



*Российская Академия Наук*

Отделение медицинских наук  
Отделение физиологических наук

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И. П. ПАВЛОВА

---

ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

---

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ИНСТИТУТ  
БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ

В.Х. Хавинсон

V.Kh. Khavinson

**ПЕПТИДЫ, ГЕНОМ, СТАРЕНИЕ**

**PEPTIDES, GENOME, AGING**



Москва  
2020

УДК 577.21  
ББК 28.04  
X12

Рецензенты:  
*академик РАН А.В. Караулов*  
*академик РАН А.Д. Ноздрачев*  
*член-корреспондент РАН В.С. Баранов*

**В.Х. Хавинсон. Пептиды, геном, старение.** М.: РАН. – 2020 – 58 с.: 33 ил.

ISBN 978-5-907036-84-0

В монографии обобщены результаты многолетних исследований автора и коллектива Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, посвященные изучению биологической активности пептидных биорегуляторов на всех уровнях организации живой природы (молекулярно-генетический, клеточный, тканевый, органный, организменный). Приводятся данные по оценке эффективности пептидов, полученные с использованием современных методов в научных учреждениях России, США, Великобритании, Германии, Италии, Испании, Франции. Анализ результатов 45-летних научных исследований на различных видах организмов позволил сделать вывод о едином механизме пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе. Установлено, что короткие пептиды у бактерий, растений, земноводных, насекомых, птиц, грызунов, обезьян и человека специфически регулируют экспрессию генов и синтез белков. Это сопровождается нормализацией функций организма, снижением частоты возникновения опухолей и увеличением продолжительности жизни.

Монография представляет интерес для специалистов в области медицины, молекулярной биологии, генетики, биофизики и химии.

**Abstract.** The monograph summarizes the results of long-term author's investigation at the St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology. It focuses on the biological activity of peptide bioregulators on molecular, cellular, tissue and organism levels of the live matter. The data on peptide biological activity obtained by the cutting edge methods at the research institutions in Russia, USA, Great Britain, Germany, Italy, Spain and France are described. A profound analysis of the 45-year long research in peptides used in different species brought us to a conclusion about a common mechanism of peptide regulation of gene expression and protein biosynthesis. Short peptides are able to penetrate into cell and its nucleus. Complementary interaction of short peptides with gene promoter regions seems to be a transcription regulatory signal. These peptide-DNA interactions stimulate functioning of various organs and increase organism resource up to species limit. Investigated short peptides caused similar specific changes in gene transcription in bacteria, plants, insects, amphibians, birds, rodents, mammals, monkeys and humans. It was accompanied by a decreased tumor incidence and increased lifespan. The book can be interesting for a wide circle of readers: doctors of medicine, molecular biologists, geneticists, biophysicists, chemists.

ISBN 978-5-907036-84-0

© Хавинсон В.Х., 2020

***Посвящается светлой памяти***

*моего друга и основного соавтора профессора Морозова В.Г.,  
а также оказавших неоценимую помощь и принявших участие  
в создании и развитии пептидного проекта на разных его этапах  
академиков Ашмарина И.П., Бехтеревой Н.П., Вишневого А.А.,  
Напалкова Н.П., Ткаченко Б.И., Чеботарева Д.Ф.,  
профессоров Баллюзек Ф.В., Дильмана В.М., Лопашова Г.В.,  
Миртова А.В.*

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	6
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	8
<b>ОТКРЫТИЕ ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ</b> .....	11
<b>ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НА УРОВНЕ ЦЕЛОГО ОРГАНИЗМА</b> .....	14
<b>ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НА УРОВНЕ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР</b> .....	19
<b>ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ – МАРКЕРОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ, АПОПТОЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК</b> .....	21
<b>ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ</b> .....	25
<b>ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ У ОБЕЗЬЯН</b> .....	36
<b>ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ У ЛЮДЕЙ</b> .....	38
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	45
<b>БЛАГОДАРНОСТИ</b> .....	48
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	49

## CONTENTS

<b>LIST OF ABBREVIATIONS .....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>8</b>
<b>DISCOVERY OF THE PEPTIDE REGULATION OF AGEING .....</b>	<b>11</b>
<b>PEPTIDE REGULATION AT THE ORGANISM LEVEL .....</b>	<b>14</b>
<b>PEPTIDE REGULATION AT THE LEVEL OF CELL STRUCTURES .....</b>	<b>19</b>
<b>PEPTIDE REGULATION OF THE PROTEIN SYNTHESIS – MARKERS OF DIFFERENTIATION, PROLIFERATION, APOPTOSIS AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF CELLS .....</b>	<b>21</b>
<b>PEPTIDE REGULATION OF GENE EXPRESSION .....</b>	<b>25</b>
<b>APPLICATION OF PEPTIDE BIOREGULATORS IN MONKEYS .....</b>	<b>36</b>
<b>APPLICATION OF PEPTIDE BIOREGULATORS IN HUMANS .....</b>	<b>38</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>45</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENT .....</b>	<b>48</b>
<b>LIST OF REFERENCES .....</b>	<b>49</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА	Болезнь Альцгеймера
БХ	Болезнь Хантингтона
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
кДНК	Комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
мРНК	Матричная рибонуклеиновая кислота
НДЗ	Нейродегенеративные заболевания
ОРЗ	Острые респираторные заболевания
РБТЛ	Реакция бласттрансформации лимфоцитов
РНК	Рибонуклеиновая кислота
СПЖ	Средняя продолжительность жизни
ССС	Сердечно-сосудистая система
УФ	Ультрафиолет
ФГА	Фитогемагглютинин
ЦНС	Центральная нервная система
ААНАТ	Арилалкиламин - N-ацетилтрансфераза (Aralkylamine N-acetyltransferase)
АЕD	Ala-Glu-Asp, Каргалакс
АЕDГ	Ala-Glu-Asp-Gly, Эпиталон
АЕDЛ	Ala-Glu-Asp-Leu, Бронхоген
АЕDР	Ala-Glu-Asp-Pro, Кортаген
АЕDР	Ala-Glu-Asp-Arg, Кардиоген
Аβ42	Бета-амилоидный пептид из 42 аминокислотных остатков
СD	Кластер дифференцировки (Cluster of differentiation)
СРР	Пептиды, проникающие в клетку (Cell-penetrating peptides)
ЕDГ	Glu-Asp-Gly, Хонлутен
ЕDЛ	Glu-Asp-Leu, Оваген
ЕDР	Glu-Asp-Pro, Кристаген
ЕDР	Glu-Asp-Arg, Пинеалон
ЕW	Glu-Trp, Тимоген
FITC	Изоотиоцианат флуоресцеина (Fluorescein isothiocyanate)

hPDLSCs	Стволовые клетки периодонтальной связки человека (Human periodontal ligament stem cells)
KE	Lys-Glu, Вилон
KED	Lys-Glu-Asp, Везуген
KEDA	Lys-Glu-Asp-Ala, Ливаген
KEDG	Lys-Glu-Asp-Gly, Тестаген
KEDP	Lys-Glu-Asp-Pro, Простамакс
KEDW	Lys-Glu-Asp-Trp, Панкраген
MMP	Матриксные металлопротеиназы (Matrix metalloproteinases)
SRM	Селективный мониторинг реакций (Selected reaction monitoring)

## ВВЕДЕНИЕ

Старение – самая сложная проблема биологии и медицины. Процесс старения – это постепенная инволюция органов и тканей и, как следствие, нарушение функций организма. Симптомы старости появляются уже в конце репродуктивного периода и становятся более интенсивными по мере старения.

В конце XIX века И.И. Мечников показал, что повышение клеточного иммунитета способствует увеличению продолжительности жизни. Он разработал фагоцитарную теорию иммунитета и считал, что в самом организме человека заложены возможности, позволяющие успешно бороться с патологической старостью [125]. В 1908 г. И.И. Мечников был удостоен Нобелевской премии по физиологии или медицине совместно с П. Эрлихом. Через столетие П. Догерти и Р. Цинкернагель выполнили детальные исследования специфичности клеточного иммунитета при вирусной инфекции (Нобелевская премия по физиологии или медицине в 1996 г.) [29].

Д. Уотсон и Ф. Крик совместно с М. Уилкинсоном получили Нобелевскую премию по физиологии или медицине в 1962 г. «за открытие молекулярной структуры нуклеиновых кислот и ее значение в передаче информации в живой материи».

В 1961 г. Ф. Жакоб и Ж. Моно предложили модель генетической регуляции белкового синтеза при участии низкомолекулярного лиганда, который вытесняет репрессор и вызывает аллостерический конформационный переход в структуре ДНК в бактериальной клетке [101]. Они получили Нобелевскую премию по физиологии или медицине в 1965 г. совместно с А. Львовым [29].

В результате многолетней работы М. Ниренберг и Г. Корана расшифровали генетический код и смогли определить кодоны (триплеты нуклеотидов) для каждой из двадцати аминокислот (Нобелевская премия по физиологии или медицине в 1968 г. совместно с Р. Холли) [29].

Фундаментальные исследования биохимии нуклеиновых кислот и определение последовательности оснований в РНК и ДНК были выполнены в 60 – 70 годы XX столетия П. Бергом, У. Гильбертом и Ф. Сэнджером (Нобелевская премия по химии в 1980 г.).

Экспериментальные и клинические исследования в геронтологии показали, что иммунная защита организма является первой системной функцией, которая нарушается при старении [84, 99]. Б. Бётлер, Ж. Хоффман и Р. Стайнман также указывали на ключевую роль активации врожденного иммунитета в терапии иммунопатологии и онкологических заболеваний (Нобелевская премия по физиологии или медицине в 2011 г.). Пептидные экстракты, выделенные из тимуса, были первыми препаратами, предложенными для коррекции иммунодефицитного состояния [83, 96].

Следует отметить, что иммунотерапия обладает рядом преимуществ, в том числе и при лечении инфекционных заболеваний. Так, например, мура-



милпептиды действуют на врожденные звенья иммунного ответа, которые способны предотвращать избыточные воспалительные реакции [13].

Происхождение пула коротких регуляторных пептидов в организме стало очевидным после открытия А. Чихановером, А. Гершко и И. Роузом убиквитин-опосредованной деградации белков в протеосомах (Нобелевская премия по химии в 2004 г.). В их работах было показано, что короткие пептиды играют важную роль в передаче биологической информации, как например, аутокринные гормоны и нейропептиды. Один высокомолекулярный белок может быть гидролизован различными путями, что приводит к возникновению нескольких коротких пептидов. Этот механизм приводит к появлению пептидов, несущих различные биологические функции по сравнению с исходной макромолекулой [100]. В работах американских математиков С. Карлина и С. Альтшуля было показано, что в макромолекулах белков имеется несколько типов повторяющихся блоков аминокислотных остатков с заряженными боковыми группами. Наибольшее количество таких блоков содержится в ядерных белках: факторах транскрипции, белках центромеров и группе белков высокой подвижности [104]. Протеосомный гидролиз этих белков в ядре может обеспечить присутствие достаточного набора пептидов с заряженными боковыми группами. Ф. Арнольд, Дж. Смит и Г. Уинтер разработали метод получения белков и пептидов с высокой биологической активностью, основанных на имитации естественного пути биологической эволюции (Нобелевская премия по химии в 2018 г.), что указывает на важную физиологическую роль пептидов и перспективу создания лекарственных препаратов на их основе.

При старении, кроме подавления иммунитета, наблюдается снижение мелатонинообразующей функции эпифиза – регулятора циркадных ритмов. Эти и другие возрастные изменения наблюдаются и на клеточном уровне. Так, Дж. Холл, М. Розбаш и М. Янг открыли молекулярный механизм регуляции циркадных ритмов (Нобелевская премия по физиологии или медицине в 2017 г.). Известно, что внутренняя структура клеточного ядра также изменяется в процессе старения. ДНК-белковый комплекс клеточного ядра (хроматин) самоорганизуется в хромосомы только при клеточном делении. В стационарном состоянии хроматин существует в двух разновидностях: эухроматин и гетерохроматин [120]. Гетерохроматин обычно локализован на периферии ядра и содержит в целом неактивную часть генома: гены, блокированные репрессорами. Соотношение эухроматин/гетерохроматин меняется при старении за счёт уменьшения содержания активного эухроматина, что определяет снижение синтеза белка в клетке [121]. Э. Блэкберн, К. Грейдер и Дж. Шостак установили, что теломеры и фермент теломераза защищают хромосомы от повреждения, что является важнейшим фактором, определяющим темп старения на клеточном уровне. (Нобелевская премия по физиологии или медицине в 2009 г.).

Таким образом, старение организма имеет много уровней дисфункции и может быть классифицировано как системный синдром. Результаты коррекции иммунодефицитов с помощью эндогенных регуляторных пептидов указывали на необходимость дальнейшего расширения исследований [96] и поиска возможного единого механизма регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе.

В монографии сделан обзор многолетних исследований эффективности пептидов и анализ механизма их действия.

## ОТКРЫТИЕ ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ

Известно, что видовой предел продолжительности жизни животных и человека примерно на 30-40% превышает среднюю длительность жизни. Это связано с воздействием на организм различных неблагоприятных факторов, которые приводят к изменению экспрессии и структуры генов, что сопровождается нарушением синтеза белков и снижением функций организма (рис. 1) [1, 43, 46].



**Рис. 1.** Видовая продолжительность жизни человека и его биологический резерв [40].

Видовой предел жизни человека – 105–120 лет

Современная медико-демографическая ситуация в России характеризуется высокой преждевременной смертностью, уменьшением рождаемости, снижением средней продолжительности жизни, что в сочетании с ростом числа лиц пожилого и старческого возраста ведет к депопуляции населения и дефициту трудового потенциала [1, 66, 110].

В последнее десятилетие достижения в теоретической и прикладной геронтологии позволили осуществлять целенаправленную регуляцию возрастных изменений. Исходя из этого, одной из приоритетных задач современной геронтологии является профилактика ускоренного старения и возрастной патологии, направленная на увеличение средней продолжительности жизни, сохранение активного долголетия и достижение видового предела жизни человека [43, 94, 98].

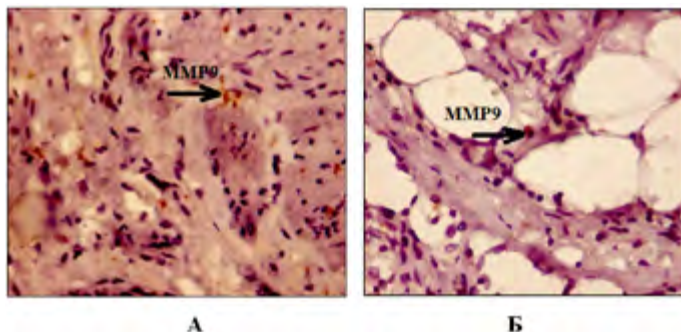
Применение достижений фундаментальной науки в медицине привело к пониманию того, что прогресс клинической медицины во многом зависит от молекулярной медицины, особенно исследований, проводимых на уровне генов и биологически активных молекул [40]. В молекулярной медицине также широко используются достижения генетики, молекулярной и клеточ-

ной биологии для конструирования новых лекарственных средств и создания технологий [1, 48].

Одним из актуальных направлений молекулярной медицины является изучение генетических и эпигенетических механизмов старения [20]. В настоящее время установлено, что существуют определенные гены, которые регулируют механизмы индивидуального развития и возникновения многих заболеваний [1, 28].

