

## ВЛИЯНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ НА ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ОСВЕЩЕНИЯ

А.В.Морозов\*, Е.А.Хижкин\*, Е.Б.Свечкина\*, И.А.Виноградова\*\*,  
В.А.Илюха\*\*\*, В.Н.Анисимов\*\*\*, В.Х.Хавинсон\*\*\*\*

\*ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Республика Карелия, РФ; \*\*ФГБОУ Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Республика Карелия, РФ; \*\*\*ФГБУ НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Минздрава РФ, Санкт-Петербург; \*\*\*\*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, РФ

Исследовали влияние мелатонина и эпиталона на возрастные изменения активности протеолитических пищеварительных ферментов в тканях поджелудочной железы и слизистой оболочки желудка крыс, содержащихся при разных световых режимах. При стандартном режиме освещения активность пепсина и общая протеолитическая активность в желудке и поджелудочной железе крыс к 12-месячному возрасту увеличивались с последующим снижением. Постоянное и естественное освещение нарушало возрастную динамику активности протеолитических пищеварительных ферментов. Применение мелатонина и эпиталона при постоянном освещении восстанавливало возрастные изменения активности пепсина и не оказывало значительного влияния на общую протеолитическую активность.

**Ключевые слова:** протеолитические пищеварительные ферменты, мелатонин, эпиталон, световые режимы, старение

Свет является экологическим фактором, регулирующим периоды активности, размножения, миграцию, линьку и другие биологические процессы у животных. Реакция организма на смену световых условий окружающей среды обусловлена гормоном эпифиза (пинеальной железы) мелатонином, синтез которого подчинен циркадианной ритмике и осуществляется в темное время суток. Воздействие света вызывает эффект “физиологической пинеалэктомии” — подавления синтетической функции эпифиза [7,12]. Мелатонин является основным гормоном пинеальной железы, регулирующим многие биологические процессы. ЖКТ секретирует даже больше мела-

тонаина, чем пинеальная железа, однако эта секреция не подвержена суточной цикличности. Нарушение суточной цикличности синтеза мелатонина способно влиять на деятельность ЖКТ и даже может провоцировать язву [10]. Кроме того, мелатонин обладает геропротективным действием [1]. Усилению синтетической функции эпифиза и увеличению выброса в кровь мелатонина способствует синтетический тетрапептид эпифиза Ala-Glu-Asp-Gly (эпиталон) [4]. Ранее показано, что эпиталон оказывает регулирующее влияние на активность ферментов ЖКТ при старении [5].

Цель данного исследования — изучить влияние различных световых режимов и геропротекторов (мелатонина и эпиталона) на возрастную динамику активности протеолитических пищеварительных ферментов у крыс.

Адрес для корреспонденции: artem.morozow@yandex.ru.  
Морозов А.В.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена с использованием приборно-аналитической базы Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии Карельского научного центра РАН и в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации [6].

Опыты проводили на самцах и самках аутбредных крыс разведения НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова [9], содержащихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Животных после 1 мес жизни в случайном порядке делили на 3 группы и содержали в разных световых условиях: стандартном (12 ч свет:12 ч темнота; СО), постоянном (ПО) и естественном (ЕО) освещении Республики Карелия. С 4-месячного возраста крысы всех групп были разделены на 3 подгруппы. Крысы 1-й подгруппы получали с питьевой водой в ночное время 10 мг/л мелатонина ("Sigma"), 2-й — ежемесячно курсами 5 дней в неделю подкожно 0.1 мкг эпиталона (Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН) [2]. Крысы 3-й подгруппы являлись контрольными: одни животные получали эквивалентную инъекцию физиологического раствора в те же часы, когда проводилась инъекция эпиталона, другие — питьевую воду без мелатонина в ночное время (плацебо).

В возрасте 6, 12 и 18 мес крыс декапитировали и брали образцы тканей поджелудочной железы и слизистой оболочки желудка. Активность пепсина и общую протеолитическую активность (ОПА) определяли по приросту тирозина при гидролизе гемоглобина. Активность ферментов выражали в мкмоль продуктов гидролиза, образующихся за 1 мин в расчете на 1 г влажной ткани (мкмоль/мин/г).

Сравнение между группами проводили с применением непараметрического критерия Манна—Уитни [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В постнатальном онтогенезе активность пепсина в слизистой оболочке желудка крыс при СО достигала максимума у зрелых животных (12 мес), затем снижалась. Необходимо отметить, что возраст 12 мес у крыс приходился на весну, а 6 и 18 мес — на осенний период. Несмотря на то что крысы в течение всей жизни содержались в условиях отсутствия сезонных колебаний освещенности, возрастные изменения активности пепсина в желудке имели циркануальный характер.

