

На правах рукописи

ИВАНОВА
Людмила Георгиевна

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗРАСТНЫХ НАРУШЕНИЙ ЭНДОКРИННОЙ ФУНКЦИИ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕТРАПЕПТИДА ПАНКРАГЕНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА
ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИМАТАХ**

14.01.30 - Геронтология и гериатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Белгород - 2020

Работа выполнена в лаборатории экспериментальной эндокринологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии»

Научный руководитель:

заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, доцент Гончарова Надежда Дмитриевна

Официальные оппоненты:

Рыжак Галина Анатольевна, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Автономная научная некоммерческая организация высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», заместитель директора по научной работе и новым технологиям, заведующий лабораторией возрастной клинической патологии

Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет», заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации медицинского института

Защита диссертации состоится «_____» _____ 20__ г. в _____ часов на заседании диссертационного совета БелГУ.14.03 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» по адресу: 308015, г. Белгород, Народный бульвар 21, корпус 19.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» www.bsu.edu.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Осипова Ольга Александровна

Актуальность темы исследования

В настоящее время численность больных сахарным диабетом во всем мире неуклонно растет [International Diabetes Federation, 2018]. Наиболее широкое распространение получил сахарный диабет 2 типа (СД 2), поражающий главным образом пожилых людей. В основе роста заболеваемости возраст-ассоциированной патологией, в том числе СД 2 типа, лежит увеличение численности лиц пожилого и старческого возраста в современном обществе [Булгакова С.В. и др., 2018; Ильницкий А.Н. и др., 2015; Bryhni V. et al., 2010]. Известно, что физиологическое старение человека характеризуется снижением чувствительности периферических тканей к инсулину и β -клеток островков Лангерганса к глюкозе, и сопровождается повышением уровней глюкозы, инсулина и проинсулина в крови [Аметов А.С., 2002; Прощаев К.И. и др., 2014; Bryhni V. et al., 2010]. Данные возрастные изменения способствуют развитию СД 2 типа, при котором отмечается более выраженная, чем у здоровых пожилых людей инсулинорезистентность, увеличение выработки глюкозы печенью и повреждение функции панкреатических β -клеток [Bryhni V. et al., 2010; DeFronzo R. A., 2009]. Развитию возраст-ассоциированных заболеваний способствуют многие экзо- и эндогенные факторы [Анисимов В.Н., 2008; Булгакова С.В. и др., 2018; Виноградова И.А., 2007; Гончарова Н.Д. и др., 2007; Ильницкий А.Н. и др., 2015]. Однако все возрастающее количество исследований указывает на индивидуальный характер риска возникновения возрастной патологии, в том числе СД 2 типа. Поиск индивидуальных маркеров предрасположенности к возрастной патологии, становится одной из ведущих задач современной медицины.

В этой связи обращают на себя внимание исследования по ассоциации индивидуальных особенностей высшей нервной деятельности (ВНД), в частности поведения, с развитием дисфункции островкового аппарата поджелудочной железы (ОАПЖ) при старении. Отмечено, что распространенность депрессивных и тревожных расстройств у больных СД 2 типа втрое выше, чем в популяции [Старостина Е.Г. и др., 2017; Knol M. J. et al., 2006], а у индивидов с тревожными и депрессивными симптомами выше риск возникновения этого заболевания [Golden S.H. et al., 2008; Kahl K.G. et al., 2015; Knol M. J. et al., 2006; Nascimento E.R. et al., 2014]. Несмотря на тесную взаимосвязь тревожных и депрессивных расстройств с нарушениями углеводного обмена, патогенетические механизмы, лежащие в ее основе, до конца не ясны [Старостина Е.Г. и др., 2017; Abbatecola A.M. et al., 2006; Knol M.J. et al., 2006].

Особый интерес представляют исследования, с использованием физически здоровых лабораторных приматов (*Macaca mulatta*), демонстрирующих разные типы адаптивного поведения в условиях мягкого/умеренного стресса. В частности, были представлены работы, выявившие ассоциацию тревожного и депрессивно-подобного поведения приматов (ДАВ) с более выраженными возрастными дисфункциями гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) и антиоксидантной ферментной системы клеточной защиты (АФСЗ) в сравнении с обезьянами, демонстрирующими обычное стандартное поведение (SB) [Гончарова Н.Д., Маренин В.Ю., 2009; Goncharova N.D., Oganyan T.E., 2018; Goncharova N.D. et al., 2010, 2013, 2019]. Дисфункции ГГАС и АФСЗ и связанные с ними гиперкортизолемиа и оксидативный стресс играют важную роль при формировании нарушений углеводного обмена при старении [Гончарова Н. Д. и др., 2007; Knol M.J. et al., 2006; Lloyd C.E. et al., 2016; Nascimento E.R. et al., 2014]. В этой связи нами было сделано предположение, что и более выраженные возрастные дисфункции ОАПЖ могут быть характерны для приматов с ДАВ. К тому же лабораторные приматы демонстрируют поразительное сходство с человеком по течению возрастных нарушений эндокринной функции ОАПЖ, для них характерно развитие спонтанного СД 2 типа [Goncharova N.D. et al., 2005; Гончарова Н.Д. и др., 2007; Harwood H.J. et al., 2012; Wagner J. D. et al., 2012], а психоэмоциональные ответные реакции и адаптивное поведение более схоже с человеком, чем у других лабораторных животных [Voccia M.L. et al., 1995; Machado C.J. et al., 2006; McKinney W.T. et al., 1984]. Таким образом, изучение

индивидуальных особенностей функционирования ОАПЖ при старении у приматов с DAB и SB является чрезвычайно перспективным.

Лечение пожилых пациентов с СД 2 типа и нарушенной толерантностью к глюкозе часто сопряжено с рядом трудностей, таких как полиморбидность заболеваний, одновременный прием нескольких лекарственных препаратов, когнитивные нарушения, что увеличивает риск гипогликемических состояний и связанных с ними острых сердечно-сосудистых осложнений [Дедов И.И., Шестакова М.В., 2011]. В этой связи, представляют интерес экспериментальные и клинические данные о способности нового препарата Панкрагена (Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, г. Санкт - Петербург, директор - член-корр. РАН проф. В.Х. Хавинсон) регулировать функцию ОАПЖ [Коркушко О.В. и др., 2011; Хавинсон В.Х., 2005, Хавинсон В.Х. и др., 2012; Khavinson V.Kh. et al., 2009]. Панкраген представляет собой тетрапептид (Lys-Glu-Asp-Trp), синтезированный на основе анализа аминокислотного состава органопрепарата из поджелудочной железы животных. Механизм действия коротких пептидов, по-видимому, заключается в способности инициировать транскрипцию генов и восстанавливать интенсивность синтеза тканеспецифических белков [Khavinson V.Kh. et al., 2009; Тарновская С.И., 2013]. Исследованиями, выполненными в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии (г. Санкт – Петербург) по изучению влияния Панкрагена на эндокринную функцию поджелудочной железы у крыс с индуцированным стрептозоцином сахарным диабетом, отмечено восстанавливающее действие Панкрагена на функцию ОАПЖ [Кветной И.М. и др., 2007]. У больных СД 2 типа применение Панкрагена приводило к снижению уровня глюкозы и инсулина натощак и в условиях углеводной нагрузки, а также к снижению индекса инсулинорезистентности [Коркушко О.В. и др., 2011]. Однако вопрос о характере осложнений, возникающих у пожилых людей в процессе лечения Панкрагеном, его безопасность в отношении риска гипогликемических состояний и наличие экстрапанкреатических эффектов остается не исследованным. С учетом вышесказанного, является перспективной сравнительная оценка функции ОАПЖ у пожилых индивидов на фоне лечения Панкрагеном и современными сахароснижающими препаратами.

Таким образом, изучение индивидуальных особенностей старения ОАПЖ у индивидов с разными типами адаптивного поведения (SB и DAB), а также возможности коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы с помощью нового сахароснижающего препарата Панкрагена на лабораторных приматах – самках макак резус, является чрезвычайно актуальным. По мнению многих исследователей, лабораторные приматы в силу своего генетического, физиологического и поведенческого сходства с человеком являются идеальной трансляционной моделью [Colman R.J., 2018; Didier E.S. et al., 2016; Havel P.J. et al., 2017; Simmons H.A., 2016]. Для них характерно естественное развитие заболеваний с возрастом (т.е. не требующее генетических манипуляций), что хорошо воспроизводит возраст-ассоциированные состояния человека. В отличие от клинических исследований, эксперименты на лабораторных приматах позволяют полностью контролировать экспериментальную среду, включая условия проживания, рацион питания, социальные взаимодействия и т.п. При этом экспериментальные исследования могут быть спроектированы таким образом, чтобы обеспечить всесторонний мониторинг объекта и строгое соблюдение протокола [Colman R.J., 2018; Didier E.S. et al., 2016; Simmons H.A., 2016]. Результаты, полученные в ходе исследования на приматах, могут быть рекомендованы к применению в клинической практике.

Степень разработанности проблемы исследования

Все возрастающее количество исследований посвящено изучению ассоциации депрессивных и тревожных расстройств с риском возникновения СД 2 типа. Однако в литературе практически отсутствуют работы по изучению взаимосвязи особенностей ВНД (в частности, адаптивного поведения) у здоровых индивидов с риском развития возрастной дисфункции ОАПЖ. Кроме того, в литературе не освещен вопрос о характере осложнений у пожилых индивидов при лечении Панкрагеном, о его безопасности в отношении риска гипогликемических состояний и наличии экстрапанкреатических эффектов.

Цель и задачи исследования

Цель работы - изучение возрастных особенностей функционирования ОАПЖ у индивидов, различающихся по адаптивному поведению, и оценка эффективности и безопасности применения тетрапептида Панкрагена для коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы в эксперименте на адекватной животной модели - лабораторных приматах с тревожным и депрессивно-подобным поведением, с одной стороны, и контрольным стандартным поведением, с другой стороны.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить особенности функционирования ОАПЖ у молодых самок макак резус с SB и DAB.
2. Изучить особенности функционирования ОАПЖ у старых самок макак резус с SB и DAB.
3. Изучить особенности возрастных нарушений эндокринной функции ОАПЖ у самок макак резус с SB и DAB с нормальной и избыточной массой тела.
4. Изучить особенности метаболических изменений у молодых и старых самок макак резус с SB и DAB.
5. Изучить эффективность и безопасность применения тетрапептида Панкрагена для коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы в сравнении с глимепиридом с использованием самок макак резус молодого и старого возраста.

Научная новизна

Впервые проведено исследование по изучению возрастных особенностей эндокринной функции поджелудочной железы у индивидов, различающихся по адаптивному поведению, на модели лабораторных приматов - молодых и старых физически здоровых самках макак резус. Выявлены легкие расстройства в функционировании ОАПЖ уже у молодых животных с DAB, которые характеризовались признаками нарушения раннего инсулинового ответа по сравнению с молодыми животными с SB. Показано, что характер возрастных изменений эндокринной функции поджелудочной железы зависит как от массы тела животного, так и от принадлежности к той или иной поведенческой группе. Выявлено, что процесс старения ОАПЖ у животных с DAB и избыточной массой (ИМ) отличается от процессов физиологического старения и сопровождается существенным снижением секреции инсулина по сравнению со старыми животными с SB и ИМ.

