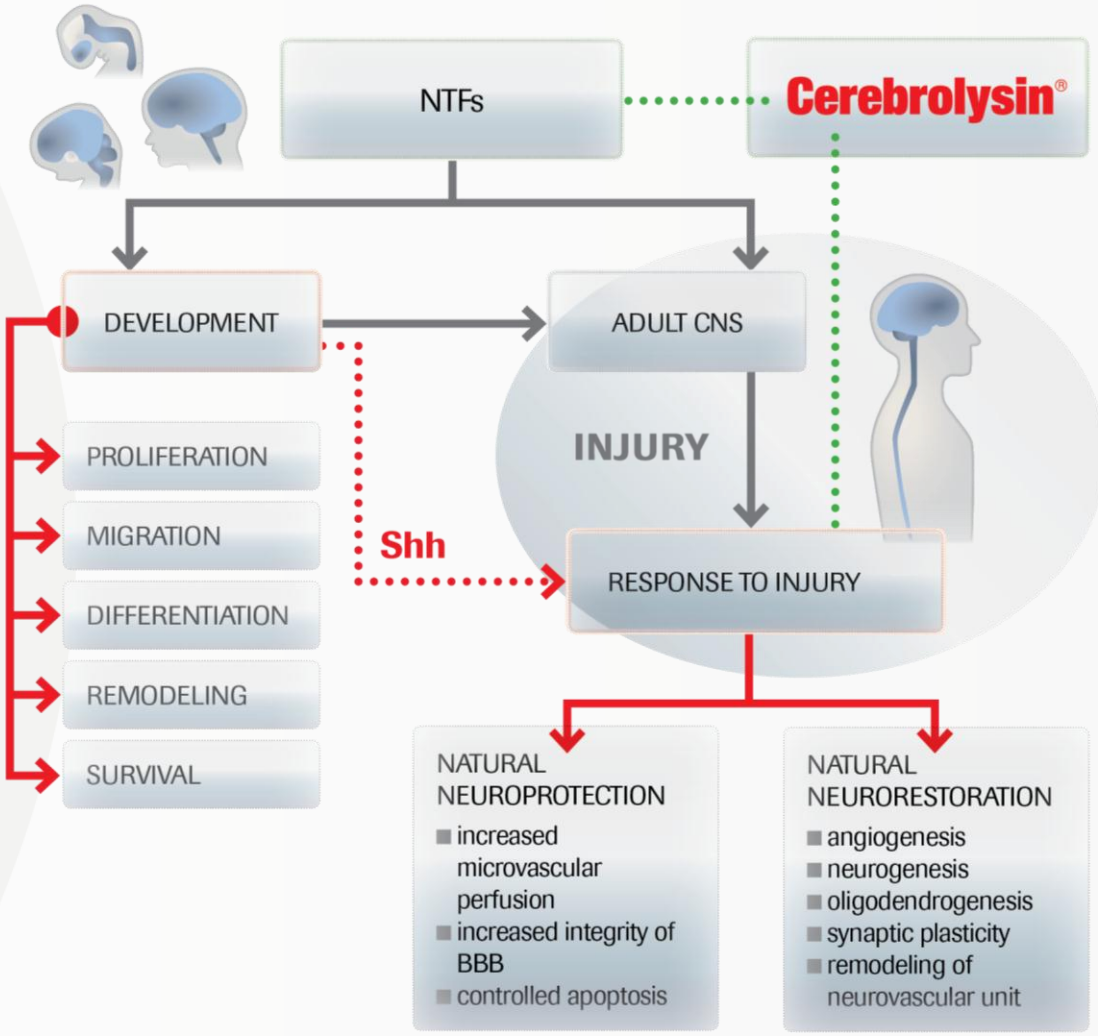
DEVELOPMENT – Развитие: НТФ контролируют процесс эмбрионального развития НС

ADULT CNS – ЦНС у взрослых: НТФ контролируют нормальные физиологические функции

INJURY – Повреждение: после повреждения НТФ регулируют процессы естественного ответа нервной ткани

Shh - **sonic hedgehog** стимулирует процессы защиты и восстановления, подобно развитию ЦНС в эмбриональный период

Церебролизин действует через стимуляцию НТФ и Shh пути сигнальной трансдукции, что ведет к естественным процессам нейропротекции и нейрорегенерации