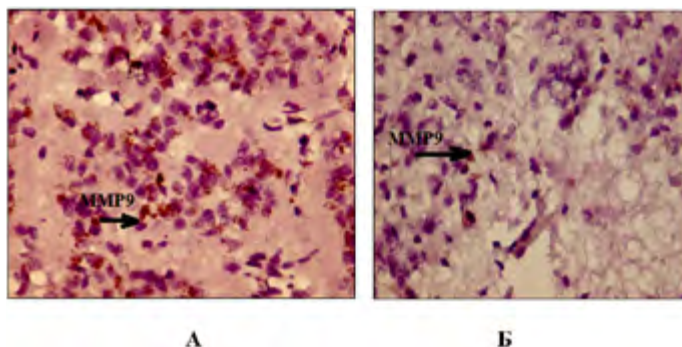
При возрастном снижении пролиферации и дифференцировки клеток существует возможность осуществлять коррекцию этих нарушений путем воздействия на экспрессию генов [28, 92, 109]. Изучение генетических механизмов старения и развития возрастной патологии составляет основу регуляторной терапии – использования модуляторов транскрипции, сдерживающих и восстанавливающих до уровня нормы, возникающие с возрастом генетические изменения. Для этого необходимо использование веществ селективно регулирующих экспрессию генов [32, 44, 109]. Создание эффективных биорегуляторов, способствующих достижению видового предела продолжительности жизни и сохранению основных физиологических функций, является одной из наиболее актуальных проблем современной фармакологии и биogerонтологии. В исследованиях, посвященных данной проблеме, значительное внимание уделяется роли пептидов в предотвращении ускоренного старения [43, 109, 117].

Пептидная регуляция гомеостаза занимает важное место в сложной цепи физиологических процессов, приводящих к старению клеток, тканей, органов и организма в целом. Морфо-функциональным эквивалентом старения является инволюция органов и тканей [81] и прежде всего тимуса и пинезальной железы (рис. 2, 3, табл. 1) [9, 22, 43]. Также было выявлено достоверное снижение синтеза белка в клетках различных тканей организма по мере старения (рис. 4) [43].



**Рис. 2.** Тимус человека, иммуногистохимия с антителами к MMP9 (коричневое окрашивание), авидин-биотиновый метод, докраска гематоксилин-эозином, x20.

**А** – возраст 60–74 года, **Б** – возраст 75–90 лет. Наблюдается выраженная жировая инфильтрация тимуса (белые фрагменты на микрофотографии), экспрессия MMP9 снижается (**Б**) по сравнению с возрастом (**А**) [22].



**Рис. 3.** Пинеальная железа человека, иммуногистохимия с антителами к MMP9 (коричневое окрашивание), авидин-биотиновый метод, докраска гематоксилин-эозином, x20.

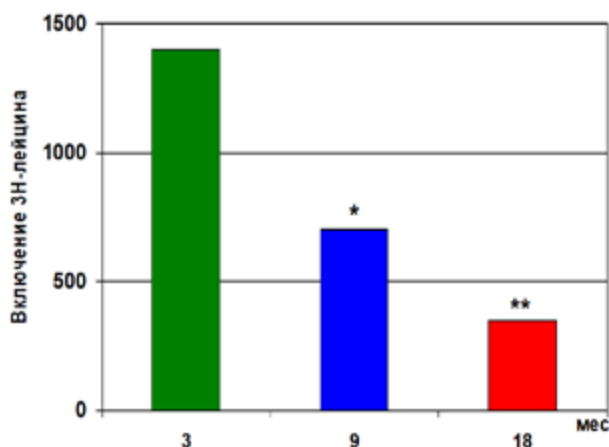
**А** – возраст 60–74 года, **Б** – возраст 75–90 лет. Наблюдается снижение экспрессии MMP9 (**Б**) по сравнению с возрастом (**А**) [22].

**Табл. 1.** Возрастная динамика экспрессии маркеров лимфоцитов в тимусе [50]

Маркер	Площадь экспрессии, %		
	возраст 60-74 года	возраст 75-90 лет	долгожители более 90 лет
CD4	2,70±0,54	1,58±0,18*	0,32±0,07*#
CD5	2,48±0,31	1,66±0,31	1,05±0,12*#
CD8	3,88±0,52	3,91±0,49	1,84±0,32*#
CD20	0,69±0,12	0,56±0,11	0,65±0,13

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с соответствующим показателем в возрасте 60–74 года,

# –  $p < 0,05$  по сравнению с соответствующим показателем в возрасте 75–90 лет.



**Рис. 4.** Синтез белка в гепатоцитах крыс разного возраста [40]

\*-  $p < 0,05$  по сравнению с показателем у крыс 3 мес.;

\*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с показателем у крыс 9 мес.

Для восстановления функций тимуса, эпифиза, костного мозга и других органов нами был разработан специальный метод выделения и фракционирования низкомолекулярных пептидов из экстрактов этих органов [26, 48].

## ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НА УРОВНЕ ОРГАНИЗМА

У различных животных было выявлено значительное разнообразие биологической активности коротких пептидов и особенно комплексных пептидных препаратов эпифиза (лекарственный препарат эпиталамин) и тимуса (лекарственный препарат тималин) [4, 21, 43]. Результаты экспериментов показали наличие у этих препаратов геропротекторных свойств. На основании статистической обработки результатов экспериментов сделаны выводы о том, что пептиды способны увеличивать продолжительность жизни животных. Так, при оценке динамики выживаемости рассчитывали среднюю продолжительность жизни (СПЖ) всех, а также 10% максимально проживших животных, медиану и максимальную продолжительность жизни [25].

При расчетах кинетических параметров популяционного старения использовали модель Гомпертца для функции выживания:

$$S(x) = \exp\left\{-\frac{\beta}{\alpha}[\exp(\alpha x) - 1]\right\},$$

где параметры  $\alpha$  и  $\beta$  связаны с популяционной скоростью старения и начальной силой смертности соответственно. Параметр  $\alpha$  часто характеризуется также величиной времени удвоения силы смертности (mortality rate doubling time, MRDT), рассчитываемый как  $\ln(2)/\alpha$ . Для анализа выживаемости использовали метод Кокса [88]. Для каждой группы рассчитывали непараметрические оценки Каплан-Мейера условных функций дожития [103]. При обработке результатов также применяли методы вариационной статистики с использованием пакета статистических программ STATGRAPH. Рассчитывали параметры уравнения регрессии для кривых возрастной динамики веса тела. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента [10], непараметрическому критерию Манна-Уитни, точному критерию Фишера или критерию  $\chi^2$  [124, 128]. При оценке различий в частоте новообразований использовали рекомендованный Международным Агентством по изучению рака (МАИР, Лион, Франция) метод комбинированных таблиц контингентности, рассчитанных отдельно для фатальных и случайных опухолей с помощью программы CARTTEST [95]. При анализе выживаемости и риска развития опухолей использовали лог-ранк тест [88].

Статистическая обработка результатов экспериментов показала, что пептидный препарат эпифиза эпиталамин способствовал значительному увеличению продолжительности жизни различных модельных организмов. Увеличение средней продолжительности жизни (СПЖ) у подопытной группы по сравнению с контролем составило 16% (у *Dr. melanogaster*), 25% (у крыс), 31% (у мышей) [80].

Таким образом, статистический анализ результатов проведенных экспериментов подтвердил геропротекторный эффект препарата эпифиза эпиталамина [89, 97, 113]. Аналогичный эффект наблюдался при использовании пептидного препарата тимуса тималина. Выявлена отчетливая корреляция увеличения средней продолжительности жизни и основного показателя

клеточного иммунитета – реакции бласттрансформации лимфоцитов с фитогемагглютинином, характеризующего функцию Т-лимфоцитов, при введении препаратов тимуса и эпифиза животным (рис. 5) [40, 48].

Следует отметить, что увеличение показателей продолжительности жизни животных было связано с тем, что низкомолекулярные пептиды, выделенные из эпифиза и тимуса, обладали достоверной противоопухолевой активностью [43, 72, 78]. Это выражалось в снижении в 1,4–7 раз частоты возникновения как спонтанных, так и индуцированных облучением или канцерогенами злокачественных опухолей у животных (рис. 6) [67, 77, 79]. Особенно важно, что этот беспрецедентный уровень уменьшения количества опухолей был отмечен в подавляющем большинстве экспериментов (более 30). Результаты этих исследований, учитывая общий механизм канцерогенеза у всех млекопитающих, имеют большое практическое значение для профилактики опухолей у людей [43, 73].

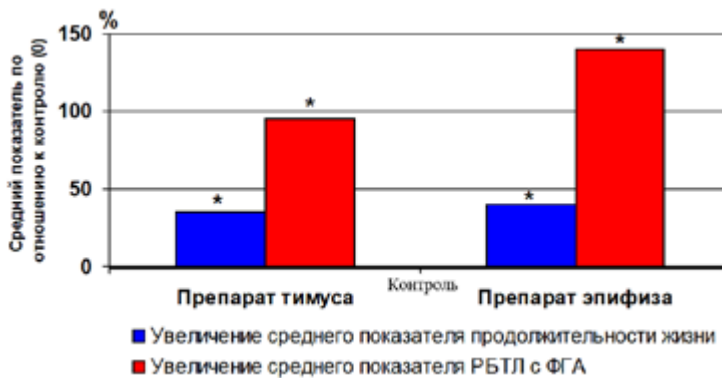


Рис. 5. Влияние пептидных препаратов на среднюю продолжительность жизни и РБТЛ с ФГА у мышей [40]  
\* $p < 0,01$  по сравнению с контролем

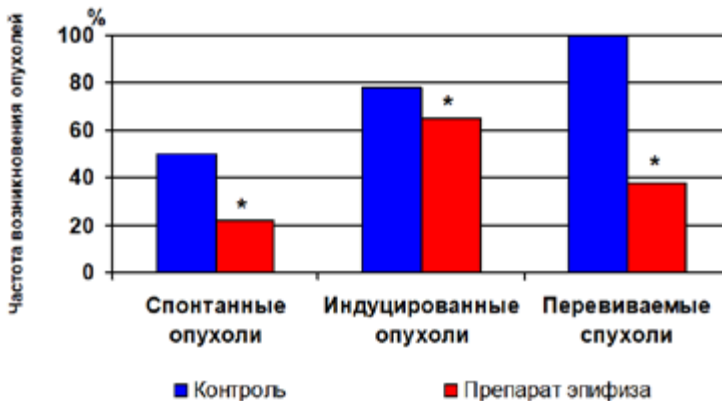


Рис. 6. Влияние пептидного препарата эпифиза на частоту возникновения опухолей у животных [40]  
\* $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Помимо влияния пептидных препаратов на интегральные показатели старения, значимым явился факт восстановления репродуктивной системы у старых самок крыс после введения пептидного препарата эпифиза [3, 5, 89]. Так, фаза эструса у животных, аналогичная менопаузе у женщин, от исходного состояния 95% уменьшилась после введения препарата до 52%, а остальные фазы цикла, характерные для нормы, возросли от исходных 5% до 48%. В основе замедления старения репродуктивной функции у крыс под воздействием эпиталамина лежит его способность повышать чувствительность гипоталамуса к эстрогенам и восстанавливать нерегулярный эстральный цикл у старых животных. Отмечено, что у контрольных самок, в возрасте 16–18 мес. после спаривания с самцами беременность не наступала. После курса введения препарата эпифиза при повторном спаривании (с этими же самцами) у 4 крыс из 16 наступила беременность и у них родилось здоровое потомство [89]. Этот факт имеет огромное значение, так как указывает на возможность восстановления эндокринной функции при ее угасании.

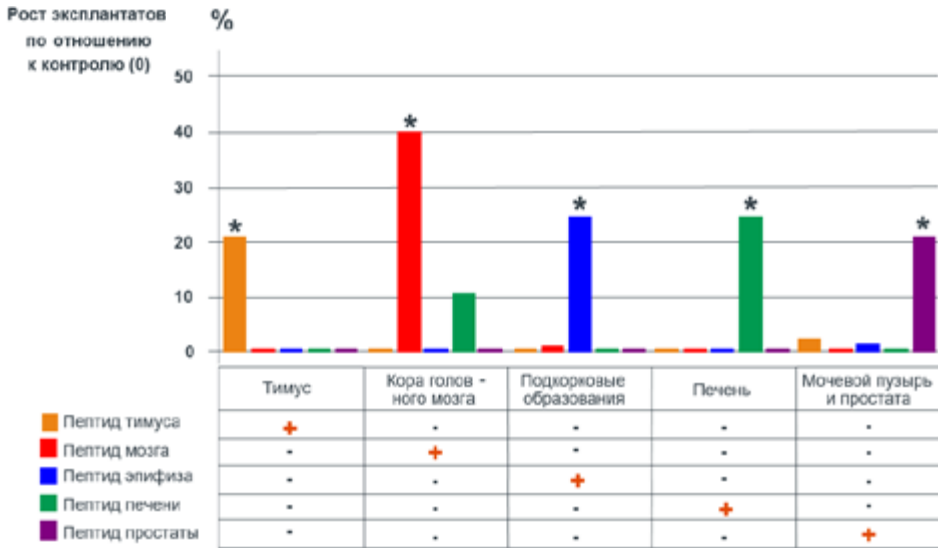
В дальнейшем, использование метода конструирования пептидов на основании анализа аминокислотного состава пептидных экстрактов из различных органов животных, позволило синтезировать короткие пептиды [38]. Установлено, что синтезированные таким способом пептиды (ди-, три-, тетрапептиды) также обладают геропротекторными и антиканцерогенными свойствами. Например, тетрапептид эпиталон, сконструированный на основании аминокислотного анализа эпиталамина, увеличивал максимальную продолжительность жизни мышей линии СВА на 42% и снижал скорость старения на 41% [114]. Антиканцерогенный эффект эпиталона проявлялся в торможении развития спонтанных опухолей, характерных для этой линии мышей [72]. Также, как и эпиталамин, тетрапептид эпиталон, тормозил возрастное изменение репродуктивной функции у мышей разных линий [1, 113] и восстанавливал секрецию мелатонина у старых животных [9, 90].

Таким образом, результаты применения комплексных пептидных препаратов и коротких синтезированных пептидов у животных показали способность этих веществ замедлять развитие возрастных изменений, что приводило к увеличению продолжительности жизни.

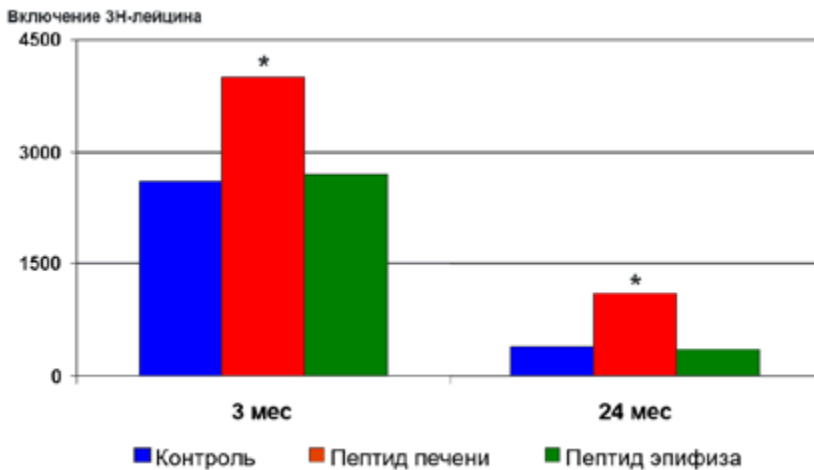
Последующее изучение коротких пептидов в культуре клеток и в экспериментальных моделях у молодых и старых животных показало, что эти биорегуляторы обладают выраженной тканеспецифической активностью (рис. 7) [44, 52]. Воздействие пептидов приводило к тканеспецифической стимуляции синтеза белков в клетках тех органов, из которых эти пептиды были выделены. Эффект усиления синтеза белков при введении пептидов выявлен у молодых и старых животных (рис. 8).