Впервые продемонстрирован разнонаправленный характер нарушений липидного обмена у старых животных с избыточной массой с SB и DAB. У старых животных с SB и ИМ отмечается повышение уровня триглицеридов в крови, ассоциированное с компенсаторной гиперинсулинемией. В тоже время для старых приматов с DAB и ИМ, характерно значимое снижение уровня триглицеридов по сравнению с особями с SB и ИМ, что хорошо коррелирует со снижением у этих животных секреции инсулина.

Продемонстрирована способность десятидневного инъекционного курса тетрапептида Панкрагена (50 мкг/сутки на 1 животное) к восстановлению нарушенной толерантности к глюкозе у старых обезьян, что не сопровождается риском возникновения гипогликемии и существенными экстрапанкреатическими эффектами (влиянием на уровни инсулиноподобного фактора роста-1, кортизола и адреналовых андрогенов в крови). Действие Панкрагена, в отличие от глимепирида (препарата сравнения), который оказывал выраженный и отсроченный гипогликемический эффект, более физиологично, что предполагает применение Панкрагена безопасным у лиц пожилого возраста с нарушенной толерантностью к глюкозе и СД 2 типа.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные об ассоциации характера возрастных изменений эндокринной функции поджелудочной железы с особенностями адаптивного поведения, полученные на модели лабораторных приматов («лабораторном двойнике» человека), носят как фундаментальный, так

и прикладной характер. Они могут быть использованы для разработки индивидуального подхода в лечении, профилактике и прогнозировании возрастной патологии ОАПЖ, в том числе нарушенной толерантности к глюкозе и СД 2 типа.

Практическое значение имеют данные о восстанавливающем и безопасном действии Панкрагена на нарушающуюся с возрастом эндокринную функцию поджелудочной железы, которые позволяют рекомендовать этот препарат для использования в клинике у лиц пожилого возраста.

Результаты диссертационной работы используются в учебно-педагогической деятельности кафедры фармакологии, организации и экономики фармации медицинского факультета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» при преподавании дисциплин медико-биологического и фармакологического профиля у студентов, а также у специалистов лечебных специальностей терапевтического профиля, обучающихся в рамках системы последипломого непрерывного медицинского образования врачей.

Методология и методы диссертационного исследования

Объектом диссертационного исследования послужили лабораторные приматы – молодые и старые самки макак резус, демонстрирующие разные типы адаптивного поведения в условиях мягкого/умеренного стресса. Для изучения возрастных особенностей эндокринной функции поджелудочной железы у данных животных применяли современные методы лабораторной диагностики: клинические, биохимические, методы иммуноферментного анализа (для определения уровня гормонов). Полученные результаты систематизированы и статистически и математически обработаны.

Все процедуры с животными одобрены комитетом по этике НИИ медицинской приматологии и проведены в соответствии с требованиями, предусмотренными «European Communities Council Directive 1986» и изложенными в «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2010».

Положения, выносимые на защиту

1. У молодых животных с DAB по сравнению с молодыми животными с SB, отмечается ряд особенностей в функционировании ОАПЖ, которые характеризуются признаками нарушения раннего инсулинового ответа, обусловленного, по-видимому, снижением чувствительности β -клеток поджелудочной железы к нагрузке глюкозой.

2. При старении отмечается повреждение функции ОАПЖ у всех животных, но характер ее изменений зависит от принадлежности к той или иной поведенческой группе и от массы тела животного. Для приматов с SB характерно развитие относительной инсулинорезистентности периферических тканей и компенсаторной гиперинсулинемии в условиях глюкозотолерантного теста, более выраженных у особей с ИМ. У старых животных с DAB и ИМ отмечены максимальные нарушения в толерантности к глюкозе, сопровождающиеся минимальной скоростью «исчезновения» глюкозы из циркуляции и существенным снижением секреции инсулина.

3. При старении у старых животных с избыточной массой тела с SB и DAB отмечаются нарушения липидного обмена, которые у особей с SB и ИМ характеризуются повышением уровня триглицеридов в крови, ассоциированным с компенсаторной гиперинсулинемией. Для старых приматов с DAB и ИМ, характерно существенное снижение уровня триглицеридов, коррелирующее со снижением у этих животных секреции инсулина.

4. Десятидневный курс Панкрагена (50 мкг/сутки на 1 животное) приводил к восстановлению у старых животных нарушенной толерантности к глюкозе путем повышения чувствительности периферических тканей к инсулину и β -клеток поджелудочной железы к глюкозе с нормализацией уровня глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме крови в условиях глюкозотолерантного теста. Действие Панкрагена, в сравнении с глимепиридом, который оказывал выраженный и отсроченный гипогликемический эффект, более физиологично, что предполагает применение Панкрагена безопасным у лиц пожилого возраста с нарушенной толерантностью к глюкозе и СД 2 типа.

Степень достоверности и апробация результатов диссертации

Материалы работы докладывались на III Российском конгрессе «Метаболический синдром: междисциплинарные проблемы» (Санкт-Петербург, 2013); Международном форуме «Старшее поколение» (Санкт - Петербург, 2013); Первой международной научно-практической конференции «Фармакология, фармацевтическая технология и фармакотерапия в обеспечении активного долголетия» (Киев, Украина, 2013); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике» (Киев, Украина, 2013); Международной научно-практической конференции «Современное образование, физическая культура, спорт, туризм, рекреация и здоровье» (Сочи, 2013); Научной конференции «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии», посвященной 20-летию со дня основания геронтологического общества при Российской академии наук (Санкт – Петербург, 2014); Десятой научно-практической геронтологической конференции «Пушковские чтения. Актуальные вопросы геронтологии и гериатрии: болевые синдромы в гериатрической практике» (Санкт-Петербург, 2015); Четвертой международной конференции, посвященной 100-летию Южного федерального университета (Ростов-на-Дону, 2015); Третьей международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской приматологии» (Сочи-Адлер, 2016); Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2018); VIII Российском научно-практическом конгрессе «Метаболический синдром. Фундаментальные и клинические аспекты - от теории к практике» (Санкт-Петербург, 2018); Международной научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине и биологии» (Сочи-Адлер, 2019); VIII (XXVI) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва, 2019).

Личный вклад автора

Автор принимала участие в экспериментах с 2012 по 2017 год, включая оценку поведения обезьян, антропометрических данных, проведение функциональных тестов, забор и обработку образцов крови, определение уровня биохимических показателей, статистическую обработку и анализ полученных данных. Также автором был проведен анализ и статистическая обработка базы данных обезьян лаборатории экспериментальной эндокринологии ФГБНУ «НИИ МП» (г. Сочи), начиная с 2007 года. Автор проанализировала литературные данные по изучаемой проблеме, участвовала в написании статей, тезисов, выступлениях с докладами на конференциях.

Связь с научно-исследовательской работой института

Диссертационная работа выполнена в соответствии с основным планом научно-исследовательских работ ФГБНУ «НИИ МП» (№ гос. регистрации 01201261533; № гос. регистрации 115033040024, проект РФФИ № 15-04-07896-а; договор с ЗАО «Экссес Байосаинс» (г. Санкт-Петербург) №01-08-2007/12-Д-2006 от 1.08.2007).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 работ; в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и включенных в перечень Scopus, 4 статьи в других журналах и 9 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации

Научно-исследовательская работа изложена на 160 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов и 2-х глав собственных исследований. Список цитированной литературы включает 81 отечественных и 181 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 18 таблицами.

Благодарность

Автор выражает благодарность за помощь в научной деятельности научному руководителю заведующей лабораторией экспериментальной эндокринологии ФГБНУ «НИИ МП» д.б.н., з.д.н. РФ Гончаровой Н.Д.; всему коллективу лаборатории экспериментальной эндокринологии за помощь в проведении экспериментов и лабораторных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика экспериментальных животных

В экспериментах было использовано 76 физически здоровых самок макак резус (*Macaca mulatta*) из питомника ФГБНУ «НИИ МП» (г. Сочи - Адлер), находившихся в исследованиях в лаборатории экспериментальной эндокринологии за период с 2007 по 2017 год. В зависимости от возраста животные были распределены в две группы: молодые половозрелые - 35 особей в возрасте 5-9 лет и старые – 41 особь в возрасте 20 - 31 год.

Все эксперименты за указанный период времени проводили в идентичных условиях с применением одинаковых методик. Исследование проводили в летне-осеннее время года (июнь-сентябрь), когда для самок макак резус не характерны овариальные циклы. На время эксперимента животных отсаживали из вольер или клеток с групповым содержанием, в индивидуальные метаболические клетки, помещенные в отдельной комнате с естественным освещением (свет с 07:00 до 19:00 ч) и контролем температуры 26-28°C. Животные получали сбалансированный брикетированный корм, изготовленный по технологии «Altromin» («Lage», Германия), воду неограниченно, дополнительно – вареное яйцо, свежие овощи и фрукты. Состояние здоровья животных контролировалось неинвазивными методами (по подвижности животного, состоянию волосяного покрова, стула, мочи, микробиологическим показателям ректальных мазков, цвету и степени набухания «половой кожи»), а также по общему и биохимическому анализу крови (оценивали уровни общего холестерина, триглицеридов, билирубина, аспартат-аминотрансферазы (АСТ), аланин-аминотрансферазы (АЛТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), креатинина, мочевины, альбумина, общего белка). До экспериментов животные проходили курс адаптации к условиям отдельного содержания и процедуре взятия образцов крови в течение 4 недель.

Поведение животных оценивали в период адаптации и во время собственно эксперимента с учетом рекомендаций для лабораторных приматов [Bocchia M.L. et al., 1995] по методике описанной ранее [Goncharova N.D. et al., 2010, 2013; Goncharova N.D., Oganyan T.E., 2018]. Выделяли молодых и старых животных с 3 типами поведения: стандартным (standard behavior, SB), депрессивно-подобным и беспокойным (тревожным) поведением. Вследствие функционального сходства работы ОАПЖ в базальных условиях и при проведении глюкозотолерантного теста животные с двумя последними типами поведения были объединены в одну группу DAB (depression-like and anxiety-like behavior). Следует отметить, что ранее у самок макак резус с депрессивно-подобным и тревожным поведением также не было выявлено существенных различий в функционировании ГГАС как в базальных условиях, так и в ответ на стрессовое воздействие и ряд функциональных тестов [Goncharova N.D. et al., 2015, 2019; Goncharova N.D., Oganyan T.E., 2018].

