

## ВЛИЯНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА ПАНКРАГЕН® НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Хавинсон В. Х., Малинин В. В.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН*

Сахарный диабет (СД) занимает третье место в мире по распространенности после сердечнососудистых и онкологических заболеваний. Он характеризуется абсолютной или относительной недостаточностью инсулина, постоянной повышенной концентрацией глюкозы в крови и нарушением всех видов обмена веществ. Наиболее частой причиной инвалидизации и смертности больных СД являются диабетические ангиопатии — генерализованные повреждения кровеносных микрососудов, сочетающиеся с нарушением гемостаза [1–3]. Известно, что при СД развиваются системные нарушения функции органов, обусловленные состоянием микроциркуляции и транскапиллярного обмена, ключевую роль в регуляции которых играет эндотелий. Пусковым механизмом развития эндотелиальной дисфункции при СД являются метаболические нарушения, в первую очередь гипергликемия [4]. Диабетическая гипергликемия способствует увеличению синтеза мукополисахаридов, что приводит к повышению их уровня в сыворотке крови и отложению в микрососудах почек, сетчатки глаза и других органов. При дефиците инсулина превращение глюкозы в инсулинозависимых тканях происходит, главным образом, по полиольному пути с активацией фермента альдозоредуктазы, в результате чего в сосудистой стенке, хрусталике глаза, нервах и почках накапливается сорбитол и фруктоза в повышенных осмотически действенных концентра-

циях. Являясь гидрофильными, эти продукты полиолов способствуют развитию гидротического отека клеток и нарушению активного транспорта веществ через мембраны [1]. Высокая концентрация глюкозы ведет также к неферментативному гликозилированию белков, липидов и других компонентов сосудистой стенки, что изменяет их антигенные и функциональные характеристики, вызывает нарушения проницаемости стенок микрососудов, сужение просвета и уменьшение площади их внутренней поверхности с развитием ишемии и нарушением трофики тканей. Одним из самых тяжелых осложнений СД является ангиосклероз [1, 5].

Исходя из вышеизложенного, важной задачей является поиск фармакологической коррекции метаболических нарушений и эндотелиальной дисфункции при СД. Современный период развития медицины характеризуется значительными достижениями в области создания лекарственных средств на основе пептидов, изучением их клинической эффективности и обоснованием целесообразности применения в комплексной терапии различных заболеваний и патологических состояний. Особую значимость приобретает разработка пероральных лекарственных форм пептидных препаратов [6]. Подобный подход основан на существовании в организме системы биорегуляции, действующей посредством клеточных медиаторов, представляющих собой короткие пепти-

ды, функцией которых является селективная передача информации при взаимодействии клеток иммунной, нервной и других систем, и образующихся в реакциях ограниченного протеолиза из белков-предшественников в непосредственной близости от соответствующих рецептивных систем. Система пептидных гормонов желудочно-кишечного тракта представляет собой специфический эндокринный аппарат, который в значительной мере самостоятельно координирует последовательность и взаимодействие в функционировании желудка, поджелудочной железы, печени и кишечника. В экспериментах было показано, что ряд эндогенных пептидных гормонов стимулирует поджелудочную железу и выделение инсулина (инсулинотропный эффект) [7–9]. В частности, гастроингибирующий пептид (ГИП) стимулирует выделение инсулина при повышенной концентрации глюкозы. Аналогично действует инкретин, выделяемый двенадцатиперстной и тощей кишкой в ответ на присутствие глюкозы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Молекулярно-генетическое обоснование синтеза тетрапептида KEDW<sub>a</sub>.* Проведен поиск структуры короткого пептида, который мог бы действовать как миметик инсулинотропных полипептидов. С этой целью исследовали аминокислотную последовательность инкретина [15]:

MVALKTCSLL LVLLFLAVGL GEKEEVEFRS  
NAKFAGPRPR GPRYAEGTFI<sup>50</sup> SDYSIAMDKI  
ROODFVNWLL AQKGGKNDWK  
HNLQREARA LELAGQSQRN<sup>100</sup>  
EEKEAQGSSL PKSLSDDEDVL RDLIQELLA  
WMADQAELCR LRSQ<sup>144</sup>

В составе инкретина подчеркнута часть полипептидной цепи, которая соответствует аминокислотной последовательности ГИП, за исключением остатка аргинина в позиции 61, который в составе ГИП заменен на гистидин. Оба инсулинотропных гормона содержат в структуре короткий участок из четырех аминокислотных остатков KNDW, который не обнаружен в составе других регуляторных пептидов человека [16].

