

## БИОРЕГУЛЯТОРИЯ

## ПЕПТИДНАЯ КОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ НАРУШЕНИЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ОБЕЗЬЯН

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

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

Представлены результаты изучения влияния пептида эпителина на функцию островкового аппарата поджелудочной железы и регуляцию уровня глюкозы в крови у самок макак резусов разного возраста. Установлен восстанавливающий эффект эпителина на понижающуюся с возрастом толерантность к глюкозе и динамику уровня инсулина в ответ на нагрузку глюкозой.

**Ключевые слова:** старение, поджелудочная железа, эпителин, обезьяны

Клинические данные указывают на развитие в процессе физиологического старения таких нарушений функции поджелудочной железы и обмена глюкозы, как повышение базальных уровней глюкозы и инсулина в крови, инсулинорезистентность и понижение толерантности к глюкозе [4-6]. Ряд эндогенных и экзогенных факторов может способствовать развитию такого рода нарушений. К ним, в частности, относится избыточная масса тела, особенности распределения жира в организме (преобладание в абдоминальной области), пониженная физическая активность, возрастные нейроэндокринные нарушения [2,4]. Резистентность к инсулину рассматривают как ключевой фактор риска для инсулиннезависимого сахарного диабета (ИНСД). Заболеваемость ИНСД в последние годы постоянно возрастает, что обуславливает актуальность изучения механизмов возрастной инсулинорезистентности и разработки препаратов, направленных на ее коррекцию.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния тетрапептида эпителина, разработанного в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАН, на функцию островкового аппарата поджелудочной железы и обмен глюкозы у лабораторных приматов — макак резусов (*Macaca mulatta*). Ранее нами было установлено стимулирующее влияние эпителина на снижающуюся с возрастом продукцию мелатони-

на [3], а также сходство возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы и обмена глюкозы у макак резусов и человека [2].

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В опытах использовали 7 молодых половозрелых (6-8 лет) и 7 старых (20-27 лет) клинически здоровых самок макак резусов (*Macaca mulatta*), содержавшихся в питомнике ГУ НИИ медицинской приматологии РАН (Сочи-Адлер). На время эксперимента животных отсаживали в индивидуальные метаболические клетки в изолированную комнату с температурой 20-25°C и контролируемым освещением (свет с 06:00 до 18:00 ч). Животные получали сбалансированное питание и не менее чем в течение 4 нед проходили курс адаптации к условиям пребывания в метаболических клетках и процедуре взятия крови.

Для оценки характера функционирования островкового аппарата поджелудочной железы и метаболизма глюкозы в базальных условиях за 1 мес до начала введения эпителина у всех животных проводили глюкозотолерантный тест. С этой целью им в 09:00-09:30 ч натощак внутривенно вводили 40% раствор глюкозы из расчета 300 мг/кг. Образцы крови брали до введения глюкозы и через 5, 15, 30, 60 и 90 мин после ее введения.

Через 1 мес после проведения глюкозотолерантного теста животным в течение 10 дней

1 раз в сутки внутримышечно вводили по 10 мкг пептида Ala-Glu-Asp-Gly (эпиталон). На 8-9-й день введения эпиталона глюкозотолерантный тест повторяли. Дополнительные тестирования проводили через 1 и 2 мес после отмены эпиталона.

Концентрацию глюкозы определяли в плазме крови глюкозооксидационным методом, инсулина — иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы "DSL". Для оценки толерантности к глюкозе рассчитывали показатель скорости "исчезновения" экзогенной глюкозы из циркуляции в первые 15 мин после ее введения. Скорость "исчезновения" глюкозы выражали в процентах в 1 мин. Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t* критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Базальные уровни глюкозы и ее концентрация через 5, 15, 30 и 60 мин после введения стандартной дозы глюкозы в группе старых животных были выше, чем у молодых (рис. 1, таблица). Базальные уровни инсулина и его концентрация через 30 и 60 мин после введения глюкозы также были выше у старых животных (рис. 2). Концентрация инсулина в крови старых животных через 5 мин после введения глюкозы достоверно понижалась (рис. 2).

Площадь под кривой ответа уровня глюкозы на введение стандартной дозы глюкозы у старых животных в базальных условиях была досто-

верно выше, чем у молодых животных (таблица), а скорость "исчезновения" глюкозы — достоверно ниже ( $4.3 \pm 0.1\%$  в мин у старых и  $5.3 \pm 0.05\%$  в мин у молодых животных,  $p < 0.001$ ).