Макаки резусы – наиболее часто используемые в исследованиях лабораторные приматы – «лабораторный двойник» человека, сходство их генома с геномом человека составляет 93% [Colman R.J., 2018; Didier E.S. et al., 2016; Havel P.J. et al., 2017; Simmons H.A., 2016]. Уровни биохимических показателей в крови у макак резус (глюкозы, общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов и др.) и гормонов (инсулина, кортизола, ДГАС, ИФР-1 и др.), а также клеточный состав крови, факторы свертываемости и иммунного ответа (резус-фактор, группы крови и др.) сопоставимы с таковыми у человека, что позволяет использовать полученные экспериментальные данные в клинической практике [Гончарова Н.Д. и др., 2007; Лапин Б.А. и др. 1987; Colman R.J., 2018; Didier E.S. et al., 2016; Havel P.J. et al., 2017; Simmons H.A., 2016]. Кроме того, возрастные изменения эндокринных функций у человека и приматов также носят сходный характер [Гончарова Н.Д., 1997а, 1997б; Гончарова и др., 2002; Гончарова Н.Д., Лапин Б.А., 2005; Fridman E. P., Nadler R. D., 2019; Takeshita R., 2019].

Описание экспериментов

Диссертационная работа включает два эксперимента, первый посвящен изучению особенностей функционирования ОАПЖ при старении у животных с разным типом адаптивного поведения (DAВ и SB); второй – изучению влияния тетрапептида Панкрагена для коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы в сравнении с глимепиридом у старых обезьян.

Эксперимент 1

В опытах использовали 76 физически здоровых самок макак резус. В группу животных с SB вошло 43 особи, из них 14 молодых половозрелых (средний возраст – $7,2 \pm 0,3$ года) и 29 старых особей (средний возраст – $25,0 \pm 0,6$ года). Группа обезьян с DAВ включала 33 животных, из них 21 молодых половозрелых (средний возраст – $6,8 \pm 0,2$ года) и 12 старых особей (средний возраст – $23,0 \pm 0,6$ года).

У всех молодых животных масса тела не превышала 6,9 кг с диапазоном индивидуальных колебаний от 3,3 кг до 6,9 кг - нормальная масса (НМ) тела ($M \pm 2\delta$, где М - средняя масса тела $5,1 \pm 0,1$ кг; $\delta=0,9$) [ВОЗ, 2008]. В тоже время среди старых животных были выделены подгруппы с НМ - вес от 3,3 до 6,9 кг и с избыточной массой (ИМ) тела – вес более 6,9 кг (свыше $M+2\delta$). В подгруппу старых животных с SB и НМ вошло 22 особи (средняя масса тела – $5,3 \pm 0,2$ кг), в подгруппу с SB и ИМ - 7 особей (средняя масса тела - $9,2 \pm 0,3$ кг). В подгруппу старых животных с DAВ и НМ вошло 5 особей (средняя масса тела $4,0 \pm 0,2$ кг) и в подгруппу с DAВ и ИМ - 7 особей (средняя масса тела $8,5 \pm 0,4$ кг).

Для оценки функции ОАПЖ в базальных условиях у всех старых и молодых животных проводили взятие образцов крови после периода адаптации 2-3 раза в разные дни натошак (в 9.00-9.30 утра). Для оценки работы ОАПЖ в условиях его функциональной активности всех животных подвергали глюкозотолерантному тесту, как было описано ранее [Гончарова Н.Д. и др., 2007; Goncharova N.D. et al., 2005]. С этой целью утром (9.00 ч) натошак животным вводили стандартную дозу глюкозы - 300 мг/кг м.т., внутривенно. Образцы крови брали из локтевой или бедренной вены до введения глюкозы (0) и через 5, 15, 30, 60 и 120 мин после ее введения. В образцах крови определяли уровни глюкозы, С-пептида и инсулина. Также, в образцах крови натошак определяли ряд биохимических показателей – общий холестерин, триглицериды, АСТ, АЛТ, ГГТ, билирубин, креатинин, мочевины, альбумин и общий белок - для оценки метаболических нарушений.

Эксперимент 2

Панкраген представляет собой тетрапептид Lys-Glu-Asp-Trp, полученный методом целенаправленного конструирования на основании анализа аминокислотного состава органопрепарата, выделенного из поджелудочной железы животных (Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, г. Санкт - Петербург, директор - член-корр. РАН проф. В.Х. Хавинсон).

Глимепирид (глемаз «QuimicaMontpellierS.A., VagoGroupCompanу», Аргентина) - сахароснижающий препарат для перорального применения из группы сульфонилмочевины.

В опытах использовали 14 физически здоровых самок макак резус: 5 молодых половозрелых животных (группа контроля) и 9 старых животных. После адаптации 4 раза на протяжении 14 дней у всех старых и молодых животных проводили взятие образцов крови натошак (в 9.00-9.30 утра) и однократно – глюкозотолерантный тест для оценки эндокринной функции поджелудочной железы в базальных условиях (фоновые показатели). Затем старым животным в течение 10 дней вводили препараты: первой группе старых животных (5 особей) внутримышечно вводили Панкраген в дозе 0,050 мг/сутки на 1 животное в 9.00-9.30 ч утра. Использовали инъекционную форму препарата (раствор в ампулах по 0,100 мг в 1 мл; серия 010206). Второй группе старых животных (4 особи) вводили глимепирид - препарат сравнения - 4 мг/животное, перорально. На протяжении всего периода введения препаратов и в восстановительный период у животных обеих групп 7 раз проводили взятие образцов крови натошак, а также на 10-й день введения препаратов и спустя 3 недели после их отмены -

глюкозотолерантные тесты с целью оценки изменений эндокринной функции поджелудочной железы под воздействием препаратов.

Глюкозотолерантный тест проводили по указанной выше схеме (см. эксперимент 1). В образцах крови определяли уровни глюкозы, С-пептида и инсулина. Помимо перечисленных показателей определяли концентрации инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1), кортизола и ДГАС - гормонов, участвующих в регуляции уровня глюкозы в периферической крови, с целью оценки экстрапанкреатических эффектов Панкреагена.

Определение концентрации глюкозы и гормонов в плазме периферической крови

Образцы крови брали из локтевой или бедренной вены с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта. Кровь немедленно центрифугировали при 2000g и 4°C. Плазму хранили при -70°C не более 1 месяца до проведения гормонального анализа. В плазме крови определяли концентрации гормонов методами ИФА с использованием наборов: инсулина и С-пептида «Monobind Inc» (США); ИФР-1 – «DSL» (США), ДГАС – «Adaltis» (Италия), кортизола – «АлкорБио» (Санкт-Петербург, Россия). Коэффициент вариации значений инсулина, С-пептида ИФР-1, ДГАС и кортизола в пределах одной и разных реакций не превышал 10% и 15% соответственно.

Концентрацию глюкозы определяли в плазме крови глюкозооксидантным методом с использованием наборов «ВиталДиагностикс» (Санкт-Петербург) в день взятия образцов крови. Коэффициент вариации значений уровня глюкозы не превышал 5%. Для оценки толерантности к глюкозе рассчитывали показатель скорости «исчезновения» глюкозы из циркуляции в течение первых 5 и 15 мин после внутривенного введения стандартной дозы глюкозы [Гончарова Н.Д. и др., 2007; Goncharova N.D. et al., 2005]. Скорость «исчезновения» глюкозы из циркуляции рассчитывали, исходя из данных, что объем циркулирующей крови у обезьян составляет около 7% от массы тела. Скорость «исчезновения» глюкозы рассчитывалась в процентах от исходного общего уровня глюкозы в 1 мин. Остальные биохимические показатели определяли в клинико-ветеринарном отделе НИИ МП на анализаторе «BioChem» (наборы фирмы “Higt Technology”, США).

Статистическая обработка результатов

Во всех таблицах и рисунках представлены средние арифметические значения и среднеквадратичные ошибки средних арифметических значений ($M \pm m$). Статистические сравнения межгрупповых различий в концентрации гормонов и глюкозы выполнены с использованием повторяющегося ANOVA, где тип поведения рассматривался как межгрупповой фактор, а время - как повторяющийся фактор. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью двухстороннего t-критерия Стьюдента для зависимых (сравнение концентраций гормонов и глюкозы в разные интервалы времени после воздействия) и независимых (сравнение концентраций гормонов, глюкозы и других биохимических показателей в разных группах) образцов в программе “Statistica 6.0”. Площадь под кривыми, представляющими концентрацию гормонов и глюкозы как функцию от времени (от 0 до 120 мин, площадь ответа) рассчитывали с помощью формулы трапеций [Выгодский М.Я., 1962].

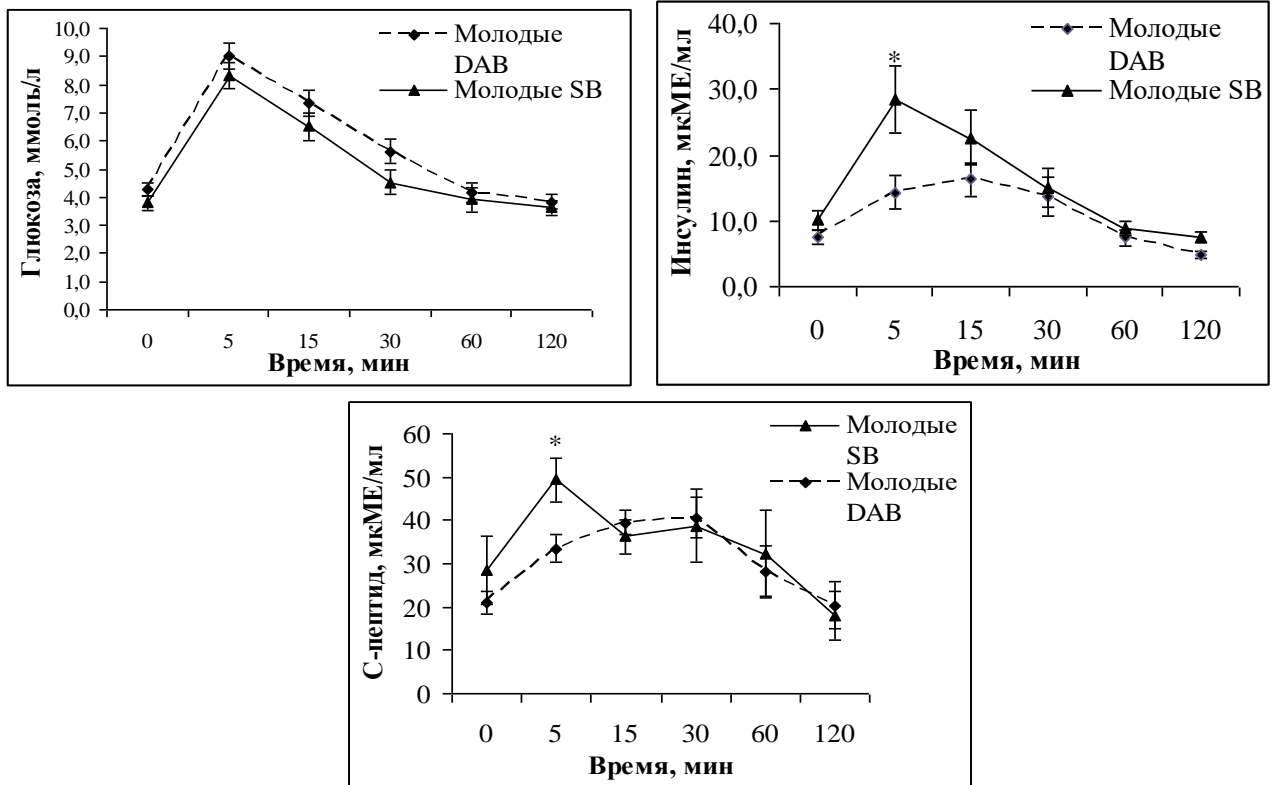
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей функционирования островкового аппарата поджелудочной железы при старении в эксперименте на самках макак резус с DAB и SB

Особенности функционирования островкового аппарата поджелудочной железы у молодых самок макак резус с DAB и SB

Сравнительное исследование результатов глюкозотолерантного теста у молодых животных выявило ряд отличий в функционировании ОАПЖ у особей с SB и DAB.