В настоящее время некоторые короткие пептиды рассматриваются как потенциальные средства для лечения СД. Установлено гипогликемическое действие декапептидного фрагмента инсулина [10], аналогов пептида p277 — эпитопа человеческого белка теплового шока (hsp 60) [11], фрагментов С-пептида инсулина [12], коротких инсулин-потенцирующих пептидов [13].

Одним из перспективных пептидных биорегуляторов является тетрапептид KEDW<sub>a</sub>, синтезированный в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН [14]. Целью нашей работы явилось молекулярно-генетическое обоснование синтеза тетрапептида KEDW<sub>a</sub>, изучение его гипогликемического действия и влияния на функциональное состояние эндотелия при хронической гипергликемии в экспериментальных моделях аллоксанового и стрептозотоцинового сахарного диабета у крыс.

Из островков поджелудочной железы морского конька *Lophius americanus* был выделен регуляторный пептид YG, имеющий аминокислотную последовательность:

YPPKPETPGS NASPEDWASY  
QAAVRHYVNL ITRQRYG<sup>37</sup>

Он содержит участок цепи EDW, представляющий собой вариант последовательности NDW, в котором остаток аспарагина (N) заменен остатком глутаминовой кислоты E.

Рассматривая возможность использования короткого пептида KNDW в качестве миметика природных инсулинотропных пептидов, следует учитывать его уязвимость со стороны протеиназ желудочно-кишечного тракта. Известно, что трипсин гидролизует пептидную связь лизина (и аргинина) с последующим аминокислотным остатком, так что связь KN может быть легко гидролизована трипсином из-за повышенной локальной плотности положительного заряда (лизин и амидная группа ас-

парагіна). Замена аспарагинового остатка остатком глутаминовой кислоты обеспечивает локальную нейтрализацию заряда боковой группы лизина и защиту пептидной связи КЕ от действия трипсина. С другой стороны, пептидная связь WK и WA в составе природных полипептидов подвергается гидролизу химотрипсином. Химотрипсин специфически связывает большие гидрофобные боковые группы фенилаланина, тирозина и триптофана и разрывает их связь с последующим аминокислотным остатком, так что в условиях желудочно-кишечного тракта пептидная связь WK и WA представленных выше полипептидов подвергается гидролизу химотрипсином. Триптофан, расположенный на конце тетрапептида KEDW<sub>a</sub>, не будет атакован химотрипсином. Однако целесообразно амидировать концевую карбоксильную группу триптофана для защиты от возможного действия эластазы поджелудочного сока.

Таким образом, в качестве синтетического миметика инсулинотропных гормонов был сконструирован и синтезирован по оптимальной схеме тетрапептид KEDW<sub>a</sub>, защищенный от действия протеиназ желудочно-кишечного тракта [17]. Его биологическая активность была исследована на экспериментальных моделях аллоксанового и стрептозотоцинового СД у крыс. Известно, что аллоксан и стрептозотозин обладают избирательным цитотоксическим действием на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы крыс [18], и через 2–3 нед. после их введения у экспериментальных животных развивается СД (перманентная гипергликемия, полиурия, глюкозурия).

*Аллоксановый диабет.* Эксперимент проведен на 18 белых беспородных крысах-самцах массой тела 340–410 г. После определения концентрации инсулина в крови животных их рандомизированно разделили на две группы: контрольную и подопытную (8 и 10 крыс, соответственно). Всем животным однократно внутривенно вводили по 1 мл раствора аллоксана в дозе 35 мг/кг массы тела. Через 15 суток у животных

развился диабет, и концентрация инсулина в крови снизилась в 12–15 раз по сравнению с исходной. Затем животным контрольной группы начали вводить ежедневно внутрибрюшинно однократно по 0,3 мл 0,9% раствора NaCl, а животным подопытной группы — тетрапептид KEDW<sub>a</sub> в дозе 3 мкг (в 0,3 мл 0,9% раствора NaCl) на крысу в течение 11 суток.

*Стрептозотоциновый диабет.* Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар массой тела 170–210 г. С целью моделирования СД животным вводили стрептозотозин (50 мг/кг массы тела внутрибрюшинно однократно в 1 мл 0,9% раствора NaCl). После введения стрептозотоцина животным 1 подопытной группы вводили тетрапептид внутримышечно (10 мкг в 1 мл 0,9% раствора NaCl на одно животное) ежедневно в течение 10 суток. Животным 2 подопытной группы тетрапептид вводили перорально через зонд (100 мкг в одной измельченной таблетке на одно животное). Объем вводимой взвеси составлял 2 мл ежедневно в течение 10 суток после введения стрептозотоцина. Крысы контрольной группы после введения стрептозотоцина по аналогичной схеме получали инъекции 0,9% раствора NaCl. Группой сравнения служили здоровые интактные животные. Каждая группа состояла из 20 животных.