В различных экспериментальных моделях исследовали биологическую активность созданных пептидных биорегуляторов. Так, в модели циркуляторной острой почечной недостаточности у крыс были изучены нефропротекторные свойства полипептидного комплекса, выделенного из почек, и





**Рис. 7.** Пептидная тканеспецифическая регуляция роста эксплантатов тканей в органотипических культурах клеток [40]  
\* $p < 0,05$  по сравнению с контролем (0)



**Рис. 8.** Влияние пептидов на синтез белка в гепатоцитах крыс разного возраста [40]  
\* $p < 0,05$  по сравнению с контролем

коротких пептидов. Установлено, что пептид EDL снижал экскрецию белка и концентрацию электролитов в моче. Полипептидный комплекс почек и пептиды AED, AEDG нормализовали диурез, концентрацию креатинина в моче и его экскрецию, скорость клубочковой фильтрации, абсолютную реабсорбцию, снижали концентрацию белка в моче и его экскрецию, концентрацию ионов натрия и калия в моче. При этом наиболее выраженным нефропротекторным эффектом обладал пептид AED [12].

Установлено, что пептид EDR обладал антигипоксическим и нейропротекторным действием у животных и насекомых. Инъекции пептида EDR беременным крысам способствовали улучшению пространственной ориентации и обучаемости потомства при проведении теста «водный лабиринт Морриса». Возможно, что защитное действие пептида EDR связано с его способностью подавлять накопление активных форм кислорода в головном мозге, повышая устойчивость нейронов к окислительному стрессу и предотвращая взаимодействие гомоцистеина и его производных с рецепторами глутамата [82]. Пептид EDR стимулировал процесс формирования памяти у медоносных пчел (*Apis mellifera L.*) с исходно низкой пищевой мотивацией [54]. Этот пептид также нормализовал локомоторную активность в модели болезни Паркинсона у *Drosophila melanogaster* (дрозофилы с деменцией и тельцами Леви – мутант *agn<sup>st3</sup>* локуса *agnostic*, несущего дефектный ген LIM-киназы) в нормальных условиях и при стрессорном воздействии. Пептид также восстанавливал краткосрочную память у мутанта *agn<sup>st3</sup>*. Проведенные исследования позволили сделать вывод о влиянии пептида EDR на функцию высших отделов ЦНС, ответственных за когнитивную деятельность [63].

Таким образом, установлены важные свойства низкомолекулярных пептидов, которые обладают высокой биологической активностью, тканеспецифичностью и у них отсутствуют видоспецифичность и иммуногенность [21]. Эти характеристики сближают регуляторные пептиды с пептидными гормонами [21, 119].

Проведены исследования по выделению коротких пептидов из пептидных экстрактов, изучению молекулярных масс, химических свойств, аминокислотного состава пептидов (из тимуса, эпифиза и других органов) [40]. Методами масс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хрома-

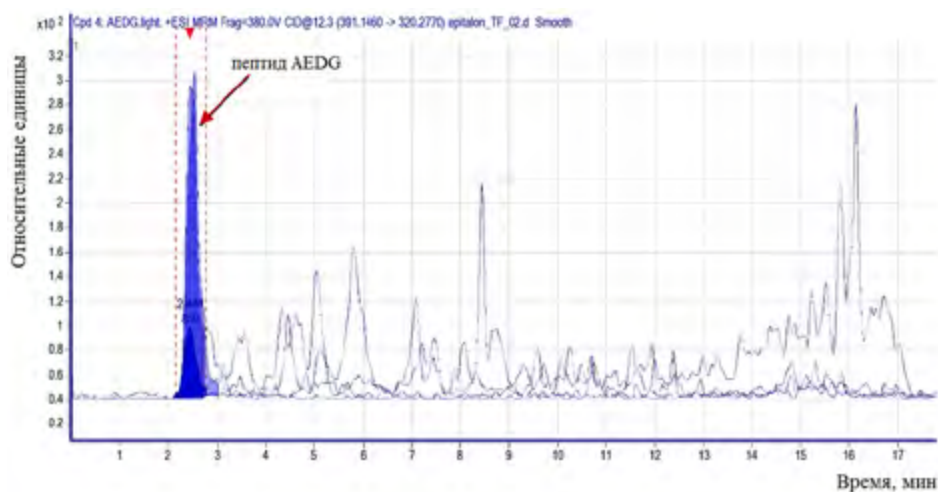


Рис. 9. Хроматограмма SRM-сигнала фокусированного ионного тока изолированных фрагментных ионов пептида AEDG в составе полипептидного экстракта эпифиза [47]

тографии выявлено, что в состав полипептидного экстракта эпифиза входят свободные аминокислоты, дипептиды, трипептиды, тетрапептиды, пентапептиды. Методом селективного мониторинга реакций (SRM-метод) среди тетрапептидов, входящих в состав полипептидного комплекса эпифиза, выявлен пептид AEDG (рис. 9) [47].

Полученная информация была использована для осуществления химического синтеза коротких пептидов. Экспериментальное сравнение показало, что биологическая активность природных и синтетических препаратов в основном идентична. Например, дипептид тимуса EW, выделенный из комплексного пептидного препарата тималина, стимулировал иммунитет, снижал темп старения и подавлял возникновение спонтанных опухолей у животных [74, 75]. Биологическая активность природных и синтетических пептидов также была сходной при тестировании в культуре тканей и у животных [44, 70]. Эти результаты указывали на перспективность применения пептидов в качестве геропротекторных препаратов [2, 48].

## ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НА УРОВНЕ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР

На уровне клеточных структур выявлено, что короткие пептиды активируют гетерохроматин в ядрах лимфоцитов крови людей старческого возраста и способствуют «высвобождению» генов, репрессированных в результате гетерохроматинизации эухроматиновых районов хромосом, которая происходит при старении (табл. 2) [120, 121].

**Табл. 2.** Влияние пептидов на хроматин в лимфоцитах лиц старческого возраста [40]

Пептиды	Ассоциирующие акроцентрические хромосомы (на клетку)	Дегетерохроматинизация факультативного гетерохроматина (на клетку)	Общий гетерохроматин	Структурный гетерохроматин 1 хромосомы
Контроль 1 (20-40 лет)	1,33±0,06	7,7±0,4	стабильное состояние	стабильное состояние
Контроль 2 (75-88 лет)	1,17±0,05*	5,9±0,2*	гетерохроматинизация	гетерохроматинизация
Пептид Lys-Glu	2,39±0,11**	9,9±0,6**	дегетерохроматинизация	гетерохроматинизация
Пептид Ala-Glu-Asp-Gly	2,32±0,12**	8,4±0,5**	дегетерохроматинизация	дегетерохроматинизация

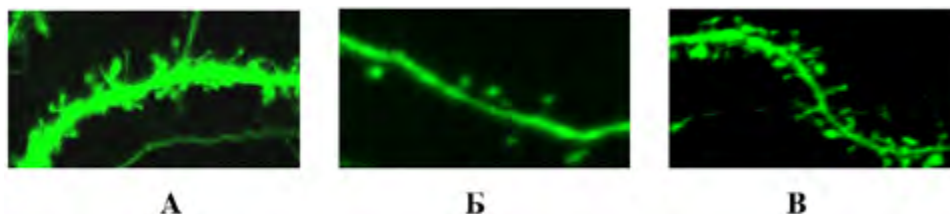
\* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем 1 (20-40 лет)

\*\* -  $p < 0,001$  по сравнению с контролем 2 (75-88 лет)

Структурная конденсация хроматина находится в тесной корреляции с функциональной гетерогенностью. Установлено, что при старении усиливается гетерохроматинизация, которая коррелирует с инактивацией ранее активных генов [107, 120]. Плотно конденсированные гетерохроматиновые районы хромосом генетически инактивированы, поздно реплицируются. Деконденсированные (эухроматиновые) районы хромосом активно функционируют. Известно, что необходимым условием для транскрипционной активности генов является активный хроматин [121]. Как упоминалось выше, в клеточном ядре существует две разновидности хроматина: светлый эухроматин и плотный гетерохроматин, расположенный рядом с ядерной мембраной. Транскрипция генов происходит в эухроматине. При старении объём гетерохроматина в ядре увеличивается в среднем на 63% – 80%. Регуляторные пептиды увеличивают содержание эухроматина в ядре. Это означает, что большее число генов оказывается доступным для транскрипции и синтез белка увеличивается [120, 121]. Результаты этого эксперимента позволили сделать важный вывод о том, что гетерохроматинизация хроматина является обратимым процессом, а это подтверждает возможность восстановления синтеза белка и, следовательно, функций организма [44, 107]. В другом исследовании оценивали влияние пептида эпифиза AEDG на длину теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов крови у лиц молодого и среднего возраста. Достоверное увеличение длины теломер составило 18–156%. Известно, что число хромосомных aberrаций используется как маркер повреждений ДНК в стареющем организме. Соматические мутации могут возникать из-за накопления устойчивых aberrаций и лежат в основе возрастной патологии, включая злокачественные опухоли [127]. Достоверная антимуtagenная и репаративная активность пептидов тимуса и эпифиза была подтверждена снижением числа хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и эпителия роговицы животных с ускоренным старением [44, 76, 109].

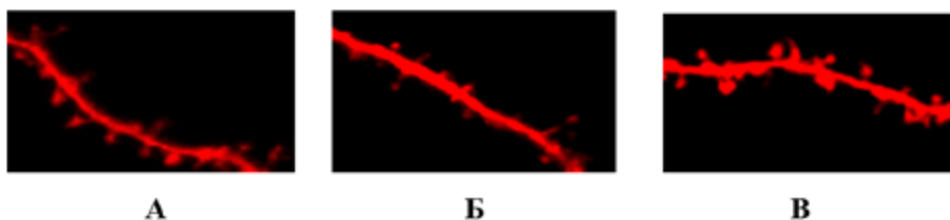
Важными являются результаты по влиянию пептида EDR на морфологию шипиков дендритов нейронов в моделях НДЗ *in vitro*. Формирование шипиков дендритов - важный этап в процессе нейрогенеза, обеспечивающий взаимодействие нейронов и функционирование нейронных сетей. Известно, что изменение морфологии шипиков дендритов и их количества является признаком НДЗ и психических заболеваний. Эти нарушения наблюдаются при болезнях Альцгеймера и Хантингтона в головном мозге людей и при моделировании БА и БХ *in vitro* и *in vivo*.

Изучено влияние пептида EDR на формирование шипиков в нейронах стриатума в смешанной кортико-стриатной культуре, полученной от мышей линии YAC128 (модель БХ) и в культуре нейронов гиппокампа мышей (модель БА). При исследовании влияния пептида EDR на количество шипиков в нейронах кортико-стриатной культуры мышей линии YAC128 установлено, что этот пептид статистически значимо увеличивал количество шипиков на 35% по сравнению с этим же показателем у мышей с геном мутантного белка хантингтина человека (рис. 10) [108].



**Рис. 10.** Фрагменты дендрита кортико-стриатной культуры нейронов. Иммуноцитохимический анализ с антителами к DARPP-32 (вторичные антитела Alexa 488 – зеленая флуоресценция), 21 сут. культивирования,  $\times 100$ . **А** – контроль, мыши дикого типа (норма), **Б** – мыши линии YAC128 (модель БХ), **В** – мыши линии YAC128 + пептид EDR (200 нг/мл) [108]

В условиях амилоидной синаптотоксичности (модель БА) при изучении влияния пептида EDR на количество грибовидных шипиков в дендритах нейронов гиппокампа выявлен положительный эффект пептида. После добавления в культуру нейронов гиппокампа пептида количество грибовидных шипиков статистически значимо увеличивалось на 71% по сравнению с контролем (рис. 11) [18].

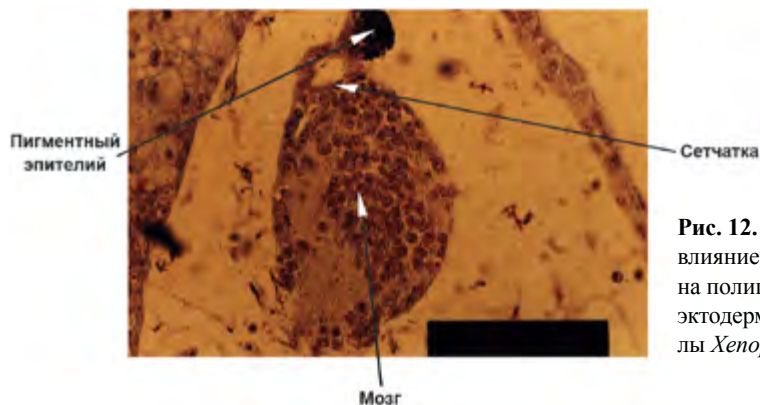


**Рис. 11.** Фрагменты дендрита культуры нейронов гиппокампа, трансфицированных плазмидой pCSGFP2:td-tomato,  $\times 100$ . **А** – контроль, **Б** – добавление  $A\beta 42$  (модель амилоидной синаптотоксичности, БА), **В** – добавление  $A\beta 42+$  пептид EDR (200 нг/мл) [18]

Таким образом, пептид EDR является одним из перспективных нейропротекторов для дальнейшего изучения при БА и БХ.

## ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ – МАРКЕРОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ, ПРОЛИФЕРАЦИИ, АПОПТОЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК

Установлено, что пептиды способствуют индукции дифференцировки полипотентных клеток эктодермы ранней гаструлы лягушки *Xenopus laevis* (рис. 12) [44,45]. Добавление пептидов сетчатки к полипотентным клеткам эктодермы привело к возникновению клеток сетчатки и пигментного эпи-



**Рис. 12.** Индукционное влияние пептидов сетчатки на полипотентные клетки эктодермы ранней гастрюлы *Xenopus laevis* [40]

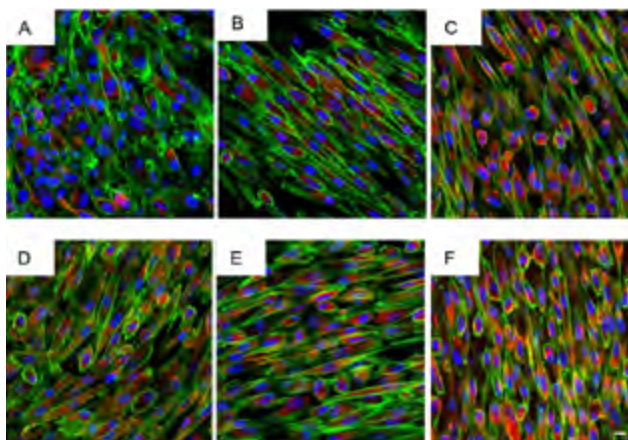
теля. Этот результат объясняет значительный клинический эффект после применения пептидного препарата сетчатки (ретиналамина) при дегенеративных заболеваниях сетчатки у пациентов [31], а также у животных с генетически детерминированным пигментным ретинитом [43].

Добавление пептида эпифиза AEDG к полипотентным клеткам эктодермы в этой же экспериментальной модели способствовало дифференцировке клеток в эпидермис и нервную ткань, тогда как пептид AEDP индуцировал дифференцировку в направлении нервной ткани и мезенхимы [24]. Эти результаты показали возможность целенаправленной индукции пептидами дифференцировки полипотентных клеток.

Изучено влияние пептидов AED, KED, KE, AEDG и их комбинации на нейрональную дифференцировку стволовых клеток периодонтальной связки человека. Комбинация пептидов повышает экспрессию белка GAP43, реализующего механизмы нейротрансмиссии и нейропластичности в культурах hPDLSCs в 1,5 раза, а пептиды AED и KED увеличивают этот показатель, соответственно – в 1,4 и 1,8 раза (рис. 13) [86].

Комбинация пептидов повышает экспрессию белка нейрофиламентов нестина, экспрессирующегося в ранних предшественниках нейронов, в культурах hPDLSCs в 1,5 раза, а пептид KED – в 2 раза. Таким образом, пептиды AEDG, KE, AED, KED ускоряют нейрональную дифференцировку стволовых клеток hPDLSCs и являются перспективными для изучения в качестве модуляторов нейрогенеза [86].

