

## ПРИМАТОЛОГИЯ

### РЕГУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ЭПИТАЛОНА НА ПРОДУКЦИЮ МЕЛАТОНИНА И КОРТИЗОЛА У СТАРЫХ ОБЕЗЬЯН

Н.Д.Гончарова, В.Х.Хавинсон\*, Б.А.Ланин

*НИИ медицинской приматологии РАНН, Сочи; \*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАНН*

Изучали характер секреции мелатонина и кортизола иммуноферментным методом у самок макак резусов в разные возрастные периоды при введении эпیتالона. Установлено, что эпیتالон оказывает значительное стимулирующее действие на синтез мелатонина в вечернее время у старых обезьян, нормализуя при этом циркадный ритм секреции кортизола.

**Ключевые слова:** мелатонин, кортизол, циркадные ритмы, эпیتالон, обезьяны

Результаты многочисленных экспериментов свидетельствуют о выраженном снижении содержания мелатонина в крови при старении у человека и животных [11-13]. Установлено, что этот гормон играет ключевую роль в контроле биологических ритмов, а также оказывает разнообразное влияние на деятельность эндокринной, нервной и иммунной систем [12,13]. Со снижением продукции мелатонина связывают развитие возрастных нейродегенеративных изменений и некоторых заболеваний [12,14]. Введение мелатонина оказывает геропротекторное действие [2,5, 9,12,13], однако при этом в ряде случаев возникают значительные побочные эффекты, такие как неопластический рост и др. [6]. В этой связи важным представляется поиск стимуляторов эндогенной секреции мелатонина, из которых, по-видимому, наиболее перспективными могут явиться физиологически активные препараты эпифиза — эпیتالамин и эпیتالон [1,6].

Фармакопейный препарат эпیتالамин представляет собой комплекс пептидов, выделенных из пинеальной железы, а тетрапептид эпیتالон (Ala-Glu-Asp-Gly) сконструирован на основе анализа аминокислотного состава эпیتالаминина и синтезирован в лаборатории химии пептидов (зав. — канд. хим. наук Е.И.Григорьев) Санкт-

Петербургского Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАНН. Ранее показано выраженное регулирующее влияние этих препаратов на функцию многих органов и систем [1,6].

В данной работе представлены результаты изучения влияния эпیتالона на секрецию мелатонина и кортизола у обезьян в разные возрастные периоды.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 6 молодых половозрелых (6-8 лет; средний возраст  $7.0 \pm 0.3$  года) и 6 старых (20-26 лет,  $22.8 \pm 1$  года) самок макак резусов (*Macaca mulatta*) из Адлерского приматологического центра. Масса тела молодых обезьян составляла  $5.1 \pm 0.9$  кг, старых —  $4.8 \pm 0.2$  кг. У всех молодых животных регистрировались нормальные оварийно-менструальные циклы, в то же время у старых животных были отмечены нарушения со стороны репродуктивной системы (от относительно кратковременной аменореи до полного отсутствия менструальных циклов).

Обезьяны содержались в индивидуальных метаболических клетках в отдельном помещении при регулярном цикле день/ночь с освещением с 8.00 ч до 19.00 ч в летний период (июнь-июль). Животные получали сбалансированное питание и в неограниченном количестве воду.

После 3-недельного периода адаптации к условиям содержания и процедуре взятия крови

Адрес для корреспонденции: 354376 Сочи-А, Веселое 1. НИИ медицинской приматологии РАНН. irpim@yochi.net. Гончарова Н.Д.

животным вводили эпیتالон (по 10 мкг в 1 мл на одно животное, внутримышечно) либо плацебо — физиологический раствор (по 1 мл внутримышечно). Из обезьян соответствующих возрастов сформированы 2 контрольные (плацебо) и 2 опытные (эпیتالон) группы по 3 особи в каждой. Эпیتالон и физиологический раствор вводили в 9.00 ч в течение 10 сут. Кровь брали 2 раза (в 9.00 ч и 21.00 ч) на 10-е сутки введения препаратов из локтевой или бедренной вен с использованием гепарина в качестве антикоагулянта. Кровь центрифугировали 15 мин при 2000g, отделяли плазму и хранили ее при  $-50^{\circ}\text{C}$  до проведения гормонального анализа.