Уровень глюкозы крови определяли натощак (корм убрали за 14 час.) на 10, 15 и 20 сутки после введения стрептозотоцина. На 20 сутки после введения стрептозотоцина определяли диурез и глюкозу мочи. Проницаемость и адгезивность эндотелия исследовали на 20 сутки после введения стрептозотоцина.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета многомерного статистического анализа и программы обработки электронных таблиц Microsoft Excel 7.0 для Windows'95. Достоверность различий всех анализируемых показателей оценивали, используя  $t$ -критерий Стьюдента и  $U$ -критерий Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

*Аллоксановый диабет.* Установлено, что после окончания введения тетрапептида у животных подопытной группы наблюдалось повышение концентрации инсулина в крови, тогда как в контрольной группе инсулин в крови полностью отсутствовал (табл. 1).

Все животные с аллоксановым диабетом через 44 дня после окончания введения тетрапептида были использованы для оценки динамики усвоения глюкозы. Для этого им вводили внутривенно 1 мл 2% раствора глюкозы и измеряли ее уровень в крови в течение 2 ч. В качестве второго контроля использовали здоровых крыс с нормальным уровнем глюкозы в крови. После введения глюкозы здоровым крысам ее концентрация в течение 2 ч. уменьшилась практически до начального уровня (рис. 1; график 1).

Глюкоза, введенная животным с аллоксановым диабетом, получавшим пептид KEDW<sub>a</sub>, быстро усваивалась, и через 2 ч. ее концентрация была ниже начального значения (рис. 1; график 3). Скорость усвоения глюкозы у крыс с экспериментальным диабетом, получивших курс лечения пептидом, была сопоставима с таковой у здоровых животных. При введении глюкозы крысам с ал-

локсановым диабетом (контрольная группа) начальная повышенная концентрация глюкозы в крови возрастала и в дальнейшем уменьшалась очень медленно, не достигая исходного значения (рис. 1; график 2).

Известно, что аллоксан по своему строению близок к природным пиримидиновым основаниям урацилу и тимину, поэтому может конкурировать с природными нуклеиновыми основаниями, встраиваясь по механизму интерколяции в структуры РНК и ДНК, и ингибировать синтез белков, в том числе инсулина. Вероятный механизм индукции биосинтеза инсулина пептидом KEDW<sub>a</sub> обусловлен, по-видимому, взаимодействием этого тетрапептида с промотерным участком гена препроинсулина. Связывание тетрапептида в большой канавке двойной спирали ДНК на промотерном участке гена, вероятно, может привести к конкурентному вытеснению аллоксана гидрофобной боковой группой остатка триптофана. Продуктом трансляции этого гена является препроинсулин. Сигнальный пептид этой молекулы облегчает мембранный переход предшественника инсулина и отщепляется после перехода. Полученная молекула проинсулина содержит пептидные

Т а б л и ц а 1

Влияние тетрапептида KEDW<sub>a</sub> на уровень инсулина в крови крыс с аллоксановым диабетом

Группа	Уровень инсулина, мкМЕ/мл						
	исходный	15 сут. после введения аллоксана	после окончания введения физ. р-ра или пептида KEDW <sub>a</sub> , сут.				
			1	9	18	28	44
Контроль (аллоксан + физ. р-р)	24,3 ± 2,1 (n = 8)	2,0 ± 0,7 (n = 8)	0 (n = 7)	0 (n = 6)	0 (n = 5)	0 (n = 5)	0 (n = 5)
Аллоксан + тетрапептид KEDW <sub>a</sub>	23,8 ± 2,8 (n=10)	1,5 ± 0,4 (n=10)	3,6 ± 0,7* (n = 8)	3,2 ± 0,5* (n = 7)	4,3 ± 0,5* (n = 7)	4,1 ± 0,6* (n = 7)	3,9 ± 1,1* (n = 7)

Примечание. \* — P < 0,001 по сравнению с соответствующим показателем в контроле.