Установлено, что короткие пептиды тканеспецифически стимулируют экспрессию факторов дифференцировки CXCL12, Ноха3, WEGC1: пептид KEDW – в клетках поджелудочной железы, пептид AEDL – в клетках легкого и пептид KED – в фибробластах. При этом индуцирующий эффект пептидов на экспрессию факторов дифференцировки наиболее выражен в «старых» культурах клеток, что может служить одним из показателей их геропротекторного действия [14]. Кроме того, пептид KEDW увеличивал экспрессию матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP9), серотонина, гликопротеина CD79 $\alpha$ , антиапоптотического белка Mcl1, факторов про-



**Рис. 13.** Влияние пептидов на экспрессию белка GAP43 в стволовых клетках периодонтальной связки человека. Иммунофлуоресцентная конфокальная микроскопия,  $\times 100$ . Ядра клеток докрашены DAPI (синяя флуоресценция), экспрессия актина – Alexa Fluor 488 (зеленая флуоресценция), экспрессия GAP43 – Alexa Fluor 568 (красная флуоресценция).

А – контроль, В – пептид AEDG, С – пептид KE, D – пептид AED, E – пептид KED, F – комбинация пептидов [86]

лиферации PCNA, Ki67, а также снижал экспрессию проапоптотического белка p53 в «старых» культурах клеток поджелудочной железы [57]. Пептид AEDL регулировал синтез белков Ki67, Mcl-1, p53, CD79, NOS-3 в культурах клеток легкого человека [117]. Таким образом, применение пептидов способствовало активации процессов клеточного обновления и повышению функциональной активности клеток.

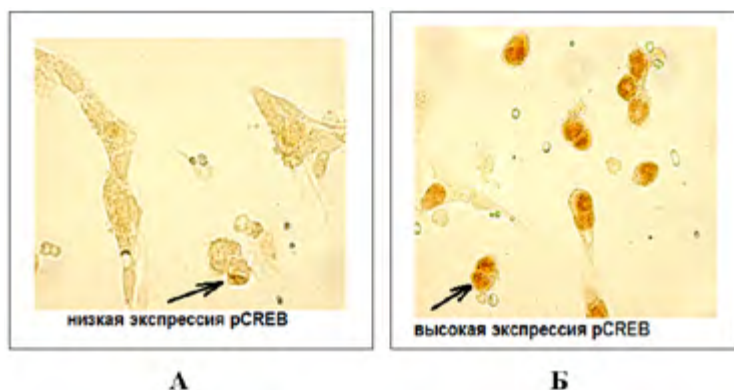
Выявлено, что трипептид KED в культуре клеток кортикальных тимоцитов человека усиливал их дифференцировку в направлении регуляторных Т-клеток, повышал их пролиферативную активность и снижал уровень апоптоза. Кроме того, пептид KED стимулировал пролиферативную (Ki67) и антиапоптотическую (Mcl-1) активность зрелых регуляторных Т-клеток. Показано, что пептид KED стимулировал экспрессию маркера миелоидных клеток CD14 и В-лимфоцитов CD19 в костном мозге [23, 112].

Также установлено, что короткие пептиды тканеспецифически регулируют апоптоз клеток различных органов при их старении. Пептид EDG способствовал снижению экспрессии маркера каспаза-зависимого апоптоза p16 в культурах клеток легкого при их репликативном старении. Дипептиды EW и KE снижали экспрессию белков каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в лимфоцитах крови при их репликативном старении в культуре и маркера p53 – в «молодых» лимфоцитах крови. Пептиды AED и EDL снижали экспрессию маркеров каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в «старых» и маркеров p16, p21 – в «молодых» культурах клеток почек. Трипептид KED уменьшал выраженность экспрессии марке-

ров каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в культурах клеток сосудов при репликативном старении.

Полученные данные позволяют объяснить протекторное действие перечисленных пептидов в отношении бронхолегочной, иммунной, выделительной и сердечно-сосудистой систем при их старении [11].

Добавление пептида AEDG в культуры пинеалоцитов приводило к стимуляции синтеза фермента арилалкиламин – N-ацетилтрансферазы и транскрипционного фактора pCREB, участвующих в синтезе мелатонина из серотонина (рис. 14). Кроме того, под действием пептида AEDG повышалось содержание мелатонина в культуральной среде [49].



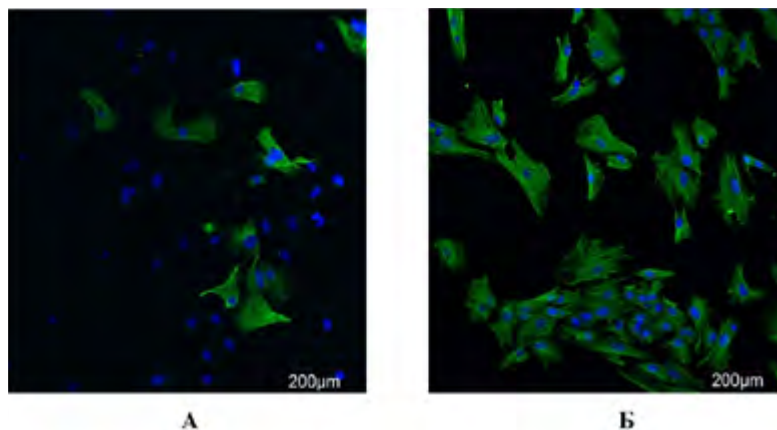
**Рис. 14.** Экспрессия транскрипционного фактора pCREB в культуре пинеалоцитов, иммуноцитохимия, авидин-биотиновый метод, x400: **А** – контроль, **Б** – пептид AEDG [49]

Добавление пептидов AEDG и KE в эмбриональные культуры клеток сетчатки цыплят способствовало индукции дифференцировки различных типов нейронов сетчатки (активация экспрессии белков *Vtn3*, *Rax6*, *Prox1*, *Vsx1*) и пигментного эпителия (активация синтеза белка транстерритина) [56].

Пептид AEDR усиливал экспрессию белков цито- и кариоскелета в культуре клеток эмбриональных фибробластов. Этот пептид увеличивал экспрессию белков цитоскелета (актина, тубулина и виментина) в 2–5 раз, а ядерных белков (ламин А, ламин С) – в 2–3 раза. Таким образом, в основе молекулярного механизма действия этого тетрапептида лежит его способность активировать синтез белков цито- и кариоскелета, что приводит к усилению пролиферации клеток и снижению апоптоза [51].

Установлено, что при старении в культурах фибробластов кожи площадь экспрессии коллагена 1 типа и сиртуина-6 снижалась соответственно в 3,5 и 3,6 раза. Пептид KE повышал площадь экспрессии коллагена 1 типа в «старых» культурах фибробластов кожи на 83% (рис. 15). Пептид KE увеличивал площадь экспрессии сиртуина-6 в «молодых» и «старых» культурах фибробластов кожи соответственно в 1,6 и 2,6 раза. Таким образом, пептид KE повышал функциональную активность фибробластов кожи и замедлял их старение [36].





**Рис. 15.** Экспрессия коллагена 1 типа в культуре фибробластов кожи – 14 пассаж («старая» культура): **А** – контроль, **Б** – пептид КЕ. Иммунофлуоресцентная конфокальная микроскопия,  $\times 200$ . Ядра клеток докрашены Hoechst 33258 – темно-синяя флуоресценция, зеленая флуоресценция – окрашивание на коллаген 1 типа [36]

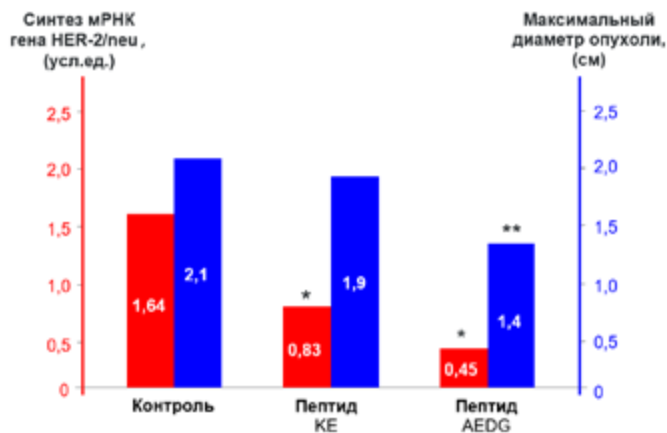
Эти эксперименты показали, что пептиды способны индуцировать дифференцировку, стимулировать пролиферацию, функциональную активность клеток и подавлять их апоптоз. Анализ результатов этих исследований дает основание сделать вывод о возможности пептидной целенаправленной индукции дифференцировки клеток.

## ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

В экспериментах на различных организмах изучено влияние пептидов на экспрессию генов. На уровне регуляции активности генов установлено, что пептиды КЕ и AEDG при введении в организм трансгенных мышей подавляли экспрессию гена *HER-2/neu* (рак молочной железы человека) в 2–3,6 раза по сравнению с контролем. Это подавление экспрессии гена сопровождалось статистически значимым уменьшением диаметра опухоли (рис. 16) [44, 78, 113].

Выявлено, что добавление пептида AEDG в культуру фибробластов легкого человека индуцировало экспрессию гена теломеразы, активность теломеразы и способствовало удлинению теломер в 2,4 раза. Активация экспрессии гена сопровождалась увеличением числа делений клеток на 42,5%, что демонстрировало преодоление предела клеточного деления Хейфлика (рис. 17) [44, 109]. Этот результат коррелирует с ранее указанным максимальным увеличением продолжительности жизни у животных (42,3%) после введения этого же пептида [71, 80].

С использованием ДНК-микрочиповой технологии изучено влияние пептидов КЕ, EW, AEDG, AEDP на экспрессию 15 247 генов сердца и головного мозга мышей [68, 109]. В экспериментах использовали клоны, входящие в библиотеку кДНК Национального института старения США.



**Рис. 16.** Влияние пептидов на развитие аденокарцином молочной железы и экспрессию онкогена HER-2/neu у трансгенных мышей (исследование выполнено совместно с Национальным центром старения, Анкона, Италия) [40]  
 \*-  $p < 0,001$  по сравнению с показателем в контроле  
 \*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с показателем в контроле

В этих экспериментах были получены уникальные данные по изменению экспрессии различных генов под влиянием пептидов (рис. 18). Важным выводом явилось то, что пептиды специфически регулируют экспрессию генов. Результаты эксперимента указали на существующий механизм пептидной регуляции генетической активности. В эксперименте также установлено, что дипептид KE, обладающий иммуномодулирующей активностью, регулировал экспрессию гена интерлейкина-2 в лимфоцитах крови [44, 109].



**Рис. 17.** Преодоление лимита деления соматических клеток человека при добавлении пептида AEDG в культуру легочных фибробластов [40]  
 \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

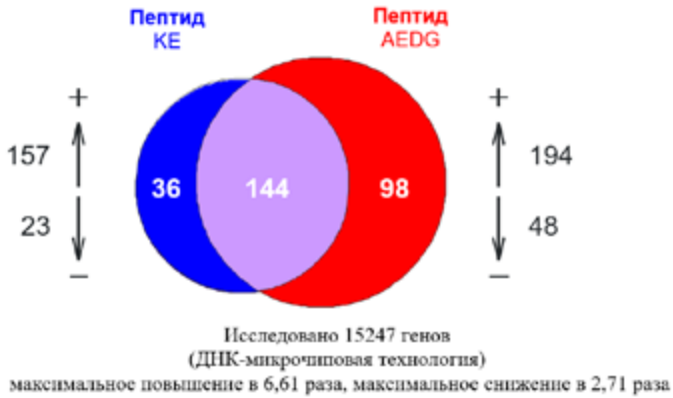


Рис. 18. Влияние пептидов на экспрессию генов в сердце мыши (исследование выполнено совместно с Национальным институтом старения, Балтимор, США) [40]

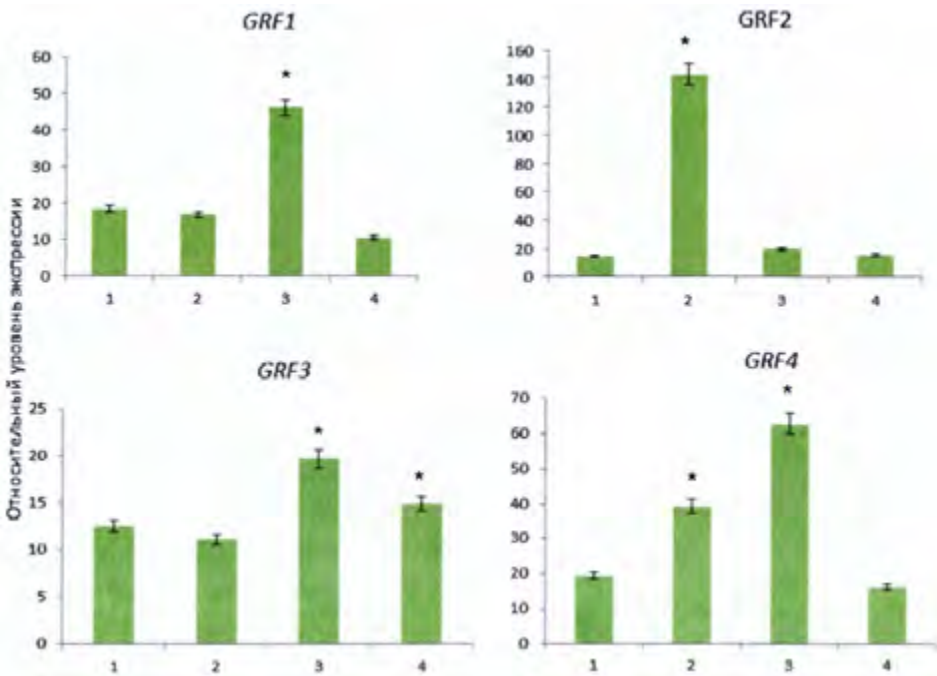


Рис. 19. Влияние пептидов на экспрессию генов – регуляторов факторов роста [33]  
1 – контроль, 2 – пептид AEDG, 3 – пептид AEDL, 4 – пептид KE  
\* -  $p < 0,05$  по сравнению с соответствующим контролем

Впервые изучено влияние пептидов на экспрессию генов растений. Установлено, что пептиды AEDG, AEDL, KE регулируют экспрессию генов роста, развития и дифференцировки каллусной культуры *Nicotiana tabacum* (растение табак). Пептиды стимулируют экспрессию генов семейства CLE

(*CLE-1-8*), семейства KNOX (*KNAT-1*, *KNAT-2*, *KNAT-3*, *KNAT-6*), семейства LET (*LET-6*, *LET-12*), семейства GRF (*GRF-1-4*) (рис. 19). Гены семейства CLE (*CLAVATA3/Endosperm surrounding region-related*) влияют на развитие семян, поддержание пула стволовых клеток в проростках. Гены семейств KNOX (*KNOTTED-like homeodomain*) и LET кодируют факторы транскрипции, которые участвуют в дифференцировке стволовых клеток растений [33].

Большой интерес представляет изучение влияния пептидов на экспрессию генов у *Drosophila melanogaster*. Пептид EDR регулировал экспрессию генов *limk1*, *rok*, *park* у мутантной линии дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>* (модель болезни Паркинсона с деменцией и тельцами Леви), нормализуя локомоторное поведение и память. У мутанта *agn<sup>ts3</sup>* уровень экспрессии гена *limk1* увеличен в 2,2 раза, *rok* – в 3,41 раза, а уровень гена *park* понижен в 1,25 раза. Уровни экспрессии всех 3 генов у дикого типа мух *Canton-S* (норма) без воздействий приняты за единицу. У *agn<sup>ts3</sup>* изначально повышенные уровни экспрессии *limk1* и *rok* под действием пептида EDR снижались, причем уровень гена *limk1* практически снизился до нормы. Изначально сниженный уровень *parkin* повысился в 2 раза (рис. 20) [63]. Таким образом, применение пептида EDR при патологии у *Drosophila melanogaster* способствовало нормализации экспрессии генов.