На рисунке 1 представлены кривые изменений концентрации глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме крови у молодых животных обеих групп в ответ на введение стандартной дозы глюкозы.



* $p < 0,01$ – достоверные межгрупповые различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных с DAB.

Рисунок 1. Уровень глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме периферической крови у молодых самок макаков резус с SB и DAB в ответ на введение стандартной дозы глюкозы ($M \pm m$).

Как видно из представленных данных, концентрация глюкозы в обеих группах животных резко возрастала через 5 и 15 мин, к исходным значениям возвращалась через 60-120 мин. У молодых животных с DAB отмечалась тенденция к более высокому подъему уровня глюкозы через 5, 15 и 30 мин по сравнению с группой животных с SB. Как видно на рисунке 1, у животных с SB концентрация инсулина резко возрастала через 5 мин после нагрузки глюкозой и постепенно через 60-120 мин возвращалась к исходным значениям. Характер этой кривой аналогичен динамике концентрации инсулина в условиях глюкозотолерантного теста, ранее описанной для человека и приматов молодого возраста, отражающей физиологическую секрецию инсулина [Дедов И.И. и др., 2003; Гончарова Н.Д. и др., 2007; Goncharova N.D. et al., 2005]. Концентрация инсулина у молодых животных с DAB через 5 мин после введения экзогенной глюкозы была статистически значимо ниже по сравнению с аналогичным показателем в группе SB, в то время как в другие интервалы времени носила сходный характер в обеих группах. Динамика уровня С-пептида в плазме крови у молодых животных разных поведенческих групп также демонстрировала статистически значимые межгрупповые различия через 5 мин после введения экзогенной глюкозы с менее выраженным подъемом концентрации С-пептида у животных с DAB (рисунок 1), аналогичные таковым для инсулина. Таким образом, изменения концентрации инсулина и С-пептида в ответ на нагрузку экзогенной глюкозой у молодых животных с DAB носили сходный характер, отличный от динамики этих гормонов у животных с SB, демонстрируя нарушения раннего инсулинового ответа у данной группы

животных, что, по-видимому, обусловлено снижением чувствительности β -клеток поджелудочной железы к глюкозе.

Особенности функционирования островкового аппарата поджелудочной железы при старении у животных с SB

Концентрация глюкозы у старых животных в подгруппах с НМ и ИМ до нагрузки глюкозой была практически такой же, как и у молодых животных (таблица 1).

Таблица 1

Концентрация глюкозы в плазме периферической крови у молодых и старых самок макак резус с SB в ответ на введение стандартной дозы глюкозы ($M \pm m$)

Группа животных	Время после введения глюкозы, мин						Площадь ответа, ммоль/л×мин
	0	5	15	30	60	120	
Концентрация глюкозы, ммоль/л							
Молодые	3,8±0,3	8,3±0,5	6,5±0,5	4,5±0,4	3,9±0,4	3,6±0,3	650,0±40,0
Старые, НМ	3,7±0,2	9,9±0,4 ³⁾	7,8±0,3 ³⁾	6,4±0,6 ³⁾	5,4±0,6	3,6±0,2	790,0±40,0 ³⁾
Старые, ИМ	4,1±0,4	12,3±0,3 ^{2),5)}	9,6±1,2 ^{1),4)}	7,6±1,1 ⁴⁾	4,6±0,5	4,1±0,4	930,0±100,0 ⁴⁾

Примечание: ¹⁾ $p < 0,05$; ²⁾ $p < 0,01$ - достоверные межгрупповые различия у старых животных с ИМ и НМ; ³⁾ $p < 0,05$; ⁴⁾ $p < 0,01$; ⁵⁾ $p < 0,001$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных.

Как видно из представленных данных, в ответ на введение стандартной дозы глюкозы у старых животных вне зависимости от массы тела величина подъема концентрации глюкозы через 5, 15 и 30 мин была статистически значимо выше по сравнению с аналогичным подъемом уровня глюкозы у молодых животных. В тоже время подъем концентрации глюкозы у старых животных с ИМ через 5 мин был статистически значимо выше, чем у животных с НМ. Площадь под кривой изменения концентрации глюкозы в плазме крови от времени введения стандартной дозы глюкозы у старых животных, как с НМ, так и ИМ, статистически значимо превышала аналогичный показатель у молодых животных.

Скорость «исчезновения» экзогенной глюкозы из циркуляции в течение первых 5 мин после введения глюкозы у старых животных обеих подгрупп (НМ и ИМ) была значимо ниже по сравнению с аналогичным показателем у молодых животных с SB ($12,9 \pm 0,3$ %/мин у старых животных с НМ и $11,1 \pm 0,2$ %/мин у старых особей с ИМ по отношению к $14,2 \pm 0,2$ %/мин у молодых животных, $p < 0,01$).

Выявлено отсутствие статистически значимых возрастных различий в базальных концентрациях инсулина у старых животных с НМ при наличии значимых возрастных различий в базальной концентрации инсулина у старых животных с ИМ (таблица 2). В ответ на нагрузку глюкозой у старых животных с НМ наблюдался более выраженный подъем концентрации инсулина через 5 мин после инъекции стандартной дозы глюкозы, а у старых животных с ИМ – через 5, 15, 30, 60 и 120 мин по сравнению с молодыми животными. Площадь под кривой изменения концентрации инсулина от времени введения стандартной дозы глюкозы у старых животных с ИМ статистически значимо превышала аналогичный показатель у молодых животных и у старых животных с НМ.

Уровень С-пептида плазмы крови у старых животных в обеих подгруппах, как в базальных условиях, так и на всем протяжении глюкозотолерантного теста был значительно выше по сравнению с молодыми животными (таблица 2).

Таблица 2

Концентрация инсулина и С-пептида в плазме периферической крови у молодых и старых самок макак резус с SB в ответ на введение стандартной дозы глюкозы ($M \pm m$)

Группа животных	Время после введения глюкозы, мин						Площадь ответа, мкМЕ/мл \times мин
	0	5	15	30	60	120	
Концентрация инсулина, мкМЕ/мл							
Молодые	10 \pm 1	30 \pm 5	24 \pm 4	15 \pm 3	9 \pm 1	8 \pm 1	2100 \pm 240
Старые, НМ	12 \pm 1	44 \pm 4 ⁴⁾	29 \pm 2	14 \pm 1	12 \pm 2	10 \pm 1	2600 \pm 160
Старые, ИМ	25 \pm 6 ^{2),5)}	83 \pm 9 ^{2),6)}	120 \pm 26 ^{3),6)}	84 \pm 20 ^{3),6)}	47 \pm 11 ^{3),6)}	28 \pm 4 ^{3),6)}	8700 \pm 1400 ^{3),6)}
Концентрация С-пептида, мкМЕ/мл							
Молодые	22 \pm 2	50 \pm 6	35 \pm 5	34 \pm 8	28 \pm 10	14 \pm 4	4000 \pm 560
Старые, НМ	42 \pm 6 ⁴⁾	76 \pm 6 ⁴⁾	65 \pm 8 ⁴⁾	56 \pm 5 ⁴⁾	50 \pm 5 ⁴⁾	37 \pm 4 ⁵⁾	6800 \pm 560 ⁵⁾
Старые, ИМ	56 \pm 8 ⁵⁾	88 \pm 9 ⁵⁾	91 \pm 13 ⁵⁾	80 \pm 12 ^{1),4)}	75 \pm 14 ^{1),4)}	54 \pm 9 ⁵⁾	9330 \pm 1200 ^{1),5)}

Примечание: ¹⁾ $p < 0,05$; ²⁾ $p < 0,01$; ³⁾ $p < 0,001$ - достоверные межгрупповые различия у старых животных с ИМ и НМ; ⁴⁾ $p < 0,05$; ⁵⁾ $p < 0,01$; ⁶⁾ $p < 0,001$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных.

Площадь под кривыми изменений концентрации С-пептида в крови ответ на введение стандартной дозы глюкозы у старых животных в обеих подгруппах также была статистически значимо выше, чем у молодых животных. При этом площадь ответа С-пептида у старых животных с ИМ превышала аналогичный показатель в группе старых животных с НМ.

Представленные данные по динамике концентрации глюкозы, инсулина и С-пептида в ответ на введение стандартной дозы глюкозы указывают на понижение толерантности к глюкозе у старых животных (в первую очередь с ИМ), что обусловлено главным образом снижением чувствительности периферических тканей к инсулину. Полученные данные хорошо согласуются с результатами наших ранее опубликованных работ [Goncharova N.D. et al., 2005; Wagner J. D. et al., 2012], а также данными для человека [Дедов И.И., Шестакова М.В., 2003; Bryhni B. et al., 2010; DeFronzo R. A., 2009].

Особенности функционирования островкового аппарата поджелудочной железы при старении у животных с DAB

Результаты изменений концентрации глюкозы в плазме в условиях глюкозотолерантного теста у молодых и старых животных с DAB представлены в таблице 3. Динамика уровня глюкозы у старых животных с НМ и у молодых животных носила одинаковый характер. В тоже время у старых животных с ИМ в ответ на нагрузку глюкозой величина подъема концентрации глюкозы через 5, 15 и 30 мин была значимо выше по сравнению с аналогичным подъемом уровня глюкозы у молодых животных. Также у этой группы животных концентрация глюкозы через 5 мин после введения экзогенной глюкозы была существенно выше по сравнению со старыми особями с НМ. Площадь под кривой изменения концентрации глюкозы у старых животных с ИМ существенно превышала аналогичный показатель у молодых животных и не претерпевала выраженных возрастных изменений у старых особей с НМ.

Скорость «исчезновения» экзогенной глюкозы из циркуляции в течение первых 5 мин после введения глюкозы у старых животных с ИМ была значимо ниже по сравнению с аналогичным показателем у молодых животных ($10,5 \pm 0,3$ %/мин против $13,6 \pm 0,2$ %/мин соответственно, $p < 0,001$) и у старых особей с НМ ($10,5 \pm 0,3$ %/мин против $12,9 \pm 0,3$ %/мин соответственно, $p < 0,01$). В тоже время скорость «исчезновения» экзогенной глюкозы не претерпевала выраженных возрастных изменений у старых животных с НМ.