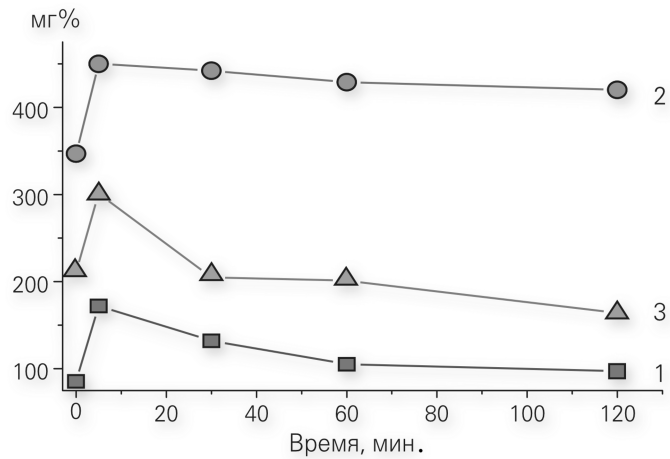


Рис. 1. Концентрация глюкозы в крови животных после её внутривенного введения. 1 — здоровые крысы; 2 — крысы с аллоксановым диабетом (контроль); 3 — крысы с аллоксановым диабетом после введения тетрапептида KEDW<sub>a</sub>.

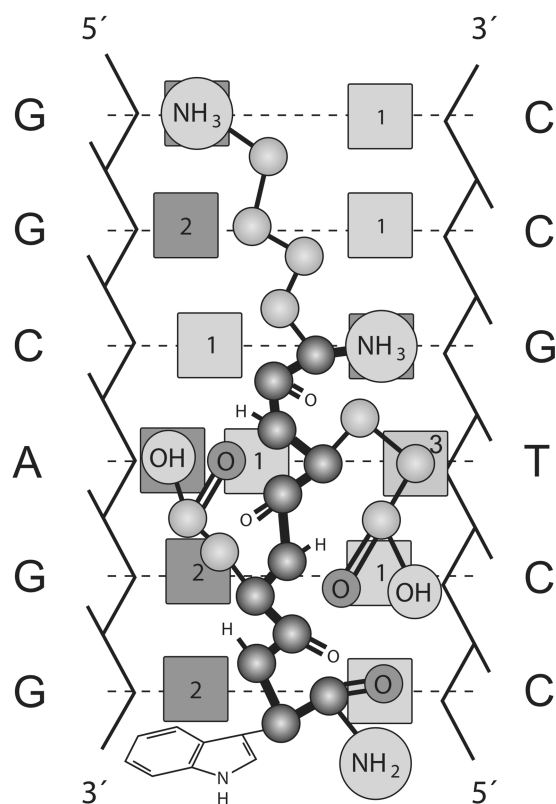


Рис. 2. Комплементарное связывание тетрапептида KEDW<sub>a</sub> с нуклеотидными основаниями в большой канавке двойной спирали ДНК. 1 — аминогруппы аденина и цитозина; 2 — атомы <sup>7</sup>N аденина и гуанина; 3 — метильная группа тимина. Пунктирные линии — плоскости нуклеотидных пар. Темные кружки — каркас основной пептидной цепи; светлые — атомы боковых групп аминокислотных остатков. Ароматическая группа триптофана расположена параллельно плоскости гуанина (перпендикулярно к плоскости рисунка), так как ориентируется стэкинг-эффektenом.

цепи А и В, соединенные участком С. После энзиматического удаления этого участка между цепями А и В устанавливаются дисульфидные связи, специфические для природного инсулина.

Используя разработанный нами ранее подход к оценке комплементарных взаимодействий коротких пептидов с нуклеотидными последовательностями двойной спирали ДНК, мы определили последовательность нуклеотидов, которая может комплементарно связывать тетрапептид KEDW<sub>a</sub>

в большой канавке ДНК [19, 20]. Эта последовательность составила 6 пар оснований *ggcagg* и *cctgcc* на ведущей цепи ДНК гена препроинсулина [21]. На промотерном участке этого гена (2423 п. о.) было обнаружено 14 таких участков, что может служить основанием для экспериментальной проверки гипотезы. На рис. 2 представлена проекция боковых групп тетрапептида, взаимодействующих с функциональными группами нуклеотидной последовательности *ggcagg* двойной спирали ДНК.