В ответ на введение эпиталона у старых животных наблюдалась тенденция к снижению базального уровня глюкозы ( $3.8 \pm 0.4$  против  $4.0 \pm 0.4$  ммоль/л до введения препарата) и изменение динамики уровня глюкозы (рис. 1; таблица). Концентрация глюкозы у старых животных статистически значимо снижалась через 5, 15 и 60 мин после введения эпиталона. В то же время базальный уровень и динамика концентрации глюкозы в ответ на введение глюкозы на фоне эпиталона у молодых животных существенно не изменились (рис. 1; таблица).

Площадь под кривой ответа уровня глюкозы на введение стандартной дозы глюкозы у старых животных несколько понижалась ( $388.9 \pm 43.6$  против  $479.6 \pm 38.0$  ммоль/л $\times$ мин до введения эпиталона), что приводило к нивелированию возрастных различий в площади ответа глюкозы, имевшее место в базальных условиях (таблица). Скорость "исчезновения" глюкозы после курса эпиталона значимо увеличивалась у старых животных ( $4.92 \pm 0.20$  против  $4.3 \pm 0.1\%$  в мин до введения эпиталона,  $p < 0.01$ ) и не изменялась у молодых ( $5.20 \pm 0.18$  против  $5.20 \pm 0.05\%$  в мин до введения эпиталона,  $p > 0.05$ ).

Через 1 и 2 мес после отмены эпиталона базальные уровни глюкозы, ее значения через 30, 60 и 90 мин после введения глюкозы, а также площадь ответа глюкозы возвращались к исход-

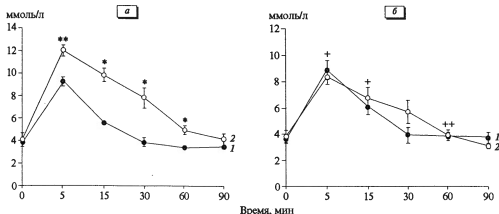


Рис. 1. Динамика уровня глюкозы в плазме периферической крови у молодых (1) и старых (2) самок макак-резус в ответ на введение стандартной дозы глюкозы до введения (а) и на 8-9-й день введения (б) эпиталона. \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.05$  по сравнению со значениями у молодых животных; + $p < 0.001$ , ++ $p < 0.05$  по сравнению со значениями до введения эпиталона.

Динамика уровня глюкозы и площадь под кривой ответа концентрации глюкозы на введение стандартной дозы глюкозы у самок макаков резусов разных возрастных групп до введения эпیتالона, на фоне введения эпیتالона и через 1 и 2 мес после его отмены ( $M \pm m$ )

Условия; возрастная группа	Концентрация глюкозы, ммоль/л						Площадь ответа, ммоль/лх мин
	до вве- дения глюкозы	после введения стандартной дозы глюкозы, мин					
		5	15	30	60	90	
До введения эпیتالона							
6-8 лет	3.8±0.1	9.2±0.4	5.6±0.2	3.9±0.4	3.4±0.1	3.5±0.2	294.9±9.3
20-27 лет	4.0±0.4	12.0±0.5***	9.8±0.6*	7.8±0.9*	5.0±0.4*	4.1±0.5	479.6±38.0*
На фоне эпیتالона							
6-8 лет	3.6±0.3	8.9±0.7	6.1±0.6	3.9±0.6	3.8±0.3	3.7±0.5	343.3±48.2
20-27 лет	3.8±0.4	8.4±0.6*	6.8±0.8**	5.7±0.9	3.9±0.4***	3.1±0.2	388.9±43.6
После отмены эпیتالона							
через 1 мес							
6-8 лет	3.8±0.2	8.2±0.3	7.2±0.6	4.9±0.5	3.4±0.1	4.1±0.1	353.0±19.9
20-27 лет	4.1±0.3	9.5±0.7*	8.4±0.8	7.7±0.6**	5.2±0.5**	4.5±0.7	480.0±55.0***
через 2 мес							
6-8 лет	3.7±0.3	8.4±1.1	5.9±0.5	4.1±0.56	3.2±0.17	3.1±0.1	293.2±25.0
20-27 лет	4.2±0.4	8.6±0.7***	8.1±0.6****	7.4±1.0**	5.3±0.9***	4.1±0.6	451.0±46.0**

Примечание. \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.05$  по сравнению с 6-8-летними животными; \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.05$  по сравнению со значениями до введения эпیتالона.

ным показателям (таблица). В то же время значения концентрации глюкозы через 5, 15 мин еще оставались пониженными по сравнению с исходным уровнем (таблица). Повышенной была и скорость "исчезновения" глюкозы в интервале

15 мин ( $4.7 \pm 0.3\%$  в мин через 1 мес и  $4.96 \pm 0.20\%$  в мин через 2 мес после отмены эпیتالона против  $4.3 \pm 0.1\%$  в мин в базальных условиях).

