

С. В. Трофимова¹, Н. С. Линькова^{1,2}, А. А. Клименко³, Т. В. Кветная¹, В. Х. Хавинсон^{1,4}**ПИНЕАМИН ПОВЫШАЕТ СИНТЕЗ МЕЛАТОНИНА В ЭПИФИЗЕ
У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА**

¹ Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3; e-mail: linkova@gerontology.ru; ² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; ³ Группа компаний «Герофарм», 191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., 11Б; ⁴ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

В исследовании на 55 пациентах пожилого возраста со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза методом иммуноферментного анализа изучено влияние полипептидного комплекса эпифиза «Пинеамин» на экскрецию 6-сульфатоксимелатонина (6-СОМТ) в моче. Пинеамин в курсовой дозе 100 мг повышал ночной уровень экскреции 6-СОМТ в моче в 1,9 раза по сравнению с соответствующим показателем до лечения. Сходный эффект ранее был получен при введении препарата «Эпиталамин», также способствующего восстановлению синтеза мелатонина в эпифизе человека и животных при старении. Таким образом, Пинеамин и Эпиталамин обладают односторонним стимулирующим свойством в отношении мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста.

Ключевые слова: Пинеамин, 6-сульфатоксимелатонин, эпифиз, старение

Эпифиз (пинеальная железа) является одним из центральных органов эндокринной системы. Темп старения эндокринной системы и развитие возрастной патологии во многом связаны с involuцией эпифиза, которая выражается в нарушении его мелатонинообразующей функции [2, 13, 23]. В мировой медицинской практике имеется опыт применения лекарственных препаратов мелатонина при лечении разных ассоциированных с возрастом заболеваний и для профилактики ускоренного старения организма. На территории РФ зарегистрирован лекарственный препарат мелатонина «Мелаксен» («Unipharm Inc.», США). Несмотря на его успешные клинические испытания, нельзя исключить ряд побочных эффектов и факторов риска, которые может вызвать этот гормональный лекарственный препарат [17, 24]. Так, Мелаксен может спровоцировать обострение психических заболеваний, развитие аутоиммунных процессов и аллергических заболеваний, развитие опухолей (лимфом, лейкозов), он не применяется у женщин, находящихся на грудном вскармливании,

не сочетается с применением некоторых лекарственных препаратов (препараты, затрагивающие функции цитохрома P450 и микросомальных оксидаз) [17, 18]. В связи с этим для профилактики ускоренного старения актуальной задачей является поиск путей повышения синтеза эндогенного мелатонина.

В 1974 г. В. Г. Морозов и В. Х. Хавинсон выделили методом уксуснокислой экстракции из эпифиза головного мозга крупного рогатого скота комплекс полипептидов с молекулярной массой около 10 кДа, впоследствии зарегистрированный как лекарственный препарат «Эпиталамин» (рег. №90/250/6, Приказ МЗ СССР № 250 от 19.06.1990). Основным показанием к применению Эпиталамина, указанным в инструкции к препарату, является климактерическая кардиомиодистрофия у женщин. Эпиталамин также успешно применялся в клинической практике при реабилитации после хирургических вмешательств, у онкологических больных, при разных травматических повреждениях, при ИБС, в неврологии, офтальмологии, дерматологии, стоматологии, эндокринологии и в качестве геропротектора [2, 5–7, 9, 12, 19–22]. Основные эффекты Эпиталамина связаны с нормализацией показателей клеточного и гуморального иммунитета, уровня в крови кортизола, инсулина, тимического сывороточного фактора, мелатонина и других гормонов. Эпиталамин нормализует показатели функциональной активности сердечно-сосудистой, антиоксидантной систем и гемостаза [7, 8, 9, 19, 22]. Установлено, что применение Эпиталамина способствовало достоверному снижению смертности лиц пожилого и старческого возраста [7, 8, 22].