В плазме крови с помощью наборов для иммуноферментного анализа определяли содержание мелатонина ("Immuno Biological Laboratories") и кортизола ("АО Алкор Био"). Чувствительность метода для определения кортизола составляла 10 нмоль/л, мелатонина — ниже 3 пг/мл. Коэффициенты корреляции значений уровня кортизола и мелатонина в образцах сывороток, поставленных фирмами-производителями, и контрольных сывороток макак резусов не превышали 12%.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием *t* критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

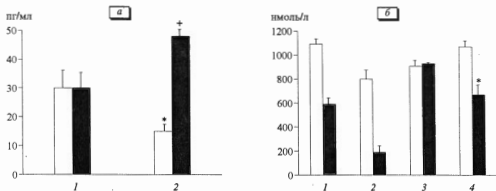
У старых контрольных животных содержание мелатонина было в 2 раза меньше ( $p < 0.01$ ), чем

у молодых, особенно в вечернее время (рисунок а), что согласуется с данными литературы о снижении содержания уровня мелатонина в крови у человека и животных при старении [11-13].

Следует отметить, что концентрация мелатонина как у молодых, так и у старых контрольных животных в 21.00 ч была выше по сравнению с концентрацией этого гормона в 9.00 ч ( $30 \pm 9$  и  $17 \pm 7$  пг/мл у молодых самок,  $15 \pm 3$  и  $10 \pm 2$  пг/мл у старых животных соответственно), что также соответствует данным о повышении уровня секреции мелатонина в вечернее время [11-13].

При введении эпیتالона зарегистрировано статистически достоверное повышение концентрации мелатонина у старых обезьян в вечернее время (рисунок, а). Так, у 20-26-летних животных, получавших эпیتالон, она более чем в 3 раза превысила соответствующее значение в контрольной группе ( $p < 0.001$ ), в то время как у молодых обезьян введение эпیتالона не оказывало существенного влияния на содержание мелатонина в крови.

При анализе полученных данных следует обратить внимание на существование возрастных различий в базальной продукции мелатонина и в изменении биосинтеза мелатонина при введении эпیتالона. Избирательное стимулирующее влияние эпیتالона на продукцию мелатонина у старых животных, возможно, обусловлено его модулирующим действием на снижающуюся при старении чувствительность мелато-



Влияние эпیتالона на продукцию мелатонина в 21.00 ч (а) и кортизола в 9.00 и 21.00 ч (б) у обезьян разного возраста.

а: светлые столбики — контроль (плацебо), темные — эпیتالон; возраст обезьян: 1 — 6-8 лет, 2 — 20-26 лет; \* $p < 0.01$  по сравнению с контрольной группой молодых животных, \* $p < 0.001$  по сравнению с контрольной группой старых животных.

б: светлые столбики — 9.00 ч, темные — 21.00 ч; возраст обезьян: 1, 2 — 6-8 лет, 3, 4 — 20-26 лет, 1, 3 — контроль, 2, 4 — эпیتالон.

\* $p < 0.05$  по сравнению с показателями в 21.00 ч у старых животных контрольной группы.

нинсинтезирующей системы к степени освещенности окружающей среды. На это указывают как более низкие базальные уровни мелатонина у старых обезьян в вечернее время, так и зависимость от времени суток, а следовательно, и от освещенности стимулирующий эффект эпیتالона ( $48 \pm 5$  пг/мл мелатонина в 21.00 ч и  $10 \pm 2$  пг/мл в 9.00 ч,  $p < 0.001$ ). Это предположение подтверждается данными об ингибирующем влиянии света на синтез и секрецию мелатонина [7,8,12], а также результатами исследований, демонстрирующих отсутствие возрастных повреждений как в структуре пинеалоцитов [10], так и в активности ключевых ферментных систем синтеза пинеального мелатонина у человека [15].