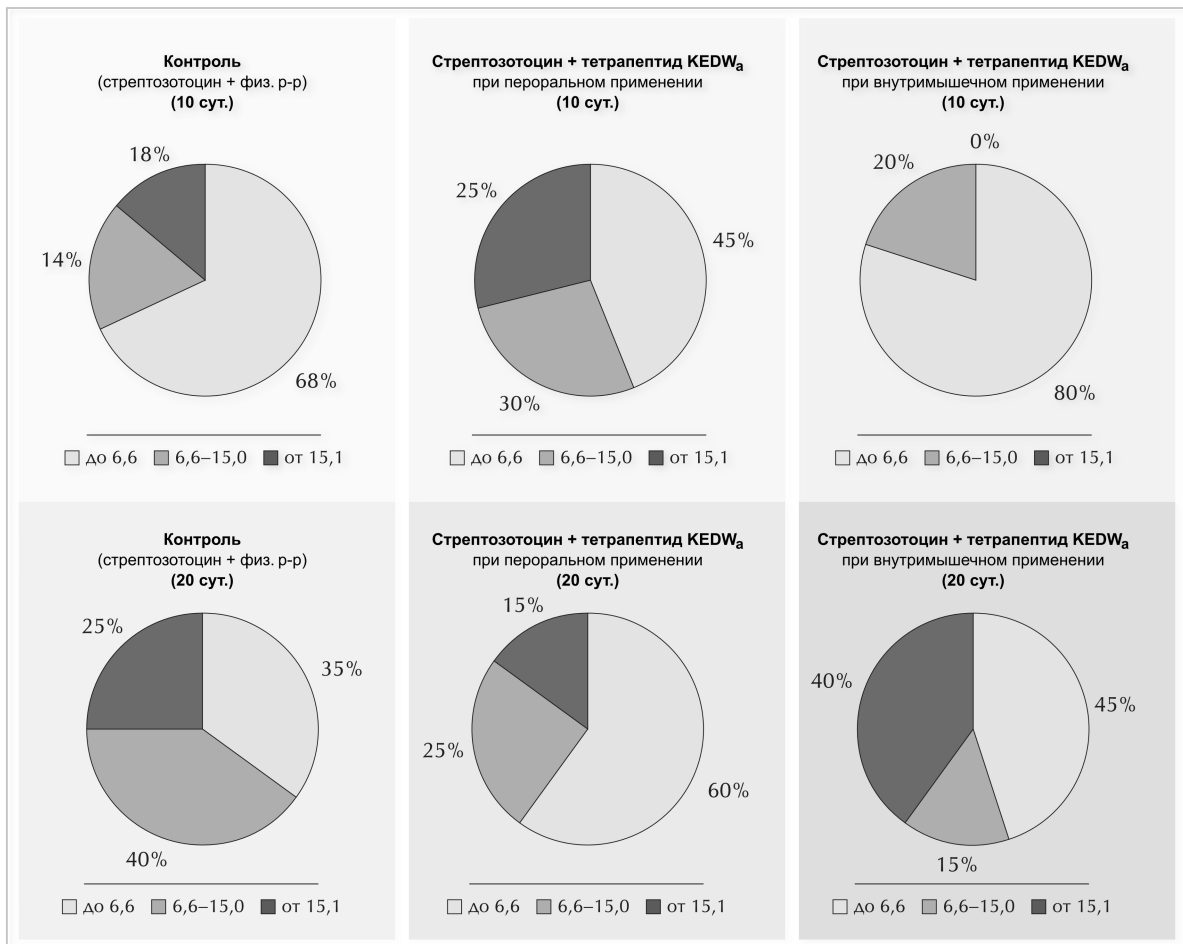


Рис. 3. Распределение животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом по уровню гликемии (ммоль/л) в экспериментальных группах.

Таким образом, на основании анализа структуры инсулинотропных полипептидов сконструирован тетрапептид KEDW<sub>a</sub>, обладающий способностью инициировать транскрипцию гена и синтез инсулина при аллоксановом диабете у крыс.

**Стрептозотоциновый диабет.** В результате проведенного исследования установлено, что на 10 сутки после введения стрептозотоцина у 30%, а на 20 сутки —

у большей части экспериментальных животных, по данным биохимических анализов крови и мочи, был диагностирован СД, что соответствует данным литературы по этой модели (табл. 2, рис. 3). У животных, получавших тетрапептид перорально, на 10 сутки отмечен его выраженный гипогликемический эффект: число животных с гипергликемией было вдвое меньше, чем в контрольной группе после введения стрептозотоци-

Влияние тетрапептида KEDW<sub>a</sub> на уровень глюкозы крови, показатели адгезивности и проницаемости у животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом

Показатель	Здоровые животные (n = 20)	Контроль (стрептозотоцин + физ. р-р) (n = 20)	Стрептозотоцин + тетрапептид KEDW <sub>a</sub> внутримышечно (n = 20)	Стрептозотоцин + тетрапептид KEDW <sub>a</sub> перорально (n = 20)
Глюкоза крови — исходный уровень, ммоль/л	4,2 ± 0,4	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,4	4,6 ± 0,4
Глюкоза крови, ммоль/л (10 сут.)	4,5 ± 0,3	8,2 ± 4,7*	8,0 ± 4,7*	5,6 ± 1,5##
Глюкоза крови, ммоль/л (20 сут.)	4,4 ± 0,5	9,1 ± 4,8*	8,9 ± 4,0**	9,2 ± 5,3*
Диурез, мл/час (20 сут.)	0,16 ± 0,05	0,50 ± 0,40**	0,61 ± 0,52**	0,95 ± 0,82**
Глюкоза мочи, ммоль/л (20 сут.)	0	31,4 ± 26,0**	31,4 ± 26,0**	33,3 ± 25,1**
Коэффициент проницаемости, 10 <sup>-5</sup> см/с (20 сут.)	1,03 ± 0,21	0,72 ± 0,32*	0,68 ± 0,30*	0,65 ± 0,36*
Адгезивность (20 сут.)	1,93 ± 0,34	1,30 ± 0,58*	1,93 ± 0,31#	1,22 ± 0,32**