Многие из перечисленных эффектов Эпиталамина обусловлены его способностью восстанавливать ночной пик секреции мелатонина в крови,

который снижается у людей старше 60 лет [9]. В исследовании на 40 пациентах пожилого возраста Эпиталамин (5 инъекций по 10 мг внутримышечно с интервалом в 2 сут) повышал ночной пик секреции мелатонина в крови в 2,45 раза по сравнению с группой плацебо. При этом на фоне введения Эпиталамина у пожилых людей было отмечено повышение физической и психомоторной работоспособности, восстанавливался суточный ритм деятельности сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем, нормализовался гормональный статус [9].

Эти данные хорошо согласуются с результатами о влиянии Эпиталамина на мелатонинообразующую функцию у животных. В работе О. В. Коркушко и соавт. (2007) у старых обезьян со сниженным уровнем мелатонина в крови концентрация этого гормона в 21 ч (соответствует ночному пику синтеза мелатонина в крови у человека) под действием Эпиталамина возрастала в 1,79 раза [5]. В другом исследовании у молодых и старых крыс пятидневное введение Эпиталамина в дозе 2,5 мг/кг массы тела в 10 ч утра приводило к повышению концентрации мелатонина в крови в ночные часы, соответственно, на 55 и 49% [1, 7]. Однако с 2006 г. по ряду технологических причин Эпиталамин был снят с производства в качестве фармакологического препарата.

В 2011–2015 гг. группой компаний «Герофарм» был разработан аналог Эпиталамина — препарат «Пинеамин». Пинеамин, так же как и Эпиталамин, представляет собой комплекс полипептидов, выделенных из эпифиза крупного рогатого скота. Из описания свойств Пинеамина следует, что препарат оптимизирует эпифизарно-гипоталамические взаимоотношения, нормализует функцию передней доли гипофиза, баланс гонадотропных гормонов. Многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование терапевтической эффективности и безопасности препарата «Пинеамин» доказало эффективность его применения при климактерическом синдроме у женщин [10].

Можно предположить, что Пинеамин имеет общий с Эпиталамином механизм влияния на мелатонинообразующую функцию эпифиза, поскольку Эпиталамин и Пинеамин имеют сходный состав полипептидов и регулируют функции женской репродуктивной системы.

Цель работы — изучение влияния Пинеамина на синтез мелатонина в эпифизе у людей пожилого возраста.

Материалы и методы

Исследование выполнено в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии. Обследованы 75 лиц пожилого возраста 60–74 лет (45 женщин и 30 мужчин). Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании. Все участники на основании клинического, лабораторного и инструментального обследований были отнесены к категории практически здоровых людей в соответствии с возрастной нормой. У них не было выявлено заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной и эндокринной систем в фазе обострения. В период исследования они получали стандартное питание и находились на свободном режиме с обычным уровнем физической активности. Исследование проводили в зимне-весенний период года (декабрь—апрель 2016 г.).

При первичном исследовании у 20 пациентов (контрольная группа) уровень экскреции 6-сульфатоксимелатонин (6-COMT) соответствовал возрастной норме [3, 11], поэтому лечения им не проводили, а у остальных 55 человек был снижен. Возрастная норма ночной экскреции 6-COMT у лиц 60–74 лет варьирует в пределах 380–800 нг/ч [3]. Пациенты со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза были разделены на две группы — получающую плацебо ($n=20$) и с введением Пинеамина ($n=35$). Пациенты группы плацебо получали 0,9% раствор натрия хлорида (2 мл ежедневно однократно внутримышечно в течение 10 сут); пациенты 2-й группы получали Пинеамин (10 мг в 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида ежедневно однократно внутримышечно в течение 10 сут).