Таблица 3

Концентрация глюкозы в плазме периферической крови у молодых и старых самок макак резус с DAB в ответ на введение стандартной дозы глюкозы ($M \pm m$)

Группа животных	Время после введения глюкозы, мин						Площадь ответа, ммоль/л×мин
	0	5	15	30	60	120	
Концентрация глюкозы, ммоль/л							
Молодые	4,3±0,4	9,0±0,8	7,3±0,8	5,6±0,8	4,2±0,6	3,8±0,5	720,0±60,0
Старые, НМ	3,8±0,4	9,9±0,7	7,8±0,6	5,5±0,1	4,4±0,5	3,8±0,4	750,0±40,0
Старые, ИМ	4,3±0,5	13,7±0,5 ^{1,4)}	9,9±1,0 ²⁾	8,6±1,2 ³⁾	6,0±1,2	4,1±0,6	1000,0±100,0 ³⁾

Примечание: ¹⁾ $p < 0,05$ – достоверные межгрупповые различия у старых животных с ИМ и НМ; ²⁾ $p < 0,05$; ³⁾ $p < 0,01$; ⁴⁾ $p < 0,001$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных.

Базальные уровни инсулина у старых особей с НМ были существенно выше по сравнению с молодыми животными (таблица 4).

Таблица 4

Концентрация инсулина и С-пептида в плазме периферической крови у молодых и старых самок макак резус с DAB в ответ на введение стандартной дозы глюкозы ($M \pm m$)

Группа животных	Время после введения глюкозы, мин						Площадь ответа, мкМЕ/мл×мин
	0	5	15	30	60	120	
Концентрация инсулина, мкМЕ/мл							
Молодые	8±1	14±3	16±3	14±3	7±1	5±1	1400±200
Старые, НМ	19±2 ³⁾	48±6 ⁴⁾	28±6 ³⁾	13±3	13±3	9±1	2750±300 ³⁾
Старые, ИМ	10±2	30±4 ^{1,3)}	27±7	20±4	14±3 ²⁾	7±1	2400±260 ³⁾
Концентрация С-пептида, мкМЕ/мл							
Молодые	21±3	34±3	40±3	40±5	28±6	20±5	3900±420
Старые, НМ	53±4 ⁴⁾	88±4 ⁴⁾	98±36 ³⁾	46±10	56±8	34±6	8000±850 ⁴⁾
Старые, ИМ	32±9	49±8 ^{1,2)}	59±6 ³⁾	56±5	49±17	31±8	5900±1000 ²⁾

Примечание: ¹⁾ $p < 0,05$ – достоверные межгрупповые различия у старых животных с ИМ и НМ; ²⁾ $p < 0,05$; ³⁾ $p < 0,01$; ⁴⁾ $p < 0,001$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных.

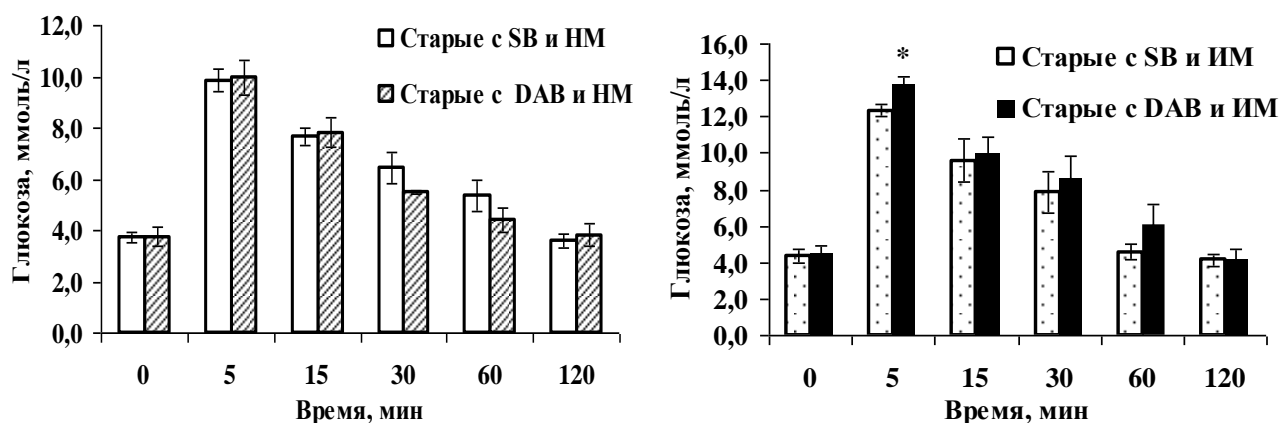
Статистически значимые возрастные изменения в концентрации инсулина отмечались у старых животных с НМ через 5 и 15 мин, а у животных с ИМ – через 5 и 60 мин после нагрузки глюкозой. Однако у старых животных с ИМ подъем уровня инсулина в точке 5 мин после нагрузки глюкозой был значимо ниже по сравнению со старыми особями с НМ. Площади под кривыми изменений концентрации инсулина у старых животных в обеих подгруппах были значимо выше, чем у молодых животных.

Сходные возрастные изменения претерпевала концентрация С-пептида в базальных условиях и при нагрузке глюкозой (таблица 4). Исходные уровни С-пептида у старых животных с НМ были достоверно выше, чем соответствующие значения у молодых животных. В ответ на углеводную нагрузку подъем концентрации С-пептида был статистически значимо выше по сравнению с молодыми животными через 5 и 15 мин после введения глюкозы в обеих подгруппах старых животных. Однако, как и в случае с инсулином, у старых животных с ИМ подъем уровня С-пептида в точке 5 мин после нагрузки глюкозой был значимо ниже по сравнению со старыми особями с НМ. Площади под кривыми изменений концентрации С-пептида в обеих подгруппах старых животных были существенно выше по сравнению с молодыми особями.

Таким образом, у старых животных с DAB, как и в случае старых животных со SB, отмечалось понижение толерантности к глюкозе, обусловленное развитием инсулинорезистентности периферических тканей с компенсаторным повышением уровня инсулина и С-пептида в плазме крови по сравнению с молодыми животными. Более выраженные возрастные изменения были характерны для старых животных с DAB и ИМ, у которых, в отличие от подгруппы с НМ, наблюдался самый высокий подъем глюкозы через 5 минут после нагрузки глюкозой и сниженные показатели инсулина и С-пептида в этой точке. Подобные изменения свидетельствуют об ослаблении процессов синтеза и секреции инсулина у старых животных с DAB и ИМ.

Особенности функционирования островкового аппарата поджелудочной железы у старых самок макак резус с DAB и SB

Базальная концентрация глюкозы у животных DAB в подгруппах с НМ и ИМ была практически такой же, как и у особей с SB соответствующих подгрупп (рисунок 2).



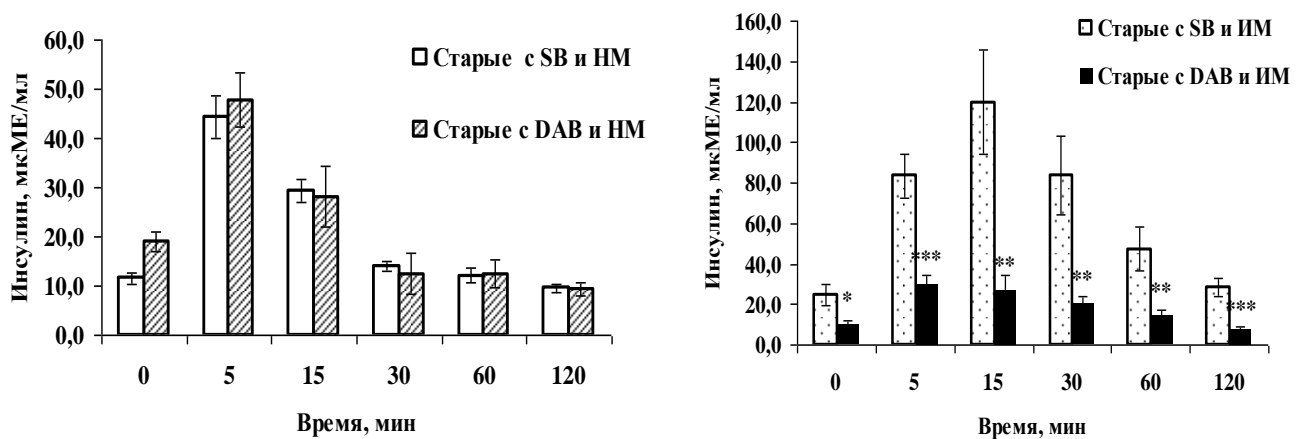
* $p < 0,05$ – значимые межгрупповые различия по отношению к соответствующим значениям у животных с SB и ИМ.

Рисунок 2. Динамика уровня глюкозы в условиях глюкозотолерантного теста у старых самок макак резус с DAB и SB ($M \pm m$).

Динамика уровня глюкозы у животных с DAB и НМ после нагрузки экзогенной глюкозой носила одинаковый характер с таковой у животных с SB и НМ. Однако, у старых животных DAB с ИМ в ответ на введение стандартной дозы глюкозы наблюдался более

выраженный подъем концентрации глюкозы по сравнению со старыми животными с SB и ИМ. Также, у старых особей с DAB и ИМ отмечалось статистически значимое понижение скорости «исчезновения» экзогенной глюкозы из циркуляции в течение первых 5 мин после введения глюкозы по сравнению с аналогичным показателем у старых животных с SB и ИМ ($10,5 \pm 0,3$ %/мин против $12,9 \pm 0,3$ %/мин соответственно, $p < 0,05$).

Как и в случае с глюкозой, базальные уровни инсулина, а также их динамика после нагрузки глюкозой у обезьян с DAB и ИМ носили сходный характер с соответствующими показателями у особей с SB и ИМ (рисунок 3). Однако базальная концентрация инсулина у животных с DAB и ИМ была существенно ниже по сравнению с аналогичным показателем у животных с SB и ИМ. Величина подъема концентрации инсулина у обезьян с DAB и ИМ через 5, 15, 30, 60 и 120 мин также была гораздо ниже по сравнению с животными со SB и ИМ. Площадь ответа инсулина у животных с DAB и ИМ также была значимо ниже аналогичного показателя у особей с SB и ИМ (2400 ± 260 мкМЕ/мл×мин против 8700 ± 1400 мкМЕ/мл×мин соответственно, $p < 0,001$). Динамика концентрации С-пептида у старых особей с нормальной массой тела независимо от поведения носила сходный характер. У животных с DAB и ИМ динамика С-пептида достигала значимых межгрупповых различий в точке 5 мин после нагрузки глюкозой по сравнению с аналогичным показателем у животных с SB и ИМ (49 ± 9 мкМЕ/мл против 88 ± 9 мкМЕ/мл соответственно, $p < 0,05$).



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – достоверные межгрупповые различия по отношению к соответствующим значениям у животных с SB и ИМ.

Рисунок 3. Динамика уровня инсулина в ответ на введение стандартной дозы глюкозы у старых самок макак резус с разным типом поведения ($M \pm m$).