Известно, что аднергическая иннервация пинеальной железы играет первостепенную роль в регуляции секреции мелатонина [12,13]. Поэтому, учитывая факт снижения чувствительности пинеальных  $\beta$ -адренорецепторов, наблюдаемого при старении у грызунов [4], более вероятно предположить стимулирующее действие эпیتالона на количество и/или сродство  $\beta$ -адренергических рецепторов к норадреналину на мембранах пинеалоцитов.

Введение эпیتالона у старых животных восстанавливало не только секрецию мелатонина, но и циркадные ритмы содержания кортизола в периферической крови (рисунок, б). При старении отсутствует выраженное снижение уровня кортизола в вечернее время (21.00 ч), что свидетельствует об уменьшении амплитуды циркадного ритма этого гормона. Подобная картина ранее была отмечена и у человека [12].

Поскольку установлено наличие тесных взаимоотношений между эпифизом и надпочечниками [7,12], можно предположить, что восстанавливающее действие эпیتالона на циркадные ритмы кортизола у старых животных опосредовано восстановлением уровня секреции мелатонина. Это подтверждается, во-первых, тем, что имеет место отрицательная корреляционная зависимость между суточной динамикой уровней кортизола и мелатонина в периферической крови у молодых обезьян. Во-вторых, при введении эпیتالона происходит нормализация циркадных ритмов мелатонина и кортизола.

Нормализация продукции мелатонина и кортизола чрезвычайно важна для организма, т.к. именно циркадные ритмы секреции данных гормонов определяют ритмичную суточную деятельность различных органов, и прежде всего нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой и иммунной систем [5,12,13].

Проведенное исследование позволило впервые установить стимулирующее действие пептида эпیتالона на уровень мелатонина в периферической крови, сопровождающееся нормализацией циркадных ритмов секреции кортизола у старых самок макаков резусов. Эти результаты указывают на перспективность применения эпیتالона для коррекции гормонального дисбаланса, формирующегося при старении, и нормализации функций жизненно важных органов и систем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кузник Е.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.К. Цитомедия. СПб., 1998.
2. Anisimov V.N., Bondarenko L.A., Khavinson V.Kh. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1992. Vol. 673. P. 53-57.
3. Ebad M., Samejima M., Pfeiffer R.F. // News Physiol. Sci. 1993. Vol. 8. P. 30.
4. Greenberg L.H., Weiss B. // Science. 1978. Vol. 201. P. 61-63.
5. Haimov I., Lavie P., Laudon M. et al. // Sleep. 1995. Vol. 18. P. 598-603.
6. Khavinson V.Kh., Ismailov D.M., Obukhova L.K., Malinin V.V. // Mech. Ageing Dev. 2000. Vol. 120. P. 141-149.
7. Lemmer B., Bruhl T., Wittke K. et al. // Eur. J. Endocrinol. 1994. Vol. 130. P. 472-477.
8. Lewy A.J., Wehr T.A., Goodwin F.K. et al. // Science. 1980. Vol. 210. P. 1267-1269.
9. Pierpaoli W., Regelson W. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. Vol. 91. P. 787-791.
10. Tapp E., Hucley M. // J. Pathol. 1972. Vol. 108. P. 137-144.
11. Toulout Y., Fevre M., Lagouey M. et al. // J. Endocrinol. 1981. Vol. 91. P. 467-475.
12. Toulout Y., Haus E. // Chronobiol. Int. 2000. Vol. 17, N 3. P. 369-390.
13. Reiter R.J., Robinson J. Melatonin. N.Y., 1995.
14. Reiter R.J. // Progr. Neurobiol. 1998. Vol. 56. P. 359-384.
15. Wurtman R.J., Axelrod J., Barchas J.D. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1964. Vol. 24. P. 299-301.

Получено 28.02.01