Изменения активности пепсина зависели от светового режима, в котором находились животные. ПО инвертировало возрастную динамику (табл. 1) — к 12-месячному возрасту у крыс активность фермента снижалась и повышалась у стареющих (18 мес) животных. У молодых (6 мес) и зрелых крыс, содержащихся при ЕО, активность пепсина была практически на одном уровне, но различалась по сравнению с СО. Возможно, такие изменения связаны со своеобразным фотопериодом на северо-западе России (в условиях Карелии), характеризующимся длинным световым днем в весенне-летний период и короткой продолжительностью дня в осенне-зимний период.

Применение геропротекторов оказало разнонаправленное воздействие на возрастные изменения активности пепсина в зависимости от режима освещения. Мелатонин и эпиталон при СО снижали активность фермента у зрелых животных, не меняя возрастной динамики в целом. При ПО применение геропротекторов приводило к снижению данного показателя, восстанавливая

**Таблица 1.** Активность пепсина (мкмоль/мин/г) в желудке крыс разного возраста при различных режимах освещения и введении мелатонина и эпиталона ( $M \pm m$ )

Световой режим	Возраст, мес	Плацебо	Мелатонин	Эпиталон
СО	6	46.60±7.25	50.78±2.71	45.23±5.01
	12	67.42±2.65 <sup>6</sup>	60.60±6.17	53.75±3.77*
	18	31.08±4.15 <sup>12</sup>	51.50±2.73*	41.21±7.19
ЕО	6	57.60±1.78	62.45±4.05	55.05±1.73
	12	56.01±2.21 <sup>+</sup>	50.61±6.90	49.98±5.71 <sup>+</sup>
	18	43.11±4.84 <sup>6,12</sup>	50.55±1.67	52.12±1.97
ПО	6	53.63±3.01	53.90±2.54	50.39±4.28
	12	42.76±6.23 <sup>+</sup>	51.76±1.74	52.17±2.34
	18	53.18±4.78 <sup>+</sup>	40.45±5.74	33.96±4.15*

**Примечание.** Здесь и в табл. 2:  $p < 0.05$  по сравнению с \*плацебо при тех же условиях, \*плацебо при СО, 6 и 12 в верхнем индексе — по сравнению с указанным возрастом при данном световом режиме у крыс, получавших плацебо.

тем самым возрастную динамику изменения активности пепсина, что может предотвращать развитие патологических процессов при старении. Введение мелатонина и эпиталона крысам при ЕО не оказало значительного влияния на активность фермента по сравнению с плацебо.

Возрастные изменения ОПА в поджелудочной железе, как и пепсина в желудке, у крыс при СО характеризовались увеличением к 12-месячному возрасту и снижением у 18-месячных животных (табл. 2). ПО и ЕО нарушало эту ритмику. Изменение сезонных и циркадных биоритмов, сопровождаемых снижением продукции мелатонина, ускоряют старение организма, сокращают продолжительность жизни [8]. При ПО у зрелых животных ОПА значительно снижалась, а у стареющих крыс повышалась по сравнению с СО. У молодых крыс при ЕО ОПА была достоверно выше по сравнению с СО, но у зрелых и стареющих животных она снижалась и оставалась практически на одном уровне (табл. 2).

У зрелых животных, получавших мелатонин при СО, активность ОПА снижалась, у стареющих — повышалась по сравнению с плацебо. В отличие от мелатонина введение эпиталона при СО не изменяло возрастную динамику ОПА. У животных в условиях ПО геропротекторы не оказали значительного влияния на ОПА. Отдельно следует отметить, что применение мелатонина и эпиталона при ЕО вызывало снижение ОПА у зрелых и стареющих животных, восстанавливая тем самым возрастную ритмику изменения данного показателя.

Полученные нами результаты свидетельствуют о снижении в процессе старения как активности пепсина в желудке, так и ОПА в поджелудочной железе у крыс. При этом возрастная динамика активности ферментов имела сезонный характер. Отмечено снижение активности пепси-