Таким образом, максимальные межгрупповые различия в функционировании ОАПЖ были выявлены у старых животных с DAB и ИМ. Результаты настоящего исследования дают основание полагать, что в основе нарушенной толерантности к глюкозе у старых самок с ИМ и DAB, помимо инсулинорезистентности [Boccia M.L. et al., 1995; Goncharova N.D. et al., 2005] лежит ослабление процессов синтеза и секреции инсулина, по-видимому, вследствие истощения ОАПЖ.

Особенности метаболических изменений у молодых и старых самок макак резус с DAB и SB

Данные по содержанию общего холестерина и триглицеридов в крови – основных показателей липидного обмена, у молодых и старых животных с DAB и SB представлены в таблице 5. Как видно из приведенных данных, у старых особей с избытком массы с SB и DAB, наряду с дисфункцией ОАПЖ, отмечались нарушения липидного обмена. Так, максимальное повышение уровня триглицеридов в крови отмечалось у старых особей с SB и ИМ, что

ассоциировалось с развитием инсулинорезистентности периферических тканей и компенсаторной активностью ОАПЖ у данной группы животных.

Таблица 5

Концентрация общего холестерина и триглицеридов в плазме крови натошак у молодых и старых самок макак резус с DAB и SB ($M \pm m$)

Группа животных	Биохимические показатели	
	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
Самки макак резус с SB		
Молодые	3,5±0,2	0,5±0,1
Старые, НМ	4,1±0,4	0,6±0,1
Старые, ИМ	3,8±0,1	1,5±0,4 ^{2),4)}
Самки макак резус с DAB		
Молодые	4,3±0,4	0,4±0,1
Старые, НМ	4,1±0,3	0,9±0,2 ⁴⁾
Старые, ИМ	4,4±0,3	0,6±0,1 ^{1),3)}

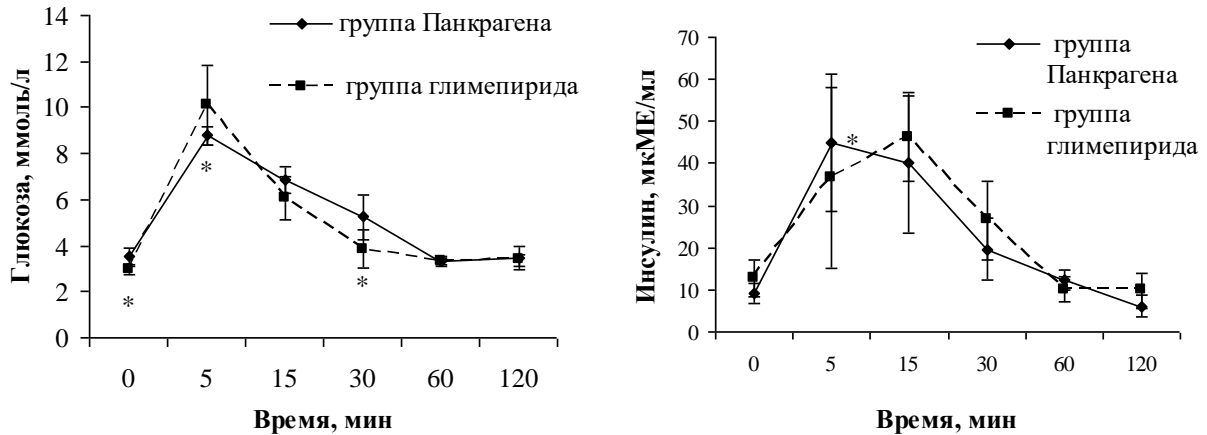
Примечание: ¹⁾ $p < 0,05$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у животных с SB; ²⁾ $p < 0,05$ - достоверные межгрупповые различия у старых животных с ИМ и НМ; ³⁾ $p < 0,05$; ⁴⁾ $p < 0,01$ - достоверные различия по отношению к соответствующим значениям у молодых животных.

У животных с DAB и ИМ, наоборот, отмечалось значимое снижение уровня триглицеридов по сравнению с особями с SB и ИМ, что коррелировало со снижением уровня инсулина у этих животных как в базальных условиях, так и в ответ на нагрузку глюкозой. Снижения уровня триглицеридов у старых животных с DAB и ИМ может способствовать у них нарушению адаптационных возможностей организма к различным стрессорным воздействиям окружающей среды.

Значимых индивидуальных и возрастных различий в концентрациях остальных биохимических показателей (АСТ, АЛТ, ГГТ, билирубина, креатинина, мочевины, альбумина и общего белка) у молодых и старых животных с DAB и SB выявлено не было, что свидетельствует о физическом здоровье экспериментальных животных.

Изучение эффективности и безопасности тетрапептида Панкрагена для коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы в сравнении с глимепиридом у старых самок макак резус

Оценка функции ОАПЖ в базальный период (до введения препаратов) выявила наличие возрастных изменений у всех старых животных, как в группе Панкрагена, так и в группе глимепирида. Введение стандартной дозы глюкозы старым животным сопровождалось снижением скорости «исчезновения» глюкозы, более высокими подъемами концентрации глюкозы, инсулина и С-пептида через 5 мин после введения глюкозы по сравнению с соответствующими значениями у молодых животных. Десятидневный курс Панкрагена (50 мкг/сутки на 1 животное, внутримышечно) приводил у большинства старых животных к снижению величины подъема концентрации глюкозы в плазме крови через 5 мин после введения стандартной дозы глюкозы (рисунок 4) и увеличению скорости «исчезновения» глюкозы из циркуляции до уровня, наблюдаемого у молодых животных ($13,6 \pm 0,2$ %/мин на фоне введения препарата против $12,1 \pm 0,5$ %/мин до его введения, $p < 0,05$).



* $p < 0,05$ – достоверные различия по отношению к соответствующим значениям до введения препарата.

Рисунок 4. Динамика уровня глюкозы и инсулина в условиях глюкозотолерантного теста у старых самок макак резус на 10-й день введения Панкрагена и глимепирида ($M \pm m$).

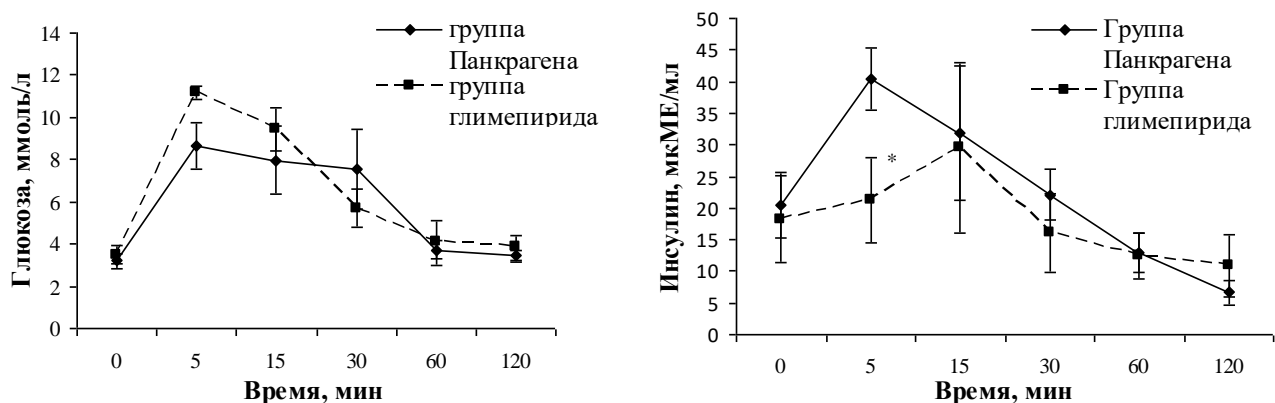
Курс глимепирида (4 мг/сутки на 1 животное, перорально) приводил к значимому снижению гликемии натощак у старых животных по отношению к исходным значениям (рисунок 4). Глимепирид оказывал более отсроченный гипогликемический эффект в сравнении с Панкрагеном, достигая выраженного снижения уровня глюкозы через 30 мин, не влияя на показатели через 5 и 15 мин. Соответственно, на фоне введения глимепирида не отмечалось существенного влияния на скорость «исчезновения» глюкозы в течение первых 5 мин.

Курс Панкрагена приводил к некоторому снижению исходного уровня инсулина, а также к статистически значимому снижению его концентрации через 5 мин и тенденции к снижению через 15 мин после введения стандартной дозы глюкозы (рисунок 4). На фоне введения Панкрагена также отмечалось значимое снижение концентрации С-пептида через 5 мин после введения стандартной дозы глюкозы (66 ± 7 мкМЕ/мл против 86 ± 6 мкМЕ/мл соответственно, $p < 0,05$). Таким образом, динамика концентрации глюкозы, инсулина и С-пептида в ответ на введение стандартной дозы глюкозы приобретала характер, сходный с реакцией островкового аппарата поджелудочной железы у молодых животных. Представленные результаты указывают на способность Панкрагена частично восстанавливать развивающуюся при физиологическом старении инсулинорезистентность.

Курс глимепирида в целом по группе не оказывал существенного влияния на уровень инсулина натощак (рисунок 4). Однако, отмечалась тенденция к незначительному увеличению концентрации инсулина через 15 и 30 мин после нагрузки глюкозой по сравнению с исходными показателями, что связано с отсроченным влиянием глимепирида на секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы. Курс глимепирида приводил к тенденции к повышению уровня С-пептида как натощак, так и через 5, 15 и 30 мин после введения стандартной дозы глюкозы, что, в дополнение к данным по динамике уровня инсулина у этих животных, свидетельствует об усилении секреции инсулина β -клетками ОАПЖ.

Эффект Панкрагена частично сохранялся и через 3 недели после его отмены: концентрация глюкозы в ответ на введение стандартной дозы глюкозы демонстрировала динамику, сходную с динамикой уровня глюкозы у этих животных на фоне введения препарата (рисунок 5). Скорость «исчезновения» глюкозы оставалась практически такой же, как и на фоне введения Панкрагена, и была статистически значимо выше по сравнению с аналогичным показателем в базальный период ($13,6 \pm 0,8$ против $12,1 \pm 0,5$ %/мин до введения Панкрагена, $p < 0,05$). Концентрация инсулина в крови после отмены Панкрагена через 5 и 15 мин в ответ на нагрузку глюкозой сохранялась более низкой по сравнению с исходными значениями у этих же животных и носила сходный характер с аналогичными показателями на фоне введения

препарата (рисунок 5). Концентрация С-пептида не только полностью восстанавливалась, но и несколько превышала аналогичные показатели у этих же животных в контрольный период.



* $p < 0,05$ – значимые различия по отношению к соответствующим значениям до введения препарата

Рисунок 5. Динамика уровня глюкозы и инсулина в условиях глюкозотолерантного теста у старых самок макак резус через 21 день после отмены Панкрагена и глимепирида ($M \pm m$).