Примечание. \* — P < 0,05 по сравнению с соответствующим показателем у здоровых животных; \*\* — P < 0,01 по сравнению с соответствующим показателем у здоровых животных; # — P < 0,05 по сравнению с соответствующим показателем у животных контрольной группы после введения стрептозотоцина; ## — P < 0,01 по сравнению с соответствующим показателем у животных контрольной группы после введения стрептозотоцина.

на. После прекращения приема тетрапептида эффект не сохранялся, и к 20 суткам показатели у крыс этой группы практически не отличались от контроля (рис. 3).

К 20 суткам после введения стрептозотоцина показатели, отражающие морфофункциональное состояние эндотелия, значительно изменялись. Проницаемость сосудистой стенки у большей части животных с СД снижалась по сравнению с контролем. Тетрапептид не оказывал влияния на этот показатель транскапиллярного обмена при внутримышечном и пероральном применении (табл. 2). Адгезивность эндотелия сосудистой стенки у животных, не получавших тетрапептид, снижалась. Внутримышечное введение тетрапептида восстанавливало адгезивные свойства эндотелия, при

этом значения данного показателя практически не отличались от таковых у здоровых животных, причем, вне зависимости от уровня глюкозы крови. При пероральном применении тетрапептид не оказывал влияния на адгезивность эндотелия (табл. 2). Таким образом, парентеральное введение тетрапептида оказывало долгосрочное эндотелиопротекторное влияние, а пероральный прием — кратковременный гипогликемический эффект (только в период приема тетрапептида).

По данным литературы, начальные морфофункциональные изменения сосудистой стенки обнаруживаются у крыс через 1–2 месяца после введения стрептозотоцина. Описано накопление плотных гранул в цитоплазме и митохондриях эндотелиаль-

ных клеток капилляров сетчатки, а также утолщение базальной мембраны клубочковых капилляров в почках, коррелирующее с уровнем гликемии [22–24]. Выявлено, что изменения со стороны эндотелия при СД характеризуются появлением отека эндотелиоцитов, снижением в них количества органелл и пиноцитозных пузырьков, увеличением количества цитоплазматических выростов и микроворсин, вдающихся в просвет капилляра и препятствующих кровотоку. Некоторые капилляры полностью выключаются из кровотока в связи с обтурацией просвета. В результате этого число функционирующих капилляров уменьшается, что приводит к нарушению микроциркуляции и ишемии. Важную роль в механизме развития нарушений микроциркуляции иг-

рают изменения реологических свойств крови и гемостаза [1, 12].

Результаты исследований на экспериментальных моделях аллоксанового и стрептозотоцинового СД у крыс показали, что тетрапептид KEDW<sub>a</sub> при кратковременном внутримышечном и пероральном применении оказывает значительное гипогликемическое и эндотелиопротекторное действие. Это открывает перспективу создания нового лекарственного препарата для использования в терапии больных СД.