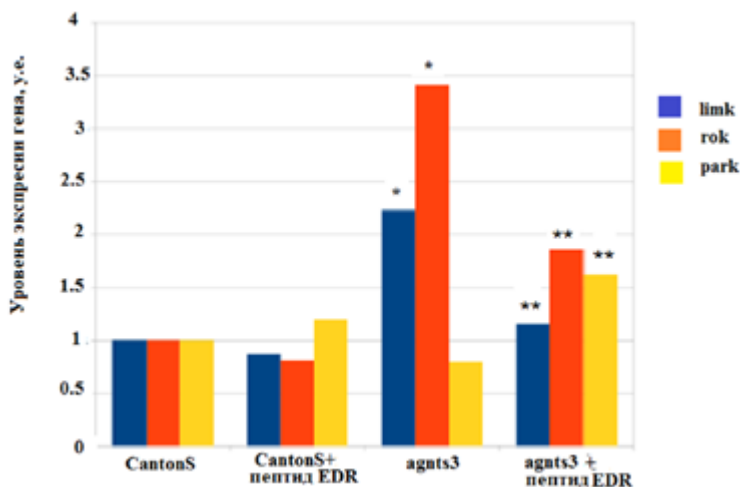


Рис. 20. Влияние пептида EDR на уровень экспрессии генов белков *limk1*, *park*, *rok* [63]

\* -  $p < 0,05$  по сравнению с нормой (*CantonS*)

\*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой *agn<sup>ts3</sup>*

Изучено влияние пептида AEDL в культуре клеток легкого человека. Установлено, что этот тетрапептид эпигенетически регулировал экспрессию генов белков, участвующих в ранней и поздней дифференцировке бронхиального эпителия: *Nkx2.1*, *SCGB1A1*, *SCGB3A2*, *FoxA1*, *FoxA2* (рис. 21, 22). Пептид AEDL активировал экспрессию генов *MUC4*, *MUC5AC*, *SftpA1* –

маркеров функциональной активности клеток бронхиального эпителия (рис. 23) и может принимать участие в нормализации/регуляции клеток легочного эпителия. Это открывает перспективы для его дальнейшего исследования в качестве вещества, нормализующего функции дыхательной системы [117].

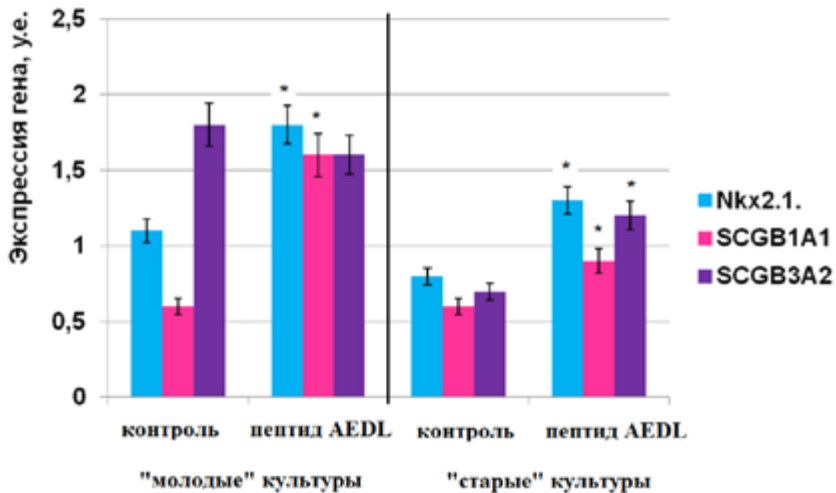


Рис. 21. Влияние пептида AEDL на экспрессию генов белков ранней дифференцировки бронхиального эпителия [117]

\* -  $p < 0,05$  – по сравнению с соответствующим контролем

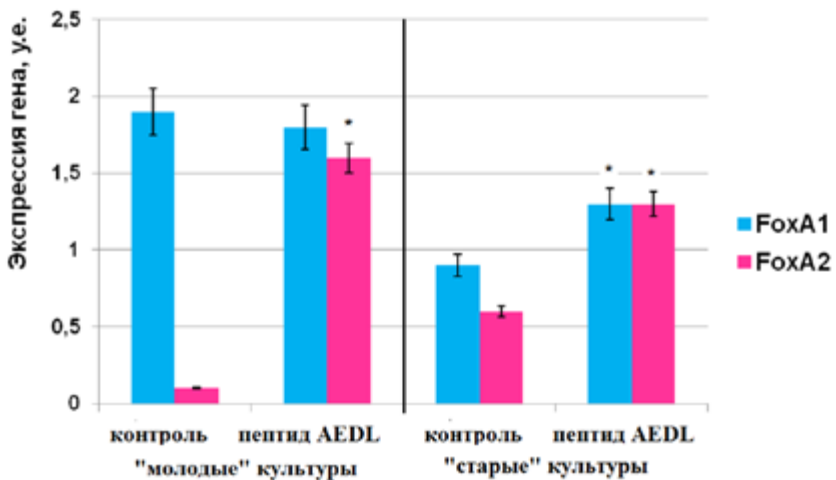


Рис. 22. Влияние пептида AEDL на экспрессию генов белков поздней дифференцировки бронхиального эпителия [117]

\* -  $p < 0,05$  – по сравнению с соответствующим контролем

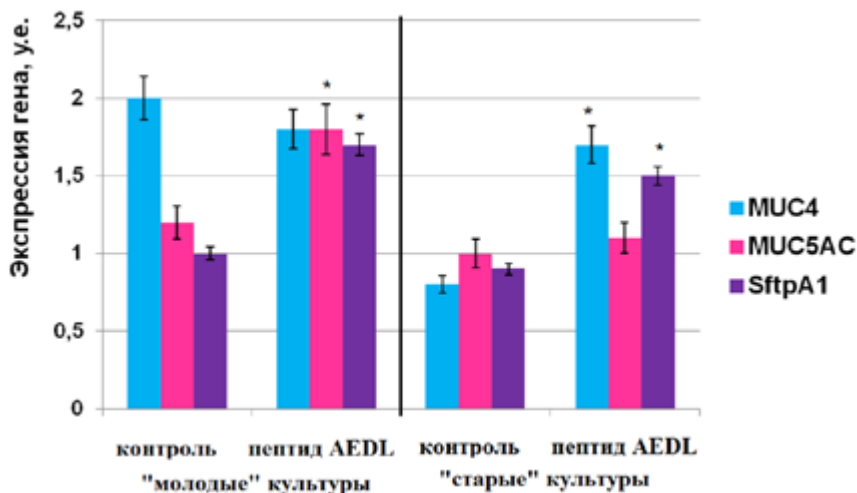


Рис. 23. Влияние пептида AEDL на экспрессию генов белков функциональной активности бронхиального эпителия [117]

\* -  $p < 0,05$  – по сравнению с соответствующим контролем

Важным исследованием явилось изучение влияния пептида поджелудочной железы KEDW на экспрессию генов в клетках этого органа. Известно, что при увеличении числа пассажей клеток снижается экспрессия генов факторов дифференцировки, индуцирующих созревание островковых клеток поджелудочной железы [116]. Отсутствие или снижение синтеза белков, регулируемых этими генами, нарушает развитие клеток поджелудочной железы из полипотентных клеток [91]. Пептид KEDW увеличивал экспрессию генов факторов дифференцировки *PDX1*, *NGN3*, *PAX6*, *FOXA2*, *NKX2.2*, *NKX6.1*, *PAX4* при старении клеток (табл. 3) [116]. Наиболее выраженный эффект наблюдался при исследовании экспрессии генов *PDX1*, *NGN3*, *PAX6*. Следовательно, пептид KEDW стимулирует дифференцировку различных эндокринных клеток поджелудочной железы, восстанавливая синтез инсулина, глюкагона, соматостатина и панкреатического полипептида.

Таким образом, пептиды AEDL и KEDW оказывали тканеспецифическое действие на экспрессию генов и синтез белков в культурах клеток легкого и поджелудочной железы человека. Кроме того, установлено, что в клетках поджелудочной железы и легкого при старении и под действием пептидов изменяется профиль метилирования промоторных участков генов *PDX1*, *PAX6*, *NGN3*, *NKX2-1*, *SCGB1A1*. Это коррелирует с нормализацией уровня экспрессии изученных генов. Изменение уровней экспрессии генов при старении культур и действии пептидов может быть обусловлено модификацией метилирования промоторных областей. Характер метилирования гена *PAX4* в панкреатических клетках и генов *FOXA1*, *SCGB3A2*, *SFTPA1* в клетках легкого не меняется при старении или при действии пептидов, в то время как уровень их экспрессии изменяется в обоих случаях. Промоторная

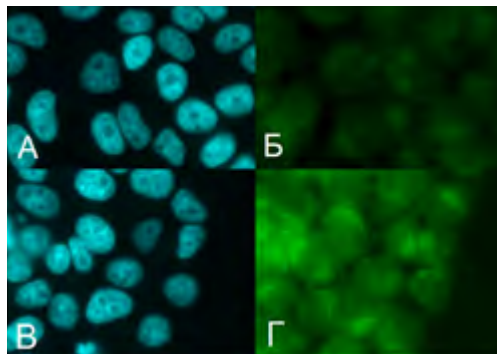
**Табл. 3.** Влияние пептида KEDW на экспрессию генов факторов дифференцировки клеток поджелудочной железы [116]

мРНК (ген)	экспрессия мРНК	
	контроль	пептид KEDW
<i>PDX1</i>	0,85±0,07	1,35±0,06*
<i>NGN3</i>	0,50±0,02	1,35±0,06*
<i>MNX1</i>	1,10±0,20	0,75±0,05*
<i>PAX6</i>	0,75±0,06	1,37±0,08*
<i>FOXA2</i>	0,95±0,09	1,25±0,06*
<i>NKX2.2</i>	0,50±0,04	0,80±0,06*
<i>NKX6.1</i>	0,80±0,05	1,20±0,07*
<i>HOXA3</i>	1,10±0,20	0,45±0,03*
<i>PAX4</i>	0,75±0,06	1,00±0,10*

\*- $p < 0,05$  по сравнению с контролем

область гена *FOXA2* в панкреатических клетках содержит небольшое число метилированных CpG-сайтов, степень метилирования которых изменяется при старении и действии пептида KEDW. В клетках легкого промоторная область гена *FOXA2* полностью не метилирована независимо от возраста, в том числе и при действии пептида AEDL. Варьирования в характере метилирования промоторных участков могут быть причиной возрастных и индуцированных пептидами изменений в уровнях экспрессии генов *PDX1*, *PAX6*, *NGN3* в панкреатических клетках и генов *NKX2-1* и *SCGB1A1* в легочных клетках [6]. Одним из эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов может быть изменение статуса их метилирования под действием коротких пептидов.

Для объяснения эпигенетического механизма действия пептидов существует несколько гипотез [7]. В конце XX в. было установлено, что короткие пептиды, синтезированные на основе Tat-белка (активатор транскрипции вирусного генома иммунодефицита человека HIV-1), способны проникать внутрь клетки [93]. Эти пептиды были созданы в качестве трансмембранных носителей для лекарственных веществ. Так возник термин *cell-penetrating peptides*, объединяющий пептиды, транспортирующие в клетку белки, нуклеиновые кислоты и липосомы [122, 123]. Исследуемые нами пептиды имеют некоторые общие свойства с CPP и также способны проникать внутрь клетки. Так, установлено, что FITC-меченые ди-, три- и тетрапептиды проникают в цитоплазму, ядро и ядрышко клеток HeLa (рис. 24) [34].



**Рис. 24.** Флуоресценция FITC-конъюгированного пептида EDR в ядрах в клетках HeLa.

**А, Б** – контроль,

**В, Г** – после 6 ч инкубации клеток с FITC-EDR ( $1,2 \cdot 10^{-6}$  М).

**А, В** – после обработки клеток DAPI;

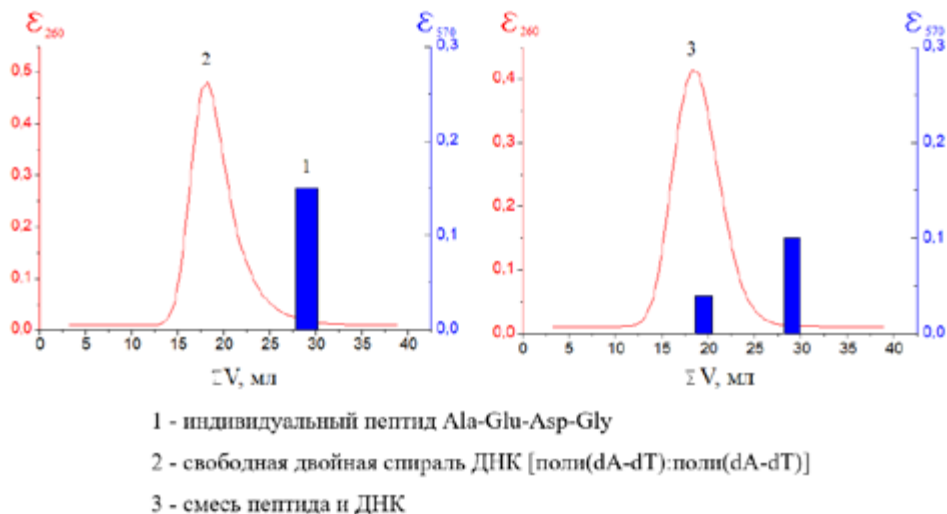
**Б, Г** – флуоресценция FITC-конъюгированного пептида EDR в ядрах [34]

Известно, что ядро эукариотических клеток имеет систему нуклеопор, образованных белковыми комплексами - нуклеопоринами. Внутренний диаметр нуклеопор составляет около 50 нм. Следовательно, они проницаемы для свободно диффундирующих низкомолекулярных веществ с молекулярной массой до 3500 Да. Таким образом, короткие пептиды (табл. 4) по своим физико-химическим характеристикам (заряд, размер, гидрофобность) могут проникать через цитоплазматическую и ядерную мембрану клетки и взаимодействовать с ДНК [34, 62, 129].

**Табл. 4.** Основные пептиды, выделенные и синтезированные в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии

Наименование (структура)	Биологическая активность	Молекулярная масса, Да
Тимоген (EW)	Иммуномодулятор	333
Вилон (KE)	Стимулятор регенерации тканей	275
Нормофтгал (KE)	Регуляция функций сетчатки глаза	275
Карталакс (AED)	Регуляция функций суставов	333
Пинеалон (EDR)	Регуляция функций мозга	418
Хонлутен (EDG)	Регуляция функций дыхательной системы	319
Везуген (KED)	Регуляция функций сосудов	391
Кристаген (EDP)	Иммуномодулятор	358
Оваген (EDL)	Регуляция функций печени	375
Эпиталон (AEDG)	Регуляция нейроэндокринной системы	390
Простамакс (KEDP)	Регуляция функций простаты	488
Ливаген (KEDA)	Регуляция функций печени	462
Кортаген (AEDP)	Регуляция функций мозга	430
Панкраген (KEDW)	Регуляция функций поджелудочной железы	576
Кардиоген (AEDR)	Регуляция функций миокарда	490
Тестаген (KEDG)	Регуляция функций семенников	448
Бронхоген (AEDL)	Регуляция функций бронхов	446





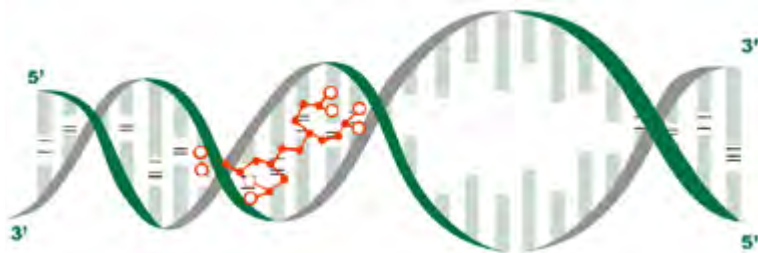
**Рис. 25.** Гельхроматография пептида и ДНК на сефадексе G-25 в физиологическом растворе при комнатной температуре [40]

По данным физических методов (УФ спектроскопия, круговой дихроизм, вискозиметрия, атомно-силовая микроскопия) и молекулярного моделирования короткие пептиды способны связываться с ДНК *in vitro* [58, 59]. Этот процесс протекает в течение нескольких часов и практически без участия электростатических сил. В результате комплексообразования, которое реализуется в бороздке ДНК с участием азотистых оснований и пептида, наблюдается дестабилизация вторичной структуры макромолекулы. С помощью гельхроматографии также было показано, что пептид AEDG образует устойчивый межмолекулярный комплекс с двойной спиралью ДНК (рис. 25) [65, 114, 129].