Для изучения мелатонинообразующей функции эпифиза у пациентов определяли экскрецию 6-COMT в моче по стандартной методике [15] до начала лечения и через 5 сут после окончания лечения. В исследовании был использован унифицированный протокол данных, заполняемый при клиническом определении экскреции 6-COMT у человека [4]. Пробы мочи собирали в отдельную емкость в период с 23 ч вечера до 7 ч утра. Все пациенты были проинформированы о недопустимости включения источников света в течение времени сбора проб. После измерения общего объема выделенной за ночь мочи отбирали три пробы по 1 мл в пробирке, замораживали и хранили при температуре -20°C . Данные о пациентах занесли в протокол определения экскреции 6-COMT, которое осуществляли методом иммуноферментно-

Таблица 1

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у людей пожилого возраста**

Группа	Экскреция 6-COMT, нг/ч		
	возрастная норма 380–800	до лечения	после лечения
Контрольная, n=20	552±37	–	–
Плацебо, n=20	–	258±29*	273±32*
Пинеамин, n=35	–	246±30*	467±35**

Примечание. Здесь и табл. 2, 3: * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в группе плацебо.

Таблица 2

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у женщин пожилого возраста**

Группа	Экскреция 6-COMT, нг/ч		
	возрастная норма 380–800	до лечения	после лечения
Контрольная, n=13	562±42	–	–
Плацебо, n=11	–	255±27*	282±30*
Пинеамин, n=21	–	250±34*	473±35**

Таблица 3

**Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT)
у мужчин пожилого возраста**

Группа	Экскреция 6-COMT, нг/ч		
	возрастная норма 380–800	до лечения	после лечения
Контрольная, n=7	542±32	–	–
Плацебо, n=9	–	261±31*	264±34*
Пинеамин, n=14	–	242±26*	461±35**

го анализа («Bio Tek Instruments», модель ELx808) с использованием набора «6-Sulfatoxymelatonin ELISA Kit» («Buhlmann Laboratories AG», Швейцария), включающего материалы для прямого определения 6-COMT в моче человека. Метод иммуноферментного анализа позволяет определить концентрацию 6-COMT в моче, но не учитывает такого важного параметра, как объем мочи. Количество мочи, выделенной в ночное время у пациентов, зависит от различных факторов (количество выпитой за день жидкости, функциональное состояние почек, индивидуальные особенности организма и т. д.) и может сильно варьировать

(в нашем исследовании — 150–550 мл). Для того, чтобы учесть этот фактор, мы проводили пересчет концентрации 6-COMT в моче по следующей формуле: $A = K \cdot V / t$, где A — концентрация 6-COMT в моче за 1 ч, нг/ч; K — концентрация 6-COMT в моче за 8 ч, нг/мл; V — объем мочи (мл), собранной за 8 ч (в период с 23 ч до 7 ч); t — время, в течение которого собирали мочу (ч), $t = 8$. Таким образом, в нашем исследовании экскрецию 6-COMT в моче рассчитывали в нг/ч, такой подход используют и в других исследованиях [3, 16].

Динамику психоэмоционального и физического состояния пациентов оценивали с помощью следующих тестов: «Методика диагностики оценки самочувствия, активности и настроения», «Методика Спилбергера–Ханина».

Обработку полученных данных проводили с использованием статистического пакета программ Statistica 7.0. Для анализа результатов исследования применяли параметрические и непараметрические методы статистики с использованием t -критерия Стьюдента и U -критерия Манна–Уитни. Статистическую достоверность полученных результатов оценивали на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У пациентов группы плацебо уровень экскреции 6-COMT в моче исходно был меньше нижней границы возрастной нормы и после инъекций физиологического раствора достоверно не изменился (табл. 1). Экскреция 6-COMT у пациентов после курса Пинеамина возросла в 1,9 раза по сравнению с показателем до лечения (см. табл. 1). В табл. 2, 3 представлены данные гендерного исследования, которые свидетельствуют об отсутствии у мужчин и женщин пожилого возраста достоверных различий в экскреции 6-COMT.