на и ОПА в осенний период (6 и 18 мес) и повышение весной (12 мес). Различные световые режимы оказывали модулирующее влияние на возрастные изменения активности протеолитических пищеварительных ферментов. ПО вызывало инверсию возрастной динамики, а при ЕО наблюдалось постепенное снижение при старении крыс активности пепсина в желудке и ОПА в поджелудочной железе. Наблюдаемые в этих световых условиях изменения, очевидно, необходимо позиционировать как нарушение возрастной динамики активности ферментов, что может повлечь за собой ухудшение состояния организма и инициализацию различных патологических процессов. По нашему мнению, выявленные закономерности связаны прежде всего с изменением синтеза мелатонина эпифизом при смене световых условий. При этом более экстремальные условия освещения вызывали более негативные эффекты. Известно, что ЖКТ наряду со способностью самостоятельно синтезировать мелатонин, накапливает и гормон эпифизарного происхождения из кровеносного русла [10]. Очевидно, что изменение концентрации последнего при воздействии ПО или специфического ЕО Карелии приводило к нарушению возрастной динамики активности протеолитических ферментов в желудке и поджелудочной железе. Введение геропротекторов крысам при СО приводило к повышению активности протеолитических пищеварительных ферментов. Наблюдаемые изменения могли быть связаны со способностью мелатонина усиливать секрецию пищеварительных ферментов [11]. Применение мелатонина и эпиталона на фоне угнетения синтетической функции эпифиза при ПО оказывало благоприятное воздействие лишь на активность пепсина.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (НШ-1410.2014.4), РФФИ (грант № 12-

**Таблица 2.** ОПА (мкмоль/мин/г) в поджелудочной железе крыс разного возраста при различных режимах освещения и введении мелатонина и эпиталона ( $M \pm m$ )

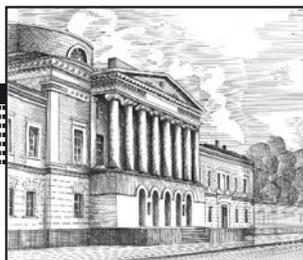
Световой режим	Возраст, мес	Плацебо	Мелатонин	Эпиталон
СО	6	70.43±3.06	78.59±3.93	66.76±4.72
	12	89.20±4.41 <sup>6</sup>	70.53±4.20*	74.02±5.27
	18	62.99±2.38 <sup>12</sup>	71.06±5.10	63.97±2.36
ЕО	6	85.99±4.18 <sup>+</sup>	77.92±1.92	77.27±3.95
	12	77.31±4.85	67.19±1.66	76.31±3.36
	18	76.84±5.22 <sup>+</sup>	61.75±6.37	62.10±1.04*
ПО	6	70.19±6.54	67.31±3.91	65.27±1.14
	12	61.65±4.09 <sup>+</sup>	66.82±6.10	66.53±3.05
	18	83.40±8.98	88.14±3.65	77.12±4.62

04-31368), программы “УМНИК-2013” и программы стратегического развития Петрозаводского государственного университета.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб., 2003.
2. *Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Заварзина Н.Ю. и др.* // Рос. физиол. журн. 2001. Т. 87, № 1. С. 125-136.
3. *Коросов А.В., Горбач В.В.* Компьютерная обработка биологических данных. СПб., 2007.
4. *Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н.* Пептидные биорегуляторы и старение. СПб., 2003.
5. *Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Тимофеева Н.М. и др.* // Бюл. экспер. биол. 2002. Т. 133, № 3. С. 337-339.
6. *Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации* / Под. ред. Ю.Б.Белоусова. М., 2005.
7. *Anisimov V.N.* // Neuro Endocrinol. Lett. 2006. Vol. 27, N 1-2. P. 35-52.
8. *Anisimov V.N., Khavinson V.K., Provinciali M. et al.* // Int. J. Cancer. 2002. Vol. 101, N 1. P. 7-10.
9. *Anisimov V.N., Pliss G.B., Iogannsen M.G. et al.* // J. Exp. Clin. Cancer Res. 1989. Vol. 8, N 4. P. 254-262.
10. *Huether G., Messner M., Rodenbeck A., Hardeland R.* // J. Pineal Res. 1998. Vol. 24, N 3. P. 146-151.
11. *Jaworek J., Nawrot-Porabka K., Leja-Szpak A. et al.* // J. Physiol. Pharmacol. 2007. Vol. 58, Suppl. 6. P. 65-80.
12. *Simonneaux V., Ribelayga C.* // Pharmacol. Rev. 2003. Vol. 55, N 2. P. 325-395.

Получено 04.06.14



# [www.iramn.ru](http://www.iramn.ru)

**Уважаемые читатели!**  
Приглашаем вас посетить сайт  
ИЗДАТЕЛЬСТВА РАМН

- ▶ *аннотации изданных книг*
- ▶ *содержание номеров журнала “Бюллетень экспериментальной биологии и медицины” и приложений к нему*
- ▶ *авторский указатель к журналу*
- ▶ *тексты приложений к журналу*
- ▶ *содержание номеров журнала “Клеточные технологии в биологии и медицине”*
- ▶ *полезная информация для авторов (правила, ГОСТы, сокращения названий журналов и др.)*
- ▶ *и многое другое*