Механизм действия Церебролизина:

б. Альцгеймера

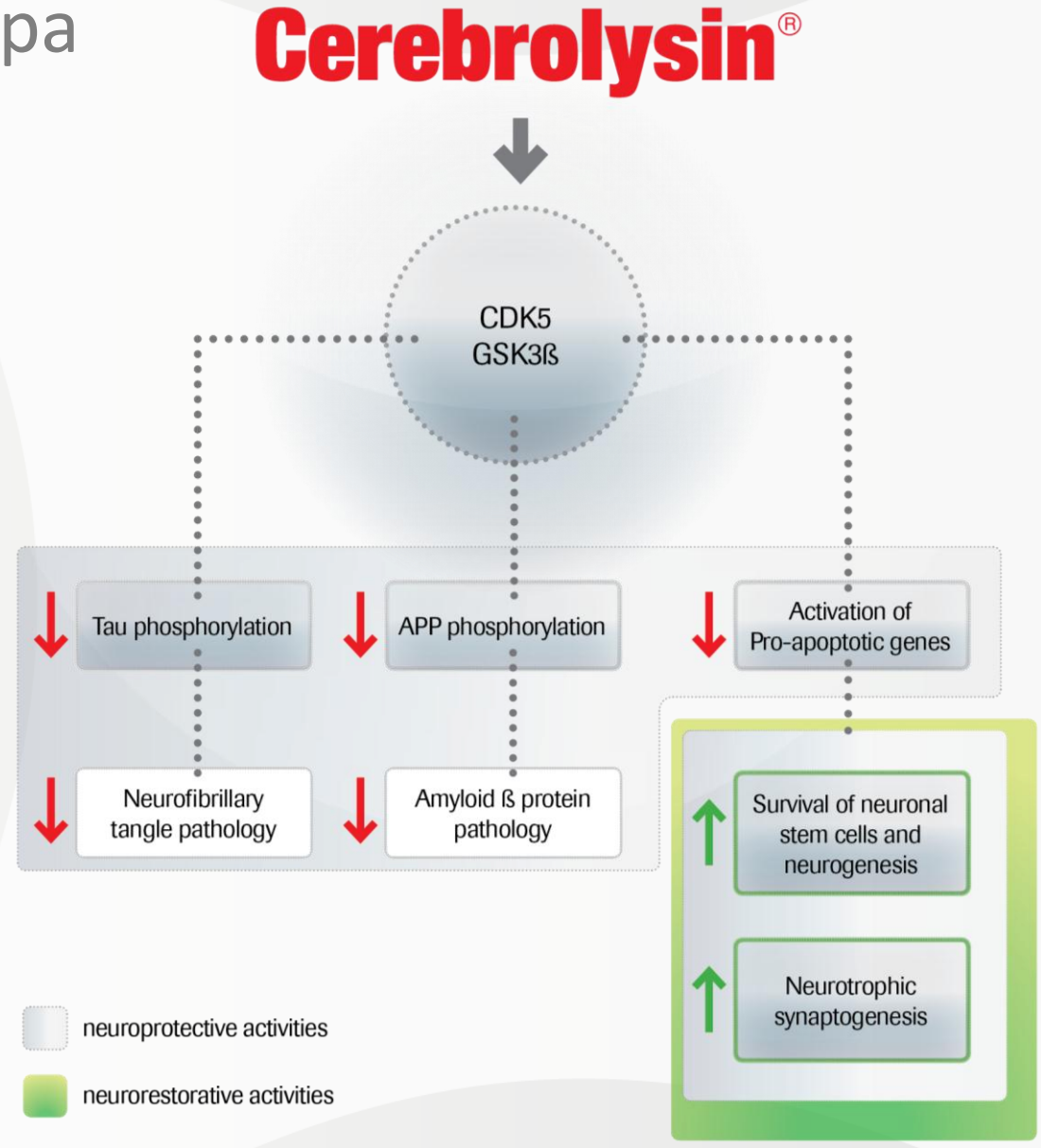
Церебролизин активирует компоненты нейротрофического сигнального пути

TAU/БПА (белок – предшественник амилодида) снижение фосфориляции ведет к уменьшению образования агрегатов токсических протеинов внутри и вне нервных клеток