У пациентов, получавших Пинеамин, по данным опроса в 92 % случаев отмечена выраженная положительная динамика психоэмоционального и общего физического состояния. При этом у пациентов в группе плацебо положительная динамика самочувствия была выявлена только в 26 % случаев. Важно отметить, что при введении Пинеамина — как во время всего курса лечения, так и после него в течение 20–30 сут — никаких побочных реакций не выявлено. В исследовании О. В. Коркушко и соавт. (2006) у людей пожилого возраста со сниженной мелатонинообразующей функцией эпифиза под действием Эпиталамина

наблюдали повышение уровня мелатонина в крови в 3 ч ночи с 24 ± 5 до 59 ± 13 нг/мл, то есть в 2,45 раза [9], что совпадало с данными, полученными на старых животных [1, 5, 7].

Можно высказать предположение о том, что механизм влияния Пинеамина на мелатонин-образующую функцию эпифиза может быть сходным с тем, который был у Эпиталамина. Установлено, что в составе Эпиталамина содержится тетрапептид *AEDG* (эпиталон), который оказывает те же биологические эффекты, что и Пинеамин, но в меньшей концентрации. В том числе, эпиталон способствовал нормализации мелатонинообразующей функции эпифиза [7, 13].

В культуре пинеалоцитов было изучено влияние эпиталона на синтез мелатонина и факторов, участвующих в этом процессе, — фермента арилалкиламин-*N*-ацетилтрансферазы (*AANAT*) и транскрипционного протеина *pCREB* [14]. Установлено, что эпиталон способен стимулировать синтез *AANAT* и *pCREB* и повышать содержание мелатонина в культуре клеток. Представляется возможным, что в составе Пинеамина, так же как и Эпиталамина, может содержаться пептид *AEDG*, регулирующий синтез молекул, стимулирующих выработку мелатонина в эпифизе. Однако это предположение требует дополнительных исследований.

Таким образом, Эпиталамин и Пинеамин оказывают сходное стимулирующее действие в отношении мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста. На основании полученных результатов исследования препарат «Пинеамин» можно рекомендовать в качестве средства, восстанавливающего уровень секреции мелатонина у людей старших возрастных групп.