С использованием спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра обнаружен концентрационно зависимый гиперхромный эффект (увеличение оптической плотности раствора при длине волны 260 нм) в смеси пептида AEDG и двуспиральной ДНК. Гиперхромный эффект свидетельствует о частичном разрушении водородных связей между нуклеотидными парами двойной спирали и о локальном разделении цепей двойной спирали (аллостерическое конформационное изменение). В эксперименте установлено, что разделение цепей (плавление) свободной синтетической ДНК происходит при температуре  $+69,5^{\circ}\text{C}$ . В системе ДНК с пептидом AEDG плавление спирали произошло при  $+28^{\circ}\text{C}$  и характеризовалось снижением показателей энтропии и энтальпии процесса примерно в 2 раза (рис. 26).

Этот важный факт указывает на практическую возможность термодинамически облегченного пути разделения цепей ДНК при температурном режиме, характерном для биохимических реакций большинства живых ор-

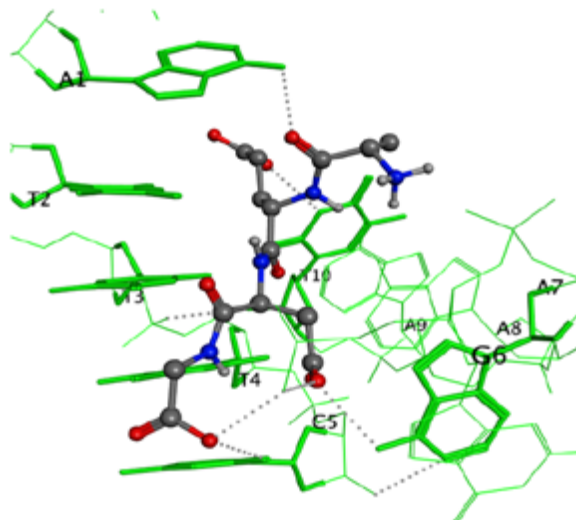
ганизмов. Это свидетельствует также о том, что разделение цепей ДНК при физиологической температуре не является денатурацией и характерно для инициации процесса синтеза белка.



**Рис. 26.** Схема локального разделения цепей [поли(dA-dT):поли(dA-dT)] в результате связывания пептида AEDG в большой канавке двойной спирали ДНК [40]

Полученные теоретические и экспериментальные результаты позволили предложить модели взаимодействия пептидов с участками ДНК [118]. Они указывают на образование стабильного ДНК-пептидного комплекса [61]. Анализ основных физико-химических параметров комплекса (число водородных связей, гидрофобные и электростатические взаимодействия, энергия минимизации комплекса ДНК-пептид) был выполнен с помощью молекулярного моделирования и позволил определить количественные характеристики ДНК-пептидного комплекса [Molecular Operating Environment; Chemical Computing Group Inc (2012) 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2012]. На основе данных расчетов создана трехмерная модель взаимодействия пептида AEDG с участком ДНК АТТТС (рис. 27).

Смоделированное специфическое связывание пептидов с олигонуклеотидами может иметь важное значение для понимания эпигенетического меха-

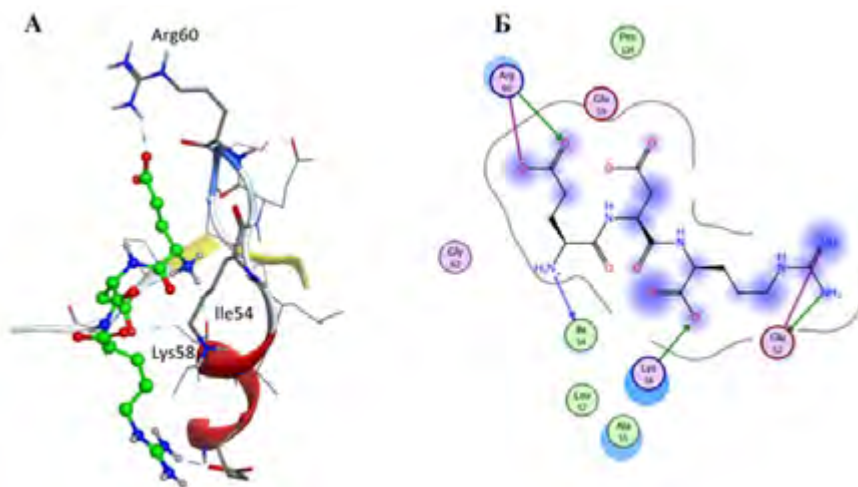


**Рис. 27.** Взаимодействие пептида AEDG с азотистыми основаниями ДНК (последовательность АТТТС). Пунктиром обозначены водородные связи между атомами пептидов и ДНК жирными линиями выделены азотистые основания ДНК образующие с пептидом водородные сети. Молекула ДНК обозначена зеленым цветом, синим цветом выделены атомы азота, красным – кислорода, а серым – атомы углерода [61]

низма регуляции экспрессии генов [128]. Взаимодействие коротких пептидов именно с одноцепочечными участками ДНК может направленно контролировать экспрессию генов. Кроме того, связывание коротких пептидов с ДНК сопровождается локальным расплетением цепей ДНК, что может приводить к появлению одנותяжевых мишеней для связывания пептидов с ДНК.

Также установлено, что короткие пептиды модулируют действие эндонуклеаз [64]. Вероятно, модуляция пептидами действия эндонуклеаз происходит благодаря сайт-специфическому связыванию пептид-ДНК, которое защищает ДНК от ферментативного гидролиза. Модуляция действия эндонуклеаз пептидами в свою очередь регулируется гистонами. Гистоны хроматина в ядре могут влиять на связывание коротких пептидов с ДНК. Наряду с этим некоторые пептиды, по-видимому, могут контролировать гидролиз ДНК эндонуклеазами и на уровне взаимодействия пептида с ферментом [35].

По данным молекулярного моделирования пептид EDR связывается преимущественно с гистонами H1.1, H1.3 и H1.6 в участке, образованном остатками Tyr, His, Arg, Lys, локализованными в петлях. На рисунке 28 показан энергетически наиболее выгодный вариант гистон-пептидного взаимодействия [35].



**Рис. 28.** Взаимодействие пептида EDR с гистоном H 1.3 в трехмерном (А) и двухмерном (Б) изображении [35]

Предполагается, что пептиды предпочтительно связываются с гистонами по сайтам, богатым положительно заряженными остатками аргинина и лизина, которые в большом количестве содержатся в N-концевых участках гистонов. Возможно, в этих сайтах происходит конкурентное связывание пептидов и других регуляторных факторов с гистонами. Таким образом, связывание пептида с гистонами может служить дополнительным механизмом, через который реализуется биологический эффект.

Изучение биологической активности пептидов на различных структурных уровнях и исследование физико-химических процессов их взаимодействия показало несомненную физиологическую активность пептидных регуляторов и перспективность их дальнейшего использования. Основным выводом явилось то, что пептиды обладают способностью регулировать экспрессию генов и синтез белков (табл. 5).

**Табл. 5.** Пептидная регуляция экспрессии генов и синтеза белков (на примере клеток поджелудочной железы) [116]

Объект исследования	Пептид	Гены	Белки
Культура клеток поджелудочной железы человека <i>in vitro</i> (повышение функций железы)	KEDW	<i>Pdx1, Ngn3, Mnx1, Pax6, FoxA2, Nkx 2.2, Nkx6.1, Pax4</i>  изменение экспрессии в 1,5-2,7 раза	PDX1, NGN3, MNX1, PAX6, FOXA2, NKX 2.2, NKX6.1, PAX4  изменение синтеза в 1,3-3,2 раза

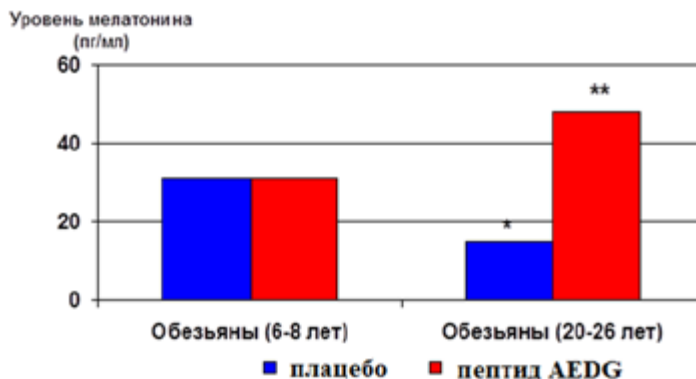
В исследованиях установлена высокая биологическая активность и безопасность синтезированных пептидов [21, 44]. Так, введение пептидов KE, AEDG животным способствовало уменьшению частоты развития опухолей и увеличению средней продолжительности жизни [8, 41, 42, 77].

Пептид AEDP стимулировал регенерацию нерва [44], пептид KEDW снижал уровень глюкозы в крови у животных с экспериментальным сахарным диабетом [39], пептид AED увеличивал плотность костной ткани [30], пептид AEDL способствовал восстановлению функций клеток бронхиального эпителия [117].

Следует сделать вывод, что физиологически активные пептиды обладают, как правило, тканеспецифической активностью и перспективны для создания на их основе новых лекарственных препаратов для биорегулирующей терапии [37, 40].

## ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ У ОБЕЗЬЯН

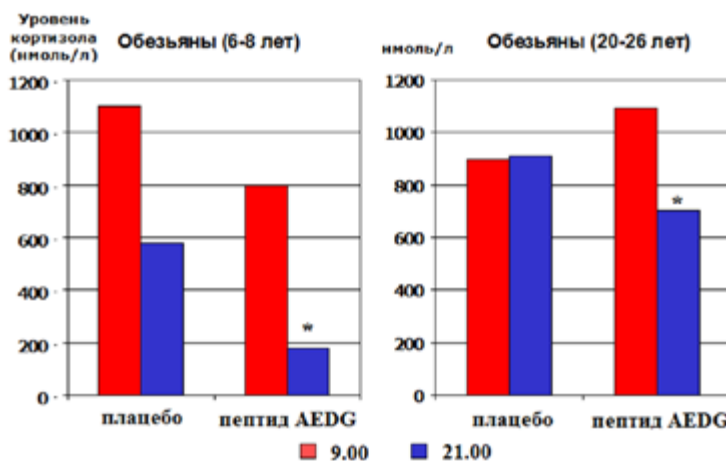
Учитывая значительную биологическую активность пептидов, целесообразным явилось изучение пептидных регуляторов у обезьян (макак резусов, *Macaca mulatta*) [9]. Значительным достижением оказался результат полного восстановления уровня секреции мелатонина до нормы молодых животных (6–8 лет) у старых обезьян (20–26 лет) после курсового введения пептида эпифиза (рис. 29) [9, 106].



**Рис. 29.** Влияние пептида эпифиза на продукцию мелатонина у обезьян различного возраста [40]

\* -  $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой молодых животных (плацебо)  
 \*\* -  $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой старых животных (плацебо)

У этих же старых обезьян после введения пептида AEDG восстановился до нормы суточный ритм секреции основного гормона надпочечников – кортизола (рис. 30). Введение пептида AEDG или комплексного препарата эпифиза эпиталамина старым животным привело также к восстановлению нарушающейся при старении толерантности к глюкозе. Нормализующее действие пептидов эпифиза на функцию островкового аппарата поджелудочной железы и метаболизм глюкозы, по-видимому, связано с восстановлением как чувствительности бета-клеток к уровню глюкозы в крови, так и периферических тканей к инсулину [9, 106].



**Рис. 30.** Влияние пептида AEDG на продукцию кортизола у обезьян различного возраста (в разное время суток) [40]

\* -  $p < 0,05$  в сравнении с соответствующим показателем у животных контрольной группы (плацебо)

В связи с полной корреляцией механизмов старения у приматов и человека логичным явилось в дальнейшем использование пептидов эпифиза для коррекции функции пинеальной железы, продуцирующей мелатонин, островкового аппарата поджелудочной железы и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы у людей старших возрастных групп.

Важные результаты были получены при изучении эффекта нейропротекторного трипептида EDR у 13-летних макак-резусов. После перорального применения пептида у обезьян сократилась длительность обучения (в 1,5 раза по сравнению с контрольными показателями) и повысилась устойчивость внимания при выполнении поиска информативного признака в зрительных стимулах. Это выражалось в повышении коэффициента корреляции между числом реакций сосредоточения перед осуществлением выбора стимула и успешностью выполнения последующего задания [19], что указывает на возможность повышения функции мозга при использовании пептида.

Таким образом, результаты изучения биологически активных пептидов, полученные у обезьян, позволяют рассматривать дальнейшее изучение этих препаратов в качестве средств, способных предупреждать и нормализовать возрастные нарушения у людей.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ У ЛЮДЕЙ

Учитывая статистически значимые результаты экспериментальных исследований пептидных препаратов у животных, а также отсутствие у них побочных эффектов, логичным явилось проведение клинических исследований у людей [43, 115, 126]. Созданные 6 лекарственных препаратов (тималин–пептидный комплекс из тимуса, кортексин – из мозга, ретиналамин – из сетчатки глаза, эпиталамин – из эпифиза мозга, сампрост – из простаты, тимоген–синтетический дипептид) после широкомасштабного клинического изучения были разрешены Минздравом для медицинского применения.

Введение препарата тимуса (тималина) было эффективным у больных после тимэктомии по поводу опухолей тимуса. Через 6–18 мес. после операции у пациентов развивалось тяжелое иммунодефицитное состояние, которое выражалось в резком увеличении частоты респираторных вирусных инфекций, возникновении повторных пневмоний, появлении фурункулеза, снижении способностей тканей к регенерации, появлении признаков преждевременного старения (ослабление тургора кожи, поседение волос, увеличение массы жировой ткани, нарушение функции эндокринной системы и т.д.). Этим пациентам вводили только тималин без других лекарственных препаратов. После курса лечения препаратом отмечено восстановление показателей клеточного иммунитета, исчезновение фурункулеза, усиление мышечного тонуса. Впоследствии наблюдалось значительное снижение

частоты вирусных заболеваний и пневмоний. Повторные курсы препарата проводились через 6–8 мес. Эти больные получали лекарственные препараты тимуса: тималин или его синтетический аналог – тимоген в течение 15–20 лет. Следует подчеркнуть, что применение препаратов тимуса у этих пациентов явилось жизненно важным методом лечения [16, 43]. Особенная ценность этого исследования заключалась в том, что обнаружена полная корреляция результатов клинического изучения пептидов тимуса с позитивными данными при их введении животным после удаления тимуса [48].

Применение пептидных препаратов тимуса (тималин, тимоген, вилон) оказалось эффективным при многих заболеваниях и состояниях, связанных со снижением клеточного иммунитета и фагоцитоза: при лучевой терапии и химиотерапии у онкологических больных, при острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях, использовании массивных доз антибиотиков, при угнетении процессов регенерации в посттравматическом и послеоперационном периоде в случаях различных осложнений, при облитерирующих заболеваниях артерий конечностей, при хронических заболеваниях печени, предстательной железы, в комплексном лечении некоторых форм туберкулеза, лепры [43, 48, 111].