После отмены глимепирида все изменения в базальном уровне глюкозы и ее динамике в условиях глюкозотолерантного теста нивелировались (рисунок 5). У старых животных после отмены глимепирида наблюдалось значимое снижение уровня инсулина через 5 мин после введения глюкозы по сравнению с аналогичными показателями у этих же животных до введения препарата, что в совокупности с высоким уровнем глюкозы (рисунок 5), свидетельствует об истощающем эффекте глимепирида на β -клетки поджелудочной железы. После отмены глимепирида концентрация С-пептида, как и в случае с инсулином, несколько снижалась натошак и через 5 и 15 мин после введения стандартной дозы глюкозы.

Таким образом, десятидневный курс Панкрагена приводил к восстановлению дисфункции ОАПЖ у старых животных с нормализацией уровня глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме крови. Эффект Панкрагена сохранялся и через 3 недели после его отмены. В то же время курс глимепирида оказывал более выраженный и отсроченный гипогликемический эффект за счет стимуляции секреции инсулина и С-пептида, что при его отмене приводило к снижению секреторной активности β -клеток островков Лангерганса. Влияние Панкрагена, в отличие от действия глимепирида, более физиологично и безопасно в условиях возрастных нарушений функции ОАПЖ.

При исследовании экстрапанкреатических эффектов Панкрагена выявлено, что данный препарат не оказывал существенного влияния на уровень ИФР-1, кортизола и ДГАС в крови у старых животных, что также может способствовать его безопасному применению у лиц пожилого возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований по изучению эндокринной функции поджелудочной железы у молодых и старых самок макак резус с разным типом адаптивного поведения позволили выявить ряд нарушений в функционировании ОАПЖ у животных с DAB по сравнению с особями с SB. Выявлены межгрупповые различия в функционировании ОАПЖ у молодых животных с DAB, которые характеризовались признаками нарушения раннего инсулинового ответа, обусловленного, по-видимому, снижением чувствительности β -клеток поджелудочной железы к нагрузке глюкозой.

При старении функция ОАПЖ повреждалась у всех животных, но характер ее изменений зависел как от принадлежности к той или иной поведенческой группе, так и от массы тела

животного. При старении у животных с SB отмечалось развитие относительной инсулинорезистентности периферических тканей, сопровождающейся нарушением толерантности к глюкозе и компенсаторным увеличением секреторной активности ОАПЖ, которые более выраженный характер носили у животных с ИМ. Возрастные нарушения функции ОАПЖ у животных с DAB и ИМ носили сходный характер с возрастными изменениями функции ОАПЖ у животных с SB и ИМ. В то же время, при старении у животных с DAB и ИМ выявлялось более значительное, чем у старых животных с SB и ИМ, максимальное повышение концентрации глюкозы, сопровождающееся минимальной скоростью «исчезновения» глюкозы из циркуляции и существенно более низкой, чем у животных с SB и ИМ, секрецией инсулина. Таким образом, возрастные нарушения функции ОАПЖ у приматов с SB и DAB носят однонаправленный характер с развитием инсулинорезистентности, ослаблением толерантности к глюкозе и компенсаторным повышением секреции инсулина, которые, однако, у старых животных с DAB и ИМ сопровождаются признаками истощения функции ОАПЖ, увеличивая риск развития СД 2 типа.

При старении у старых животных с избыточной массой тела с SB и DAB отмечались нарушения липидного обмена, которые у особей с SB и ИМ характеризовались повышением уровня триглицеридов в крови, что ассоциировалось у них с компенсаторной гиперинсулинемией. У старых приматов с DAB и ИМ, отмечалось значимое снижение уровня триглицеридов по сравнению с особями с SB и ИМ, что коррелировало со снижением секреции инсулина у этих животных.

Десятидневный курс Панкрагена приводил к восстановлению у старых животных нарушенной толерантности к глюкозе путем повышения чувствительности периферических тканей к инсулину и β -клеток поджелудочной железы к глюкозе, с нормализацией уровня глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме крови. Курс глимепирида приводил к стимуляции ОАПЖ и оказывал более выраженный и отсроченный гипогликемический эффект. В отличие от действия глимепирида, сбалансированное влияние Панкрагена более физиологично в условиях возрастных нарушений функции ОАПЖ. Таким образом, Панкраген продемонстрировал свою эффективность в случае возрастного дисбаланса эндокринной функции поджелудочной железы и безопасность относительно гипогликемических состояний, что позволяет его рекомендовать при нарушенной толерантности к глюкозе у лиц пожилого возраста.

Панкраген не оказывал существенного влияния на уровень ИФР-1, кортизола и адреналовых андрогенов в крови у старых животных, что также может способствовать его безопасному применению у лиц пожилого возраста.

ВЫВОДЫ

1. У молодых животных с DAB отмечается ряд межгрупповых различий в функционировании ОАПЖ, которые характеризуются признаками нарушения раннего инсулинового ответа, обусловленного, по-видимому, снижением чувствительности β -клеток поджелудочной железы к нагрузке глюкозой.

2. При старении отмечается повреждение функции ОАПЖ у всех животных, но характер ее изменений зависит от принадлежности к той или иной поведенческой группе и от массы тела животного.

3. У старых животных с SB отмечается развитие относительной инсулинорезистентности периферических тканей, сопровождающейся нарушением толерантности к глюкозе и компенсаторным увеличением секреторной активности ОАПЖ, которые носят более выраженный характер у животных с ИМ.

4. При старении у животных с DAB и ИМ отмечается более значительное, чем у старых животных с SB и ИМ, максимальное повышение концентрации глюкозы, сопровождающееся минимальной скоростью «исчезновения» глюкозы из циркуляции и существенно более низкой секрецией инсулина.

5. У старых приматов с SB и ИМ наряду с компенсаторной гиперинсулинемией отмечается повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови. В то же время для старых животных с DAB и ИМ характерно существенное снижение уровня триглицеридов по сравнению с особями с SB и ИМ, что коррелирует со снижением секреции инсулина у этих животных.

6. Более выраженные и ранние проявления дисфункции ОАПЖ и метаболические нарушения у самок макак резус с DAB делают индивидов с данной моделью поведения уязвимыми к процессам преждевременного и/или ускоренного старения и повышенному риску развития СД 2 типа. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике для разработки индивидуального подхода в лечении и профилактике СД 2 типа.

7. Десятидневный инъекционный курс тетрапептида Панкрагена (50 мкг/сутки на 1 животное) приводит к восстановлению у старых обезьян нарушенной толерантности к глюкозе с нормализацией уровня глюкозы, инсулина и С-пептида в плазме крови. Действие Панкрагена, по сравнению с глимепиридом, более сбалансировано и физиологично, что делает препарат безопасным в отношении риска возникновения состояний гипогликемии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Данные о наличии и характере возрастных изменений эндокринной функции поджелудочной железы у лабораторных приматов (общепризнанной оптимальной трансляционной животной модели) с разными типами адаптивного поведения могут использоваться для изучения особенностей процессов старения у человека. Результаты работы могут использоваться в лекционном курсе по теме «Физиология стареющего организма» при преподавании соответствующих дисциплин в медицинских вузах.

2. При разработке индивидуального подхода в лечении и профилактике СД 2, следует учитывать различия в функционировании ОАПЖ в зависимости от особенностей высшей нервной деятельности индивидов (в частности, от особенностей поведения в условиях мягкого/умеренного стресса).

3. Рекомендовано курсовое применение тетрапептида Панкрагена (50 мкг/сутки на 1 животное) для коррекции возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы у старых приматов, а также при нарушенной толерантности к глюкозе и СД 2 типа у лиц пожилого возраста.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК и включенных в перечень Scopus

1. Влияние тетрапептида Панкрагена на эндокринную функцию поджелудочной железы / Н.Д. Гончарова, Л.Г. Иванова, Т.Э. Оганян, А.А. Венгерин, В.Х. Хавинсон // Успехи геронтологии. - 2014. - Т. 27. - № 4. - С. 662 – 667.

2. Коррекция тетрапептидом Панкрагеном нарушенной толерантности к глюкозе у старых самок макак резус / Н.Д. Гончарова, Л.Г. Иванова, Т.Э. Оганян, А.А. Венгерин, В.Х. Хавинсон // Успехи геронтологии. - 2015. - Т. 28. - №3. – С. 579 – 585.

3. Особенности эндокринной функции поджелудочной железы при старении у приматов, различающихся по адаптивному поведению / Н.Д. Гончарова, Л.Г. Иванова, Т.Э. Оганян, [А.А. Венгерин] // Успехи геронтологии. - 2019. - Т. 32. - №3. - С. 316 – 324.

Features of Endocrine Function of the Pancreas with Aging in Nonhuman Primates with Various Types of Adaptive Behavior/ N.D. Goncharova , L.G. Ivanova, T.E. Oganyan, [A. A. Vengerin] // Advances in Gerontology. – 2019. - Vol. 9. - No. 4. - P. 389–395.

Статьи в других журналах

4. Tetrapeptide pancragen restore the age-related disturbances in endocrine unction of the pancreas [Электронный ресурс] / N.D. Goncharova, L.G. Ivanova, T.E. Oganyan, V. Kh. Khavinson // Journal of Endocrinology and Diabetes Research. - 2016. - Vol. 2 (1):100109.

5. Эффективность тетрапептида Панкрагена в условиях нарушенной толерантности к глюкозе в эксперименте на лабораторных приматах / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова // Материалы четвертой международной конференции «Физическая культура, спорт, здоровье и долголетие», посвященной 100-летию Южного федерального университета. – Ростов-на-Дону. - 2015. – С. 71-77.

6. Нарушения эндокринной функции поджелудочной железы у старых обезьян и их коррекция / Л.Г. Иванова, Т.Э. Оганян, Н.Д. Гончарова // Материалы третьей международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской приматологии». – Сочи. – 2016. - С. 201 – 207.

7. Дисфункция островкового аппарата поджелудочной железы при старении у приматов с тревожным и депрессивно-подобным поведением / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, Т.Э. Оганян, Н.В. Тимошенко // Материалы международной научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине и биологии». – Сочи. – 2019. – С. 26-32.

Тезисы докладов

8. Изучение эффективности препарата Панкрагена при коррекции возрастных нарушений гормональной функции поджелудочной железы у самок макак резус/ Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон, Л.Г. Иванова // Каталог международного форума «Старшее поколение». – СПб. – 2013. – С. 69-70.

9. Изучение влияния Панкрагена на гормональную функцию поджелудочной железы у приматов / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон // Материалы 1 международной научно-практической конференции «Фармакология, фармацевтическая технология и фармакотерапия в обеспечении активного долголетия». - Киев. – 2013. - С. 19-20.

10. Изучение эффективности препарата Панкрагена при коррекции возрастных нарушений гормональной функции поджелудочной железы у приматов в сравнении с глемазом / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике». – Киев. – 2013. – С. 30-31.

11. Оценка эффективности препарата Панкрагена для профилактики возрастных нарушений гормональной функции поджелудочной железы на модели лабораторных приматов / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон // Материалы международной научно-практической конференции «Современное образование, физическая культура, спорт, туризм, рекреация и здоровье». – Сочи. – 2013. – с. 33.