Литература

1. Бондаренко Л.А. Сезонные особенности влияния эпиталамина на формирование ночного пика мелатонина у старых крыс // Пробл. стар. и долголетия. 1993. Т. 3. № 2. С. 97–100.
2. Гончарова Н.Д., Хавинсон В.Х., Лапин Б.А. Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). СПб.: Наука, 2007.
3. Ермаченков М.Н., Гуляев А.В., Арутюнян А.В. и др. Возрастные изменения экскреции 6-сульфатоксимелатонина у больных раком желудка и у больных раком толстой кишки // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 2. С. 224–250.
4. Кветная Т.В., Князькин И.В., Кветной И.М. Мелатонин — нейроиммуноэндокринный маркер возрастной патологии. СПб.: ДЕАН, 2005.
5. Коркушко О.В., Лапин Б.А., Гончарова Н.Д. и др. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 1. С. 74–85.
6. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М. и др. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002.
7. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006.
8. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. и др. Геропротекторное действие пептидного препарата эпифиза у пожилых больных с хронической ишемической болезнью сердца (результаты лонгитудинального наблюдения) // Пробл. стар. и долголетия. 2012. Т. 1. № 3. С. 347–356.
9. Коркушко О.В., Шатило В.Б., Антонюк-Щеглова И.А. и др. Влияние курсового введения пептидных препаратов эпифиза на суточные концентрации мелатонина в плазме крови у людей пожилого возраста // Буковин. мед. вісн. 2006. Т. 10. № 4. С. 76–79.
10. Прилепская В.Н., Богатова И.К., Радзинский В.Е. Новое в профилактике и терапии климактерического синдрома // Гинекология. 2016. Т. 18. № 1. С. 7–12.
11. Трофимова С.В., Горбунов А.В., Проняева В.Е. Роль мелатонина в развитии патологии сетчатки у пациентов старшей возрастной группы // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 2. С. 239–243.
12. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. Пептидные геропротекторы — эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А. И. Герцена, 2014.
13. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. Морфофункциональные и молекулярные основы старения эпифиза // Физиология человека. 2012. Т. 38. № 1. С. 119–127.
14. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Кветной И.М. и др. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции синтеза мелатонина в культуре пинеалоцитов // Бюл. экпер. биол. 2012. Т. 153. № 2. С. 223–226.
15. Цфасман А.З. Мелатонин: нормативы при различных суточных режимах. Профессиональные аспекты в патологии. М.: МИИТ, 2015.
16. Цфасман А.З., Горохов В.Д., Алпаев Д.В. Суточный ритм мелатонина при депривации ночного сна // Пробл. эндокринологии. 2013. № 2. С. 40–44.
17. Andersen L.P., Gögenur I., Rosenberg J. et al. Pharmacokinetics of melatonin: the missing link in clinical efficacy? // Clin. Pharmacokinet. 2016. Vol. 55. № 9. P. 1027–1030.
18. Andersen L.P., Gögenur I., Rosenberg J. et al. The Safety of Melatonin in Humans // Clin. Drug Investig. 2016. Vol. 36. № 3. P. 169–175.
19. Anisimov V.N., Arutjunyan A. V., Khavinson V.Kh. Effects of pineal peptide preparation Epithalamin on free-radical processes in humans and animals // Neuroendocr. Lett. 2001. Vol. 22. № 1. P. 9–18.
20. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. 2010. Vol. 11. № 2. P. 139–149.
21. Khavinson V.Kh. Peptides and Ageing // Neuroendocr. Lett. 2002. Vol. 23. № 3. P. 1–144.
22. Korkushko O.V., Khavinson V.Kh., Shatilo V.B. et al. Peptide geroprotector from the pineal gland inhibits rapid aging of elderly people: results of 15-year follow-up // Bull. exp. Biol. Med. 2011. Vol. 151. № 3. P. 366–369.
23. Pierpaoli W., Maestroni G.J.M. Melatonin: a principal neuroimmunoendocrinology and anti-stress hormone: its anti-aging effect // Immunol. Lett. 1987. Vol. 16. P. 355–362.
24. Sánchez-Barceló E.J., Mediavilla M.D., Tan D.X. et al. Clinical uses of melatonin: evaluation of human trials // Curr. Med. Chem. 2010. Vol. 17. № 19. P. 2070–2095.

S. V. Trofimova¹, N. S. Linkova^{1,2}, A. A. Klimenko³, T. V. Kvetnaia¹, V. Kh. Khavinson^{1,4}

PINEAMIN INCREASED PINEAL MELATONIN SYNTHESIS IN ELDERLY PEOPLE

¹ Sain-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3, Dynamo pr., St. Petersburg, 197110; e-mail: linkova@gerontology.ru; ² Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, 29, Polytechnicheskaya str., St. Petersburg, 195251; ³ Group of companies «Geropharm», Degtyarnyj lane, 11B, St. Petersburg, 191144; ⁴ Pavlov Institute of Physiology of RAS, Makarova emb., St. Petersburg, 6199034

It was investigated the influence of polypeptide complex Pineamin on the 6-sulfatoxymelatonin (aMT6S) excretion in urine by ELISA test of 55 elderly patients with diminished melatoninsynthesis pineal gland function. Pineamin in course dose 100 mg has increased night level of aMT6S urine excretion in 1,9 times in comparison with relevant value untreated. Similar effect was obtained early for medical drug Epithalamin. Epithalamin also restored melatonin level in human and animals during aging. Thus, Pineamin and Epithalamin have similar stimulate effect on melatonin synthesis in elderly people pineal gland.

Key words: *Pineamin, 6-sulfatoxymelatonin, pineal gland, aging*