Значительная нейропротекторная активность отмечена при введении комплексного пептидного препарата кортексина, выделенного из коры головного мозга телят. Этот препарат улучшает процессы памяти, стимулирует репаративные процессы в головном мозге, ускоряет восстановление его функций после стрессорных воздействий. Препарат эффективен при черепно-мозговой травме, нарушениях мозгового кровообращения, вирусных и бактериальных нейроинфекциях, энцефалопатиях различного генеза, острых и хронических энцефалитах и энцефаломиелитах. Особенно высокая эффективность пептидного препарата мозга отмечена у лиц пожилого и старческого возраста [43, 48].

Существенной клинической эффективностью обладает комплексный пептидный препарат ретиналамин, выделенный из сетчатки глаза животных. Этот уникальный препарат был создан впервые в мировой медицинской практике и применен у больных при различных дегенеративных заболеваниях сетчатки, в том числе при диабетической ретинопатии, инволюционной дистрофии, пигментной дегенерации сетчатки и при другой патологии. Важно отметить, что препарат обладает способностью восстанавливать электрическую активность сетчатки, что, как правило, коррелирует с улучшением функции зрения [31, 43, 45, 48].

Отчетливый эффект у пациентов отмечен после применения комплексного пептидного препарата сампрост (простатилен), выделенного из предстательной железы животных. Препарат оказался эффективным при хроническом простатите, аденоме, осложнениях после операций на предстательной железе, а также при различных возрастных нарушениях функции простаты [43, 48].

Большой интерес вызвало клиническое изучение эпиталамина – комплексного пептидного препарата, выделенного из эпифиза. Проведено несколько клинических исследований по изучению его геропротекторного действия. Важным явилось уникальное 15-летнее клиническое исследование эпиталамина в Институте геронтологии Национальной академии медицинских наук Украины (Киев). До начала клинического исследования, а также в течение дальнейшего периода наблюдения дважды в год все участники (контрольной и исследуемой групп, в которые входили пациенты обоего пола в возрасте 60–69 лет) проходили медицинское обследование. Результаты этого исследования свидетельствовали о статистически значимом снижении смертности пациентов, которые получали эпиталамин, по сравнению с контрольной группой, где применяли только базовую терапию [17].

Фактически к окончанию периода наблюдения (15 лет) были живы 16 из 40 пациентов контрольной группы (40%) и 26 из 39 (66,7%), которые получали эпиталамин. Учитывая важность этого наблюдения, приводим оригинал протокола клинического исследования (табл. 6). Из протокола следует, что статистически значимые различия между группами пациентов, получавших препарат эпифиза, и контролем выявлялись только, начиная с 12 года наблюдения и до конца – 15 года.

**Табл. 6.** Протокол клинического изучения эпиталамина (15-летнее наблюдение)

Срок от начала наблюдения, годы	Годы	Контрольная группа (базисная терапия ИБС, n=40) живы	Исследуемая группа (эпиталамин и базисная терапия ИБС, n=39) живы	Значение критерия Хи-квадрат	Уровень значимости критерия Хи-квадрат	Значение критерия Фишера	Уровень значимости критерия Фишера
0	1992-1993	40	39				
1	1993-1994	40	39				
2	1994-1995	40	39				
3	1995-1996	39	39				
4	1996-1997	37	38				
5	1997-1998	34	37		0,08		P>0,05
6	1998-1999	32	36				



Окончание таблицы 6

7	1999-2000	30	35				
8	2000-2001	29	34		0,105		P>0,05
9	2001-2002	26	32				
10	2002-2003	23	31	4,41	0,036	0,052	P>0,05
11	2003-2004	22	30				
<b>12</b>	2004-2005	<b>20</b>	<b>29</b>	<b>4,975</b>	<b>0,026</b>	<b>0,037</b>	<b>P&lt;0,05</b>
13	2005-2006	19	27				
14	2006-2007	18	27				
<b>15</b>	2007-2008	<b>16</b>	<b>26</b>	<b>5,639</b>	<b>0,018</b>	<b>0,02432</b>	<b>P&lt;0,05</b>

Для оценки значимости различий между контрольной группой и группой с применением эпиталамина, представлены расчеты по использованию статистических критериев  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йейтса, с поправкой на правдоподобие и точный критерий Фишера (табл. 7). Из таблицы 7 видно, что уровень значимости варьировал в пределах  $p < 0,05$  по всем изученным критериям.

**Табл. 7.** Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от вида лечения

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень значимости
Критерий $\chi^2$	5,639	P = 0,018
Критерий $\chi^2$ с поправкой Йейтса	4,619	P = 0,032
Критерий $\chi^2$ с поправкой на правдоподобие	5,712	P = 0,017
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,02432	P < 0,05

Следует особенно отметить, что снижение смертности пациентов, получавших препарат эпифиза, было связано с улучшением основных изучаемых показателей в различных системах организма: иммунной, эндокринной, сердечно-сосудистой, мозга [16]. Эти результаты являются доказательством положительного влияния эпиталамина на качество жизни людей старшего возраста.

В другом клиническом исследовании представлены результаты оценки влияния препаратов эпиталамина и тималина, которые пациентки (66–94 лет) получали курсами в течение 2 лет. Применение биорегуляторов осу-

ществлялось на фоне стандартного лечения, которое назначалось в соответствии с диагнозом [55].

Отдельную группу составили 20 пациентов (10 мужчин и 10 женщин), которые получали курсами оба пептидных препарата в течение 6 лет. Результаты наблюдений показали, что введение тималина приводило к статистически значимому снижению острых респираторных заболеваний и торможению развития деформирующего остеоартроза, причем как по сравнению с исходными показателями этих пациенток ( $p < 0,05$ ), так и при сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Статистически значимым эффектом эпиталамина по сравнению с исходными данными и контрольной группой было снижение частоты развития ишемической болезни сердца и деформирующего остеоартроза. При совместном применении биорегуляторов у пациентов обоего пола в течение 6 лет был отмечен существенный клинический эффект. Это выражалось в снижении частоты ОРЗ, ИБС, гипертонической болезни и деформирующего артроза по сравнению с исходными показателями у этих пациентов ( $p < 0,05$ ) [55]. В исследовании различия по уровню смертности между контрольной и исследуемой группами были представлены в процентном соотношении [55]. Проводя перерасчет данных в абсолютные значения, получены также статистически значимые различия (по критерию Фишера), которые приведены в таблице 8. Таким образом, было получено подтверждение статистически значимого снижения смертности у всех пациентов при приеме пептидных препаратов по сравнению с контрольной группой.

**Табл. 8.** Влияние тималина (Т) и эпиталамина (Э) на уровень смертности пациентов

Показатель	Контроль	Тималин	Эпиталамин	Т+Э	Т+Э
		Применение в течение 2 лет			Применение в течение 6 лет
Количество пациентов	22	24	24	24	20
Смертность, %	81,8%	41,7%*	45,8%*	33,3%**	20,0%**
Смертность, абсолютные числа	18	10##	11#	8###	4###

Различия статистически значимы при \* $p < 0,03$  и \*\* $p < 0,001$  по критерию Стьюдента [55].  
Различия статистически значимы по критерию Фишера: # $p = 0,011$ ; ## $p = 0,005$ ; ### $p = 0,001$

Одним из основных механизмов геропротекторного действия эпиталамина, как известно, является его способность подавлять свободно-радикальные процессы в организме человека и животных [69]. Поэтому изучение влияния эпиталамина на уровень содержания гормона эпифиза мелатонина (одного из наиболее сильных антиоксидантов) в крови пациентов старших возрастных групп имело принципиальное значение для разработки реко-

мендаций по клиническому применению этого препарата. Так, оказалось, что 5-кратное введение эпیتالамина (каждые 3 дня) способствовало увеличению концентрации мелатонина в крови у пациентов (возраст 60–74 года) (рис. 31) [15, 40]. Эти результаты свидетельствуют о модулирующем воздействии эпیتالамина на функциональную активность эпифиза.

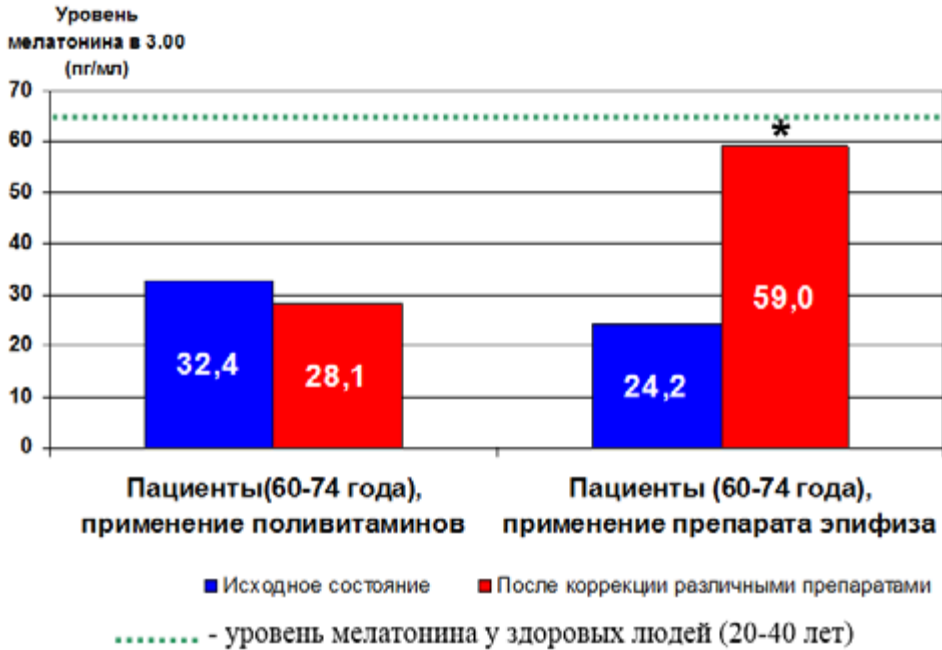


Рис. 31. Влияние препарата эпифиза на уровень мелатонина в крови пожилых людей [40]  
\* $p < 0,05$  по сравнению с исходным показателем

Помимо влияния на функцию эпифиза, применение эпیتالамина приводило к устойчивости организма пациентов к стрессорным воздействиям [21, 48], оказывало нормализующее действие на углеводный обмен [9, 43].

Гипогликемическое действие препарата эпифиза было обусловлено возрастанием секреции инсулина, которое сочеталось с повышением чувствительности периферических тканей к инсулину. После лечения этим препаратом больных инсулиннезависимым сахарным диабетом с гипертонической болезнью отмечалось снижение артериального давления и восстановление диастолической функции миокарда [43, 48].

Значительный лечебный эффект после применения препарата эпифиза был отмечен у женщин с климактерической миокардиодистрофией, что коррелировало с нормализацией у них показателей иммунной и эндокринной систем [48, 105]. Эффективность препарата эпифиза обнаружена при лечении больных аспириновой астмой, а также у пациентов с астеническим состоянием [43, 105].

Таким образом, многолетнее изучение и применение пептидных препаратов эпифиза, тимуса, мозга, сетчатки, простаты показало их высокую эффективность у пациентов различных возрастных групп, но особенная эффективность была отмечена у лиц старшего возраста (старше 60 лет). Безусловным достоинством этой группы пептидных биорегуляторов-геропротекторов является отсутствие каких-либо побочных реакций. Необходимо подчеркнуть, что в течение длительного периода (1980–2019 гг.) эти препараты получили более 15 млн. человек с различной патологией. Эффективность применения составляла в среднем 75–85%.

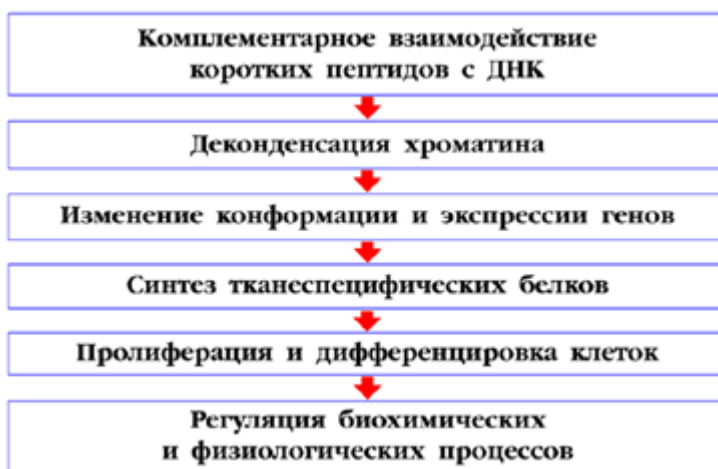
Представленные (в кратком изложении) результаты клинических исследований открывают большие перспективы для профилактики и терапии различной возрастной патологии и для увеличения ресурса организма человека.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

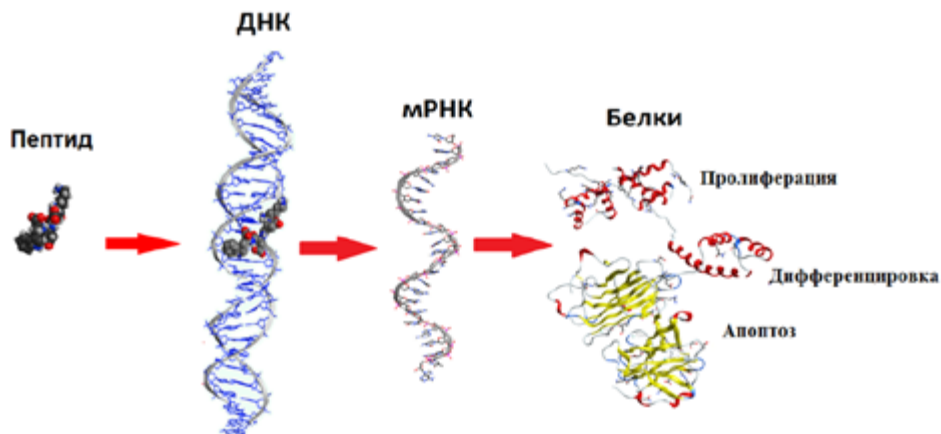
Возможность увеличения продолжительности жизни человека до видового предела (105-120 лет) является актуальной задачей современной биологии и медицины. Биологический резерв продолжительности жизни людей в современном мире не реализуется полностью вследствие воздействия различных неблагоприятных факторов (стрессы, нарушение биоритма, нерациональное питание, гиподинамия, неблагоприятная экологическая ситуация, воздействие электромагнитных полей и других типов излучений и т.п.). Все это приводит к изменению экспрессии генов и синтеза белков, нарушению функций нервной, иммунной, эндокринной, сердечно-сосудистой и других систем организма, снижению качества и сокращению продолжительности жизни.

Одним из научно обоснованных методов повышения качества и продолжительности жизни человека является применение пептидных биорегуляторов. Важная роль в этом отводится оценке эффективности применения пептидных препаратов для профилактики заболеваний, при различных патологических состояниях, а также в качестве геропротекторных средств.

Анализ результатов многолетних научных исследований влияния пептидов на 17 видах организмов позволил предложить концепцию о едином механизме пептидергической регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе. Короткие пептиды способны проникать в клетку и ядро [34]. Комплементарное взаимодействие коротких пептидов с промоторными зонами генов является сигналом для транскрипции и трансляции [60, 62]. Цепь этих процессов приводит к нормализации функций различных органов и увеличивает жизненный ресурс организма (рис. 32, 33).