Авторы выражают благодарность академику РАМН И. П. Ашмарину, профессору Л. К. Шатаевой, профессору Н. А. Гавришевой, канд. хим. наук Е. И. Григорьеву и канд. биол. наук А. М. Ульянову за помощь в работе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И. Патогенез и механизм развития ангиопатий при сахарном диабете [Текст] / М. И. Балаболкин // Кардиология. — 2000. — № 10. — С. 74–87.
2. Ефимов А. С. Диабетические ангиопатии [Текст] / А. С. Ефимов. — М.: Медицина, 1989. — 287 с.
3. Effects of endothelin receptor blockade on hypervasoreactivity in streptozotocin-diabetic rats: vessel-specific involvement of thromboxane A2 [Text] / E. Arikawa, C. Cheung, I. Sekirov [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 2006. — Vol. 84, № 8–9. — P. 823–833.
4. Carbon monoxide and biliverdin prevent endothelial cell sloughing in rats with type I diabetes [Text] / L. Rodella, B. D. Lamon, R. Rezzani [et al.] // Free Radic. Biol. Med. — 2006. — Vol. 40, № 12. — P. 2198–2205.
5. VEGF activation of protein kinase C stimulates occludin phosphorylation of and contributes to endothelial permeability [Text] / N. S. Harhaj, E. A. Felinski, E. B. Wolpert [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2006. — Vol. 47, № 11. — P. 5106–5115.
6. Тутельян В. А. Физиологическая роль коротких пептидов в питании [Текст] / В. А. Тутельян, В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин // Биол. эксперим. биологии и медицины. — 2003. — Т. 135, № 1. — С. 4–10.
7. Климов П. К. Пептиды и пищеварительная система [Текст] / П. К. Климов. — Л.: Наука, 1983. — 372 с.
8. Ashcroft F. M. Mechanism of insulin secretion [Text] / F. M. Ashcroft, S. J. H. Ashcroft // Insulin: Molecular Biology to Pathology. — Oxford: IRL Press, 1992. — P. 97–150.
9. Glucose-dependent insulinotropic peptide: structure of the precursor and tissue-specific expression in rat [Text] / C. C. Tseng, L. A. Jarboe, S. B. Landau [et al.] // J. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. — 1993. — Vol. 90, № 5. — P. 1992–1996.
10. Пат. 2078769 RU, МПК<sup>6</sup> C07K 7/06, C07K 14/62, A61K 38/28. Пептидный фрагмент, обладающий биологической активностью инсулина [Текст] / К. М. Дюмаев, В. В. Княжев, А. И. Арчаков [и др.] (RU); заявитель и патентообладатель Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАМН (RU). — № 95114858/04; заявл. 18.08.95; опубл. 10.05.97. — Режим доступа: www.fips.ru.
11. Пат. 2159250 RU, МПК<sup>7</sup> C07K 14/00, G01N 33/53, A61K 39/00, A61K 38/00, A61P 38/00. Аналоги пептида p277 и содержащие их фармацевтические композиции для лечения и диагностики диабета [Текст] / А. Р. Кохен (US), Д. Елиас (IL), М. Фридкин (IL); заявитель и патентообладатель Йеда Рисерч энд Дивелопмент Ко. ЛТД (IL). — № 97112110/04; заявл. 20.12.95; опубл. 20.11.00. — Режим доступа: www.fips.ru.
12. Пат. 2206336 RU, МПК<sup>7</sup> A61K 38/28, C07K 14/62. Фрагмент С-пептида человеческого проинсулина [Текст] / К. Варен, Б.-Л. Йоханссон, Х. Йернвалль (SE); заявитель и патентообладатель Криэтив пептайдс Свидн АБ (SE). — № 99108434/14; заявл. 26.09.97; опубл. 20.06.03. — Режим доступа: www.fips.ru.
13. Пат. 1268518 AU, МПК C07K 5/10B. Insulin potentiating peptides [Text] / Ng Frank Man-Moon, Jiang Woei-Ji. (AU); заявитель и патентообладатель Metabolic Pharm LTD (AU). № 1268518; заявл. 10.01.01; опубл. 02.01.03. — Режим доступа: www.ep.espacenet.com.
14. Пат. 2242241 RU, МПК<sup>7</sup> A61K 38/07, A61P 3/10. Тетрапептид, регулирующий уровень глюкозы

- при сахарном діабеті, фармакологічне средство на его основе и способ его применения [Текст] / В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин, Е. И. Григорьев, Г. А. Рыжак (RU); патентообладатель Санкт-Петербургская общественная организация «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН» (RU). — № 2003135605/15; заявл. 10.12.03; опубл. 20.12.04. — Режим доступа: www.fips.ru.
15. Higashimoto Y. Isolation and characterization of the gene encoding rat glucose-dependent insulinotropic peptide [Text] / Y. Higashimoto, R. A. Liddle // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1993. — Vol. 193, № 1. — P. 182–190.
  16. Шатаева Л. К. Исследование информационной ценности олигопептидных блоков в регуляторных пептидах и белках [Текст] / Л. К. Шатаева, И. Ю. Ряднова, В. Х. Хавинсон // Успехи соврем. биологии. — 2002. — Т. 122, № 3. — С. 282–289.
  17. Sewald K. Peptides: Chemistry and Biology [Text] / K. Sewald, H.-D. Jakubke-Wemheim: WILEY-VCH Verlag GmbH., 2002. — 562 p.
  18. Rerut C. Streptozotocin and alloxan-diabetes in mice [Text] / C. Rerut, F. Tarding // Europ. J. Pharmacol. — 1969. — Vol. 7, № 1. — P. 89–96.
  19. Хавинсон В. Х. Модель воздействия регуляторных пептидов с двойной спиралью ДНК [Текст] / В. Х. Хавинсон, Л. К. Шатаева, И. Э. Бондарев // Успехи соврем. биологии. — 2003. — Т. 123, № 5. — С. 467–474.
  20. Шатаева Л. К. Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы) [Текст] / Л. К. Шатаева, В. Х. Хавинсон, И. Ю. Ряднова. — СПб.: Наука, 2003. — 222 с.
  21. Generic variation in the human insulin gene [Text] / A. Ullrich, T. J. Dull, A. Gray [et al.] // Science. — 1980. — Vol. 209, № 4456. — P. 612–615.
  22. Babel J. A long term study on the ocular lesions in streptozotocin diabetic rats [Text] / J. Babel, P. Leuenberger // Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol. — 1974. — Vol. 189, № 3. — P. 191–209.
  23. Blood glucose control and glomerular capillary basement membrane thickening in experimental diabetes [Text] / C. J. Fox, S. C. Darby, J. T. Ireland, P. H. Sonksen // Brit. Med. J. — 1997. — Vol. 2, № 6087. — P. 605–607.
  24. Wehner H. Early glomerular changes in streptozotocin diabetes of the guinea pig [Text] / H. Wehner, B. Majorek // Virchows Arch. — 1975. — Vol. 368, № 3. — P. 179–189.