12. Восстанавливающий эффект Панкрагена при нарушенной толерантности к глюкозе у старых самок макак резус / Н.Д. Гончарова, Л.Г. Иванова, А.А. Венгерин, Т.Э. Оганян, В.Х. Хавинсон // Материалы научной конференции «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии», посвященной 20-летию со дня основания геронтологического общества при Российской академии наук, г. Санкт-Петербург. - Успехи геронтологии. – 2014. - Т. - №2 приложение. - С. 37-38.

13. Исследование влияния тетрапептида Панкрагена на нарушенную толерантность к глюкозе у старых самок макак резус в сравнении с глимепиридом/ Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон // Сборник научных работ X научно-практической геронтологической конференции «Пушковские чтения. Актуальные вопросы геронтологии и гериатрии: болевые синдромы в гериатрической практике». - Под редакцией А.Л. Арьева, Е.Г. Зоткина, Т.К. Кудрявцевой. – СПб. - 2014. - С. 71-72.

14. Особенности эндокринной функции поджелудочной железы у индивидов, различающихся по адаптивному поведению / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, Т.Э. Оганян // Материалы научной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» г.

Ставрополь. - Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2018. - Т. - №26. - С. 62.

15. Дисфункция островкового аппарата поджелудочной железы в разные возрастные периоды у приматов с тревожным и депрессивно-подобным поведением/Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова, Т.Э. Оганян// Материалы VIII Российского научно-практического конгресса «Метаболический синдром. Фундаментальные и клинические аспекты – от теории к практике».- СПб. - 2018. - С.16-17.

16. Особенности возрастных нарушений эндокринной функции поджелудочной железы у приматов с тревожным и депрессивно-подобным поведением / Л.Г. Иванова, Н.Д. Гончарова // Материалы VIII (XXVI) Национального конгресса эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение». – Москва. – 2019. – С. 644-645.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ	Адренкортикотропный гормон, кортикотропин
АЛТ	Аланин-аминотрансфераза
АСТ	Аспартат – аминотрансфераза
АФСЗ	Антиоксидантная ферментная система защиты клетки
ВНД	Высшая нервная деятельность
ГГАС	Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система
ДГАС	Дегидроэпиандростерон сульфат
ИФР-1	Инсулиноподобный фактор роста - 1
ОАПЖ	Островковый аппарат поджелудочной железы
ДАВ	Депрессивно-подобное и тревожное адаптивное поведение
SB	Стандартное адаптивное поведение

УКАЗАТЕЛЬ ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аметов А.С. Инсулиносекретия и инсулинорезистентность: две стороны одной медали // Проблемы эндокринологии. 2002. Т. 48, №3. С. 31–37; *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения // СПб.: Наука, 2008; *Булгакова С.В. и др.* Геронтология и гериатрия в самарской области: прошлое, настоящее, будущее // Успехи геронтологии. 2018. Т. 31. № 6. С. 838-845; *Виноградова И.А.* Влияние светового режима на развитие метаболического синдрома у крыс в процессе старения // Успехи геронтологии. 2007. Т. 20. №2. С. 70-75; *Всемирная организация здравоохранения.* Курс обучения по оценке роста ребенка. – Женева.: ВОЗ, 2008. – 56 с.; *Выгодский М.Я.* Справочник по высшей математике. М.: Государственное издательство физической и математической литературы, 1962; *Гончарова Н.Д.* Гормональная регуляция надпочечных желез у человека и обезьян при гемобластозах и в процессе старения // БЭБиМ. - 1997а. Т.124. № 8. С.207-210; *Гончарова Н.Д.* Гормональная функция надпочечников и половых желез у человека и обезьян в процессе старения // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1997б. Т.33. № 1. С.44-50; *Гончарова Н.Д. и др.* Возрастные нарушения эндокринных функций и возможные пути их коррекции // БЭБиМ. 2002. Т.134. №11. С.484-489; *Гончарова Н.Д., Лапин Б.А.* Адреналовые андрогены: возрастные особенности синтеза и регуляции продукции у человека и обезьян // Вестник РАМН. 2005. № 8. С. 44-50; *Гончарова Н.Д. и др.* Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). СПб.: Наука, 2007; *Гончарова Н.Д., Маренин В.Ю.* Возрастные изменения функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы у индивидов с различным типом адаптивного поведения // Успехи геронтологии. 2009. Т. 122. № 4. С. 614-621; *Дедов И.И., Шестакова М.В.* Сахарный диабет. М.: Универсум Паблишинг, 2003; *Дедов И.И., Шестакова М.В.* Сахарный диабет в пожилом возрасте. М.: 2011; *Ильницкий А.Н. и др.* Превентивная гериатрия, или антивозрастная медицина // Успехи геронтологии. 2015. Т.28, №3. С. 589-592; *Кветной И.М. и др.* Влияние тетрапептида панкреатина на функциональную морфологию поджелудочной железы крыс в условиях

экспериментального сахарного диабета // БЭБиМ. 2007. Т.143, № 3. С. 340–343; *Коркушко О.В. и др.* Перспективы применения панкреатина для коррекции метаболических нарушений у людей пожилого возраста // БЭБиМ. 2011. Т. 151, № 4. С. 436–438; *Лапин Б. А. и др.* Руководство по медицинской приматологии // Москва «Медицина» - 1987. – 192 с; *Процаев К.И. и др.* Мелатонин и его роль в нейроиммуноэндокринных механизмах формирования полиморбидности при метаболическом синдроме, ассоциированном с климаксом // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2014. Т. 16. №1. С. 72-75; *Старостина Е.Г. и др.* Депрессия и сахарный диабет как коморбидные заболевания // РМЖ. 2017. №22. С. 1613–1620; *Тарновская С.И. и др.* Исследование взаимодействия тетрапептидов с ДНК методами молекулярной механики // БЭБиМ. 2005. Т. 156, №11. С. 637-641; *Хавинсон В.Х.* Влияние тетрапептида на биосинтез инсулина у крыс аллоксановым диабетом // БЭБиМ. 2005. Т. 140, № 10. С. 453–456; *Хавинсон В.Х. и др.* Тетрапептид стимулирует функциональную активность клеток поджелудочной железы при старении // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, №4. С. 680–684; *Abbatecola A.M. et al.* Post-prandial plasma glucose excursions and cognitive functioning in aged type 2 diabetics // *Neurology*. 2006. V. 67(2). P. 235-240; *Boccia M.L. et al.* Individual differences in Macaques responses to stressors based on social and physiological factors: implications for primates welfare and research outcomes // *Lab Anim*. 1995. V. 29. P. 250-257; *Bryhni B. et al.* Associations of age with serum insulin, proinsulin and the proinsulin-to-insulin ratio: a cross-sectional study // *BMC Endocr. Disord*. 2010. V. 10. Article 21. doi:10.1186/1472-6823-10-21; *Colman R.J.* Non-human primates as a model for aging / R.J.// *Biochim. Biophys. Acta*. 2018. Vol. 1864(9 Pt A). P. 2733–2741; *DeFronzo R. A.* From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus // *Diabetes*. 2009. V. 58 (4). P. 773–795; *Didier E. S.* Contributions of Nonhuman Primates to Research on Aging // *Vet. Pathol*. 2016. Vol. 53. N 2. P. 277–290; *Fridman E. P., Nadler R. D.* Medical Primatology: History, Biological Foundations and Applications // New York: CRC Press, 2019 – P. 392; *Golden S.H. et al.* Examining a bidirectional association between depressive symptoms and diabetes // *JAMA*. 2008. V. 229. P. 2751–2759; *Goncharova N.D. et al.* Pineal peptides restore the age-related disturbances in hormonal functions of the pineal gland and the pancreas // *Exp. Gerontol*. 2005. V. 40. P. 51–57; *Goncharova N.D.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and antioxidant enzymes: Circadian rhythms, stress, and aging // *Front Neuroendocrinol*. 2006. V. 27 (1). P. 52-54; *Goncharova N.D. et al.* Aging of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in nonhuman primates with depression-like and aggressive behavior // *Aging (Albany, N.Y.)*. 2010. V. 2 (11). P. 854-866; *Goncharova N.D. et al.* Age-related changes in the reliability of antioxidant enzyme defense in monkeys with different types of adaptive behavior // *Current Aging Science*. 2013. V. 6 (2). P. 163-169; *Goncharova N.D. et al.* Individual differences in stress responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and its vasopressinergic regulation in old monkeys // *Journal of Behavioral and Brain Science*. 2015. №5. P. 280-294; *Goncharova N.D., Oganyan T.E.* Age-related differences in stress responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of nonhuman primates with various types of adaptive behavior // *General and Comparative Endocrinology*. 2018. V. 258. P.163-172; *Goncharova N.D. et al.* Glucocorticoid Negative Feedback in Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Rhesus Monkeys With Various Types of Adaptive Behavior: Individual and Age-Related Differences // *Front. Endocrinol*. 2019. V. 10. Art. 24; *Harwood H.J. et al.* Nonhuman Primates and Other Animal Models in Diabetes Research // *J. Diabetes Sci. Technol*. 2012. V. 6 (3). P. 503–514; *Havel P. J.* Use and Importance of Nonhuman Primates in Metabolic Disease Research: Current State of the Field // *ILAR J*. 2017. Vol. 58. N 2. P. 251-268; International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas, 6th edn.* Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2018. <http://www.idf.org/diabetesatlas>; *Kahl K.G. et al.* Depression, anxiety disorders, and metabolic syndrome in a population at risk for type 2 diabetes mellitus // *Brain Behav*. 2015. V. 5 (3). P. 300–306; *Khavinson V. Kh.* Tetrapeptide regulating blood glucose level in diabetes mellitus: US Patent N 7,491,703 17.02. 2009; *Knol M. J. et al.* Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2006. Vol. 49. P. 837–845; *Lloyd C.E. et al.* The epidemiology of depression and diabetes. In: *Katon W., May M., Sartorius N.* Depression and diabetes // Wiley-Blackwell. 2010. P. 1-28; *Machado C.J. et al.* The impact of selective amygdala, orbital frontal cortex,

or hippocampal formation lesion on established social relationships in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) // *Behav. Neuroscience*. 2006. V. 120. P. 761–786; *McKinney W.T. et al.* Neurobiology and mood disorders, in: Post, R., Ballenger, J. (Eds.). *Separation in Non-human Primates as a Model for Human Depression: Neurobiological Implications* // Williams and Wilkins. 1984. P. 393-406; *Nascimento E.R. et al.* The role of depression on glycemic control // *J. Endocrinol. Metab.* 2014. Vol. 4. P. 119-120; *Simmons H. A.* Age-Associated Pathology in Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*) // *Vet Pathol.* 2016. Vol. 53. N 2. P. 399–416; *Takeshita R.* Stress-relieving Effect of Hot Spring Baths in Macaques // *Brain Nerve*. 2019. Vol. 71(5). P. 517-524; *Wagner J. D. et al.* Diabetes and obesity research using nonhuman primates // *Nonhuman primates in biomedical research*, 2nd edn. 2012. V. 2. P. 699–732.