Базальные уровни инсулина после курса эпیتالона несколько понижались, а динамика его

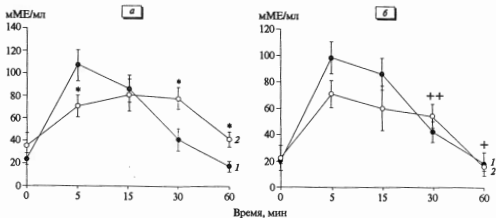


Рис. 2. Динамика уровня инсулина в плазме периферической крови у молодых (1) и старых (2) самок макаков резусов в ответ на введение стандартной дозы глюкозы до введения (а) и на 8-9-й день введения (б) эпیتالона.

\* $p < 0.05$  по сравнению со значениями у молодых животных; \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.05$  по сравнению со значениями до введения эпیتالона.

уровня в ответ на введение глюкозы у старых животных оказалась сходной с таковой у молодых животных (рис. 2). Относительный подъем уровня инсулина у старых обезьян через 5 мин после введения глюкозы резко возрастал ( $320 \pm 29\%$  против  $198 \pm 40\%$  до введения эпиталона,  $p < 0.05$  и  $450 \pm 72\%$  у молодых животных), а через 60 мин — достоверно снижался ( $69 \pm 8\%$  против  $117 \pm 20\%$ ,  $p < 0.05$ ).

Повышение концентрации инсулина у старых животных через 5 мин после введения стандартной дозы глюкозы при одновременном понижении содержания глюкозы указывает на восстанавливающее влияние эпиталона, прежде всего на 1-ю фазу секреции инсулина, связанную с его пиком быстрого реагирования. По-видимому, повышается чувствительность  $\beta$ -клеток островков Лангерганса к высоким концентрациям глюкозы. Нарушения ранней фазы в секреции инсулина были зарегистрированы у больных ИНСД, а также у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе [1].

Наряду с восстанавливающим действием на раннюю фазу секреции инсулина, по-видимому, эпиталон влияет и на 2-ю фазу секреции инсулина, делая ее более пластичной. Так, достоверное понижение уровней инсулина отмечалось у старых животных через 30 и 60 мин после нагрузки глюкозой (рис. 2). В базальных условиях у старых животных восстановление исходного уровня инсулина замедлялось (рис. 2), что отмечалось и ранее [2]. Восстановление уровней инсулина через 30 и 60 мин, по-видимому, обусловлено повышением чувствительности периферических тканей к инсулину. Об этом свидетельствует как понижение уровня инсулина на этих этапах, так и понижение концентрации глюкозы (таблица; рис. 1).

Таким образом, 10-дневный курс эпиталона приводит к восстановлению нарушающейся при старении толерантности к глюкозе и динамики уровня инсулина в крови у обезьян. Повышение толерантности к глюкозе частично сохраняется через 1 и 2 мес после отмены препарата. Восстанавливающее действие эпиталона на функцию островкового аппарата поджелудочной железы и метаболизм глюкозы, по-видимому, связано с восстановлением как чувствительности  $\beta$ -клеток к уровню глюкозы в крови, так и периферических тканей к инсулину. Возможно, эффект эпиталона опосредован через повышение секреции мелатонина [3]. Экспериментальные данные свидетельствуют об ингибирующем влиянии мелатонина на базальные уровни инсулина [9], продукцию последнего островками Лангерганса *in vitro* в ответ на нагрузку глюкозой [8] и уровень гипергликемии при индуцированном сахарном диабете [7].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аметов А.С. // Пробл. эндокринол. 2002. Т. 48, № 3. С. 31-37.
2. Гончарова Н.Д., Венгерин А.А., Осанин Т.Э., Лапин Б.А. // Бюл. экпер. биол. 2004. Т. 137, № 3. С. 317-320.
3. Гончарова Н.Д., Хауинсон В.Х., Лапин Б.А. // Там же. 2004. Т. 131, № 4. С. 466-468.
4. Barbieri M., Rizzo M.R., Mantzella D. et al. // Exper. Gerontology. 2002. Vol. 38, N 1-2. P. 137-143.
5. Bellino F.L., Wise P.M. // Biol. Reprod. 2003. Vol. 68, N 1. P. 10-18.
6. Huang Z., Bodkin N.L., Ortmeier H.K. et al. // J. Clin. Invest. 1994. Vol. 94, N 3. P. 1289-1296.
7. Montilla P.L., Vargas J.F., Tunes I.F. et al. // J. Pineal Res. 1998. Vol. 25, N 2. P. 94-100.
8. Peschke E., Peschke D., Hammer T., Csernus V. // Ibid. 1997. Vol. 23, N 3. P. 156-163.
9. Rasmussen D.D., Boldt B.M., Wilkinson C.W. et al. // Endocrinology. 1999. Vol. 140. P. 1009-1012.

Получено 25.01.04