## ВПЛИВ ТЕТРАПЕПТИДУ ПАНКРАГЕН® НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Хавінсон В. Х., Малінін В. В.

Санкт-Петербурзький інститут біорегуляції та геронтології ПЗВ РАМН

При аналізі амінокислотних послідовностей інсулінотропних поліпептидів знайдена спільна для них коротка ділянка з чотирьох амінокислотних залишків. Синтезовано тетрапептид KEDW<sub>a</sub>, аналог цієї ділянки, захищений від впливу протеїназ шлунково-кишкового тракту. Застосування тетрапептиду внутрішньом'язово за алоксанового діабету у щурів сприяє частковому відновленню синтезу інсуліну. При пероральному введенні щурам із стрептозотоциновим діабетом тетрапептид викazuje виразний гіпоглікемічний ефект під час вживання. При внутрішньом'язовому введенні тетрапептид нормалізує адгезивність ендотелія мікросудин брижі, не впливаючи на проникність. Отримані результати свідчать про наявність гіпоглікемічної та ендотеліопротекторної дії тетрапептиду за експериментального цукрового діабету.

К л ю ч о в і с л о в а: тетрапептид, експериментальний цукровий діабет, ендотелій, пре-проінсулін, промотер гена, комплементарність.

## ВЛИЯНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА ПАНКРАГЕН® НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Хавинсон В. Х., Малинин В. В.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН*

При анализе аминокислотных последовательностей инсулимотропных полипептидов обнаружен общий для них короткий участок из четырех аминокислотных остатков. Синтезирован тетрапептид KEDW<sub>a</sub>, аналог этого участка, защищенный от действия протеиназ желудочно-кишечного тракта. Применение тетрапептида внутримышечно при аллоксановом диабете у крыс способствует частичному восстановлению синтеза инсулина. При пероральном введении крысам со стрептозотоциновым диабетом тетрапептид оказывает выраженное гипогликемическим действие в период приема. При внутримышечном введении тетрапептид нормализует адгезивность эндотелия микрососудов брыжейки, не влияя на проницаемость. Полученные результаты свидетельствуют о наличии гипогликемического и эндотелиопротекторного действия тетрапептида при экспериментальном сахарном диабете.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** тетрапептид, экспериментальный сахарный диабет, эндотелий, препроинсулин, промотер гена, комплементарность.

## THE INFLUENCE OF TETRAPEPTIDE PANCRAGENE® ON THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS DEVELOPMENT

V. H. Havinson, V. V. Malinin

*Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology of the North-Western Department of the Russian Academy of Medical Sciences*

The analysis of amino acid sequences of insulinotropic polypeptides has revealed a common short segment, consisting of four amino acid residues. Tetrapeptide KEDW<sub>a</sub> analogous to this segment and protected from the effect of amino acid proteinases has been synthesized. The intramuscular administration of this tetrapeptide to rats with alloxan diabetes has promoted the insulin synthesis being partially restored. Under the condition of oral administration to rats with streptosotocin diabetes the tetrapeptide has exerted a pronounced hypoglycaemic effect within its administration. Intramuscular administration normalizes the adhesive ability of mesentery microvessels endothelium at the same time not affecting their permeability. The results point out a hypoglycaemic and endothelioprotective effect of the tetrapeptide in case of experimental diabetes mellitus.

**К e y w o r d s:** tetrapeptide, experimental diabetes mellitus, preproinsulin, gene promoter, complementarity.