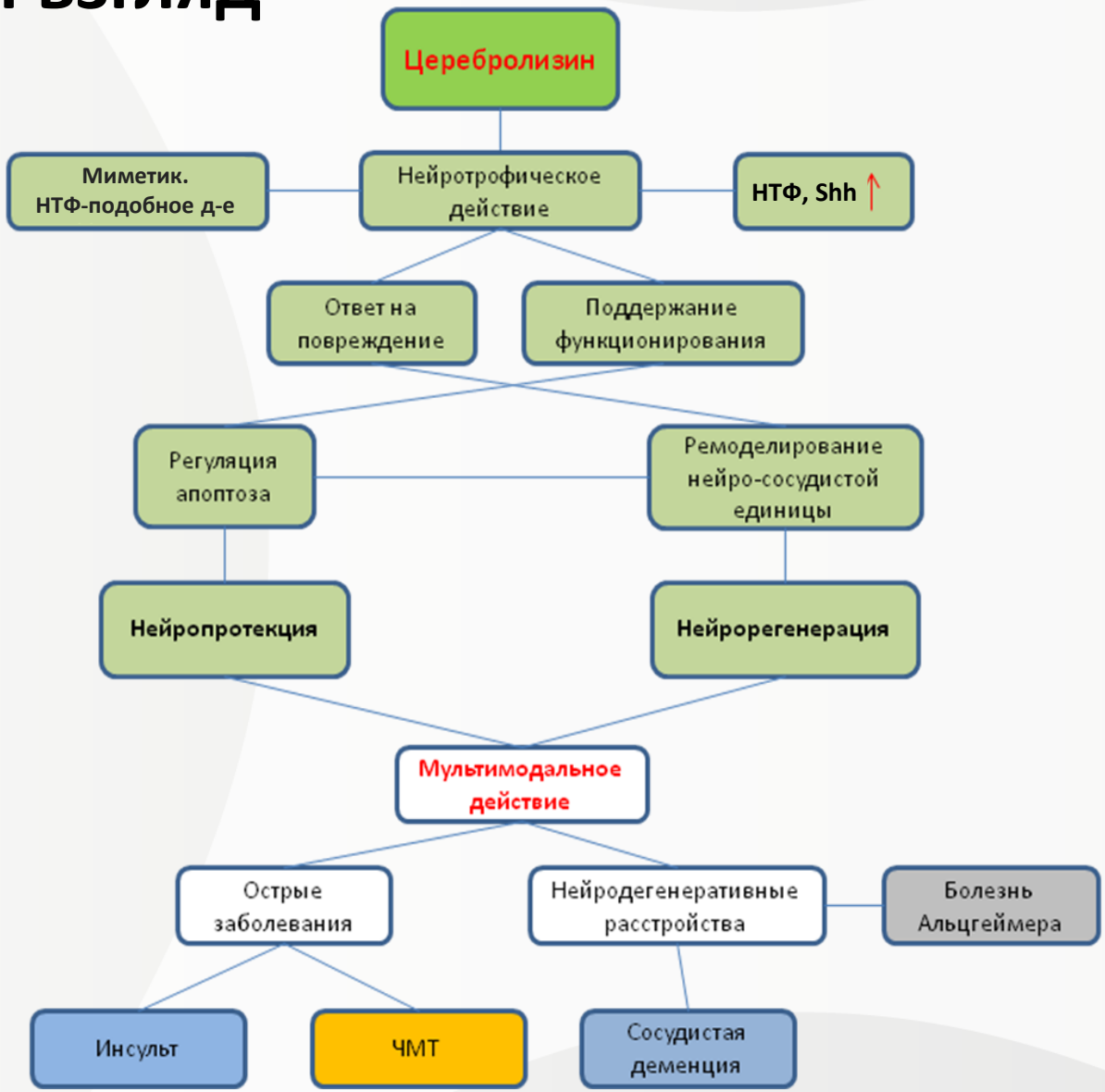
АПОПТОЗ – улучшение контроля над процессами апоптоза через подавление экспрессии про-апоптотических генов

ВЫЖИВАНИЕ – увеличение выживания нейронов и стимуляция нейрогенеза

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ СИНАПТОГЕНЕЗ – увеличение синаптической плотности ГМ



Механизм действия Церебролизина®: общий взгляд



Спасибо за внимание!