**Рис. 32.** Схема пептидной регуляции экспрессии генов, синтеза белков и функций клеток, органов и организма [40]



**Рис. 33.** Предполагаемый механизм пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в клетке [53]

В многочисленных экспериментах, в которых изучалось влияние пептидов на экспрессию генов растений, насекомых, грызунов, человека, а также на дифференцировку клеток птиц и земноводных, на эндокринную систему приматов и функции различных органов и систем человека, выявлен сходный эффект увеличения ресурса жизнедеятельности организмов. Это может быть связано с единым механизмом регуляции пептидами экспрессии генов и синтеза белков в живой природе. Учитывая результаты представленных исследований и их значимость для биологии и медицины, нами было дано определение жизни «как процесса обмена и воспроизведения генетической информации, возникающего в результате взаимодействия генов и факторов их регуляции» [27].

Анализ результатов 45-летних теоретических, экспериментальных и клинических исследований физиологической активности пептидов и их взаимодействия с ДНК привёл к некоторым философским обобщениям, что в качестве гипотезы представляется возможным изложить в заключении монографии.

Единый механизм пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе, выявленный в представленных исследованиях, позволяет выдвинуть следующую гипотезу: этот механизм является универсальным для возникновения и поддержания жизни во всем космическом пространстве. Это следует из общности химических элементов в составе космической материи и на Земле. Так, основными элементами для синтеза аминокислот являются кислород, водород, азот, углерод, которые обнаружены практически на всех природных космических объектах. Более того, в метеоритах, упавших на Землю в различных регионах и исследуемых в космосе, найдены такие же аминокислоты, как и на Земле [102].

Следует указать на публикацию, где приведено описание синтеза пептидов, необходимых для возникновения и развития жизни, из простых молекул и воды в «мягких» условиях, которые могли быть на ранних этапах эволюции Земли [85]. По мнению авторов, возможно, существует связь между окислительно-восстановительными реакциями, которые происходили в то время на Земле, с условиями протекания процесса синтеза пептидов. Это в значительной степени может приблизить понимание, как появилась жизнь на Земле.

Молекулы ДНК и РНК также состоят из кислорода, водорода, азота, углерода, фосфора, которые присутствуют на Земле и в космосе. Вполне вероятно, что в течение миллиардов лет при одномоментном стечении многих факторов (температура, давление, энергия, водная среда, pH и многое другое) и соответствующих условий из этих химических элементов могут образовываться молекулы аминокислот, пептидов, а также нуклеотиды и ДНК.

Возникновение этих молекул (пептиды, ДНК/РНК) может явиться базой для появления жизни, аналогичной земной, и на других планетах. Для некоторых видов спор бактерий, в состав которых входят ДНК и/или РНК и различные белки, экспериментально доказана возможность длительного существования в космосе. Эти бактерии могли являться транспортерами информационных молекул (ДНК, РНК, аминокислоты) в космическом пространстве и способствовать развитию жизни [87]. Исследование взаимодействия аминокислот, пептидов с ДНК и РНК является важнейшим научным направлением для понимания процессов жизни и ее регуляции.

Возникает ещё один актуальный вопрос: что с точки зрения физико-химических процессов может регулировать экспрессию генов и соответствующий синтез белков у всех живых организмов? Другими словами, что влияет на реализацию генетической программы жизни: от рождения до смерти любого организма на Земле? Представляется вероятной следующая гипотеза: гравитационное поле (наряду с магнитным полем, различными излучениями и другими воздействиями) в земных условиях является важнейшим универсальным фактором, который оказывает регулирующее влияние на все живые организмы на Земле и на реализацию их генетической программы. Следовательно, изменение гравитационного поля Земли (в результате каких-либо катаклизмов) может привести к ускорению или замедлению реализации генетической программы и таким образом повлиять на продолжительность жизни любых организмов. Из этого может следовать логический вывод: при длительном пребывании организмов в космическом пространстве в условиях значительного уменьшения силы гравитации будет замедляться реализация генетической программы старения, и продолжительность жизни, соответственно, может возрастать. Но ответ на этот вопрос человечество узнает только в будущем.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность  
академикам РАН А.И. Григорьеву, В.Т. Иванову,  
С.Г. Инге-Вечтомову, Ф.И. Комарову, Е.А. Корневой, Б.А.  
Лапину, А.Д. Ноздрачеву, М.А. Пальцеву, Р.В. Петрову,  
Г.А. Софронову, В.А. Тутельяну,  
академикам НАМН Украины, членам-корреспондентам РАН  
О.В. Коркушко и Г.М. Бутенко, членам-корреспондентам РАН  
В.Н. Анисимову, Б.Ф. Ванюшину, Д.П. Дворецкому,  
профессорам А.В. Арутюняну, И.А. Винер-Усмановой,  
Н.Д. Гончаровой, Н.А. Касьяненко, И.М. Кветному, Т.В. Кветной,  
Б.И. Кузнику, В.В. Малинину, А.Т. Марьяновичу, В.О. Поляковой,  
Г.А. Рыжак, С.В. Трофимовой, Н.И. Чалисовой, Л.К. Шатаевой,  
П.П. Якуцени, докторам медицинских наук С.В. Анисимову  
Е.В. Бахидзе, А.В. Трофимову,  
докторам биологических наук В.В. Ашапкину,  
И.Б. Безпрозванному, А.В. Дудкову, Н.С. Линьковой, И.Г. Попович,  
доктору физико-математических наук М.Г. Петухову,  
кандидатам медицинских наук И.Э. Бондареву, С.В. Серому,  
кандидатам биологических наук А.Г. Голубеву, О.М. Ивко,  
Е.О. Кожевниковой, О.Н. Михайловой, С.И. Тарновской  
и зарубежным коллегам профессорам Т.А. Лежаве (Грузия),  
А.И. Яшину (США), J. Atzpodien (Германия),  
K.R. Boheler (США), S. Caputi (Италия), С. Franceschi (Италия),  
E. Lakatta (США), J. Martinez (Франция), M. Passeri (Италия),  
M. Ratajczak (США) за многолетнюю поддержку,  
важные рекомендации и большую помощь  
в реализации пептидного проекта.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения (в 2-х т.). СПб.: Наука, 2008. Т. 1. 481 с. Т. 2. 434 с.
2. *Анисимов В.Н., Локтионов А.С., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Увеличение продолжительности жизни и снижение частоты опухолей у мышей при введении полипептидных факторов тимуса и эпифиза, начатом в разном возрасте // Докл. АН СССР. 1988. Т. 302, № 2. С. 473–476.
3. *Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х.* Влияние полипептидного препарата эпифиза на продолжительность жизни и частоту спонтанных опухолей у старых самок крыс // Докл. АН СССР. 1991. Т. 319, № 1. С. 250–253.
4. *Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г.* Роль пептидов эпифиза в регуляции гомеостаза: двадцатилетний опыт исследования // Успехи совр. биол. 1993. Т. 113, вып.6. С. 752–762.
5. *Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Дильман В.М.* Снижение порога чувствительности гипоталамо-гипофизарной системы к действию эстрогенов под влиянием экстракта эпифиза у старых самок крыс // Докл. АН СССР. 1973. Т.213, № 2. С. 483–485.
6. *Ашаркин В.В., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х., Ванюшин Б.Ф.* Эпигенетические механизмы пептидергической регуляции экспрессии генов при старении клеток человека // Биохимия. 2015. Т. 80, Вып. 3. С. 374–388.
7. *Баранов В.С., Глотов О.С., Баранова Е.В.* Новые генетические и эпигенетические подходы в геронтологии // Успехи геронтол. 2014. Т.27, № 2. С. 247-256.
8. *Виноградова И.А., Букалев А.В., Забежинский М.А.* и др. Геропротекторный эффект пептида ALA-GLU-ASP-GLY у самцов крыс, содержащихся при разных режимах освещения // Бюл. экспер. биол. мед. 2008. Т. 145, № 4. С. 455–460.
9. *Гончарова Н.Д., Хавинсон В.Х., Лапин Б.А.* Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). СПб.: Наука, 2007. 168 с.
10. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978. 293 с.
11. *Дудков А.В.* Пептидная регуляция каспаза-зависимого апоптоза при клеточном старении // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 2. С. 1–11.
12. *Заморский И.И., Щудрова Т.С., Линькова Н.С.* и др. Пептиды восстанавливают функциональное состояние почек при цисплатиновой острой почечной недостаточности // Бюл. экспер. биол. мед. 2015. Т. 159, № 6. С. 708–712.
13. *Караулов А.В., Калужный О.В.* Иммуноterapia инфекционных болезней: проблемы и перспективы // Терапевтический архив. 2013. Т. 159, № 6. С. 100-108.

14. *Кветной И.М., Пальцев М.А.*, Общие принципы клеточной сигнализации // Руководство по нейроиммуноэндокринологии / Под ред. Пальцев М.А., Кветной И.М. Москва, 2014. С. 24–37.

15. *Коркушко О.В., Латин Б.А., Гончарова Н.Д.* и др. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 1. С. 74–85.

16. *Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М., Шатило В.Б.* Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002. 202 с.

17. *Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б., Антонюк-Щеглова И.А.* Пептидный геропротектор из эпифиза замедляет ускоренное старение пожилых людей: результаты 15-летнего наблюдения // Бюл. exper. биол. мед. 2011. Т.151, № 3. С.343–347.

18. *Красковская Н.А., Куканова Е.О., Линькова Н.С.* и др. Трипептиды восстанавливают количество шипиков нейронов в модели болезни Альцгеймера in vitro // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2017. № 2. С. 101–104.

19. *Кузнецова Т.Г., Голубева И.Ю., Трофимова С.В.* и др. Влияние трипептида пинеалона на реабилитацию когнитивных функций в процессе старения на примере макак резусов (*Macaca mulatta*). Вестник Московского университета. Серия XXIII, Антропология. 2019. № 1. С. 62–73.

20. *Кузник Б.И., Давыдов С.О., Поправка Е.С.* и др. Эпигенетические механизмы пептидной регуляции и нейропротекторный белок FKBP1b // Молекулярная биология. 2019. Т.53, № 2. С. 339–348.

21. *Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Цитомедины: 25-летний опыт экспериментальных и клинических исследований. СПб.: Наука, 1998. 310 с.

22. *Линькова Н.С., Полякова В.О., Кветной И.М.* Единый механизм моделирования межклеточного матрикса в ткани тимуса и эпифиза при старении // Успехи геронтол. 2011. Т. 24, № 3. С. 420–422.

23. *Линькова Н.С., Полякова В.О., Трофимов А.В.* и др. Пептидергическая регуляция дифференцировки, пролиферации и апоптоза тимоцитов при старении вилочковой железы // Бюл. exper. биол. мед. 2011. Т. 151, № 2. С. 203–206.

24. *Линькова Н.С., Трофимов А.В., Дудков А.В.* Пептиды эпифиза и коры головного мозга стимулируют дифференцировку полипотентной эмбриональной ткани // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2011. № 2. С. 97–98.

25. *Михальский А.И., Семенченко А.В., Анисимов В.Н., Яшин А.И.* Старение и смертность грызунов // Геронтология in silico становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г.И. Марчука и др. М. Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. С. 376–374.

26. *Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Выделение из костного мозга, лимфоцитов и тимуса полипептидов, регулирующих процессы межклеточной коммуникации в системе иммунитета // Докл. АН СССР. 1981. Т.261, № 1. С. 235–239.
27. *Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем – цитомедины // Успехи соврем. биол. 1983. Т. 96, вып. 3(6). С. 339–352.
28. *Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Роль клеточных медиаторов (цитомединов) в регуляции генетической активности // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1985. № 4. С. 581–587.
29. *Ноздрачев А.Д., Марьянович А.Т., Поляков Е.Л.* и др. Нобелевские премии по физиологии или медицине за 100 лет. СПб.: Гуманистика, 2002. 688 с.
30. *Поворознюк В.В., Хавинсон В.Х., Макогончук А.В.* и др. Изучение влияния пептидных регуляторов на структурно-функциональное состояние костной ткани крыс при старении // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 2. С. 134–137.
31. *Трофимова С.В., Хавинсон В.Х.* Сетчатка и старение // Успехи геронтол. 2002. Вып. 9. С. 79–82.
32. *Фролькис В.В., Мурадян Х.К.* Старение, эволюция и продление жизни. Киев: Наук. Думка, 1992. 336 с.
33. *Федореева Л.И., Диловарова Т.А., Ашапкин В.В.* и др. Короткие экзогенные пептиды регулируют экспрессию генов семейств CLE, KNOX1 и GRF у *Nicotiana tabacum* // Биохимия. 2017.Т. 82, вып. 4. С. 700–709.
34. *Федореева Л.И., Киреев И.И., Хавинсон В.Х., Ванюшин Б.Ф.* Проникновение коротких флуоресцентно-меченных пептидов в цитоплазму и ядро в клетках HeLa и специфическое взаимодействие пептидов с дезоксирибоолигонуклеотидами и ДНК *in vitro* // Биохимия. 2011. Т. 76, вып. 11. С. 1505–1516.
35. *Федореева Л.И., Смирнова Т.А., Коломийцева Г.Я.* и др. Взаимодействие коротких пептидов с FITC-мечеными гистонами пшеницы и их комплексами с дезоксирибоолигонуклеотидами // Биохимия. 2013. Т. 78, Вып. 2. С. 230–242.
36. *Фридман Н.В., Линькова Н.С., Полякова В.О.* и др. Молекулярные аспекты геропротекторного действия пептида KE в культуре фибробластов кожи человека // Успехи геронтол. 2017. Т.30, №5. С. 698–702.
37. *Хавинсон В.Х.* Тканеспецифическое действие пептидов // Бюл. экспер. биол. мед. 2001. Т. 132, № 8. С. 228–229.
38. *Хавинсон В.Х.* Способ получения пептидов, обладающих тканеспецифической активностью, и фармацевтические композиции на их основе. Патент 2161501, РФ; 2001.
39. *Хавинсон В.Х.* Влияние тетрапептида на биосинтез инсулина у крыс с аллоксановым диабетом // Бюл. экспер. биол. мед. 2005. Т. 140, № 10. С. 453–456.

40. *Хавинсон В.Х.* Пептидная регуляция старения. СПб.: Наука, 2010. 50 с.
41. *Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н.* Синтетический дипептид вилон (L-Lys-L-Glu) увеличивает продолжительность жизни и угнетает развитие спонтанных опухолей у мышей // Докл. АН. 2000. Т. 372, № 3. С. 421–423.
42. *Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н.* Синтетический пептид эпифиза увеличивает продолжительность жизни и угнетает развитие опухолей у мышей // Докл. АН. 2000. Т. 373, № 4. С. 567–569.
43. *Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н.* Пептидные биорегуляторы и старение. СПб.: Наука, 2003. 223 с.
44. *Хавинсон В.Х., Анисимов С.В., Малинин В.В., Анисимов В.Н.* Пептидная регуляция генома и старение. М.: РАМН, 2005. 208 с.
45. *Хавинсон В.Х., Земчихина В.Н., Трофимова С.В., Малинин В.В.* Влияние пептидов на пролиферативную активность клеток сетчатки и пигментного эпителия // Бюл. экспер. биол. мед. 2003. Т. 135, № 6. С. 700–702.
46. *Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Ашмарин И.П.* Пептидергическая регуляция гомеостаза // Успехи соврем. биол. 2002. Т. 122, № 2. С. 190–203.
47. *Хавинсон В.Х., Копылов А.Т., Васьяковский Б.В.* и др. Идентификация пептида AEDG в полипептидном комплексе эпифиза // Бюл. экспер. биол. мед. 2017. Т. 164, № 7. С. 52–55.
48. *Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А.* Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А.И. Герцена, 2014. 271 с.
49. *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Кветной И.М.* и др. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции синтеза мелатонина в культуре пинеалоцитов // Бюл. экспер. биол. мед. 2012. Т. 153, № 2. С. 223–226.
50. *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Полякова В.О.* и др. Возрастная динамика дифференцировки иммунных клеток тимуса человека // Бюл. экспер. биол. мед. 2011. Т. 151. № 5. С. 569–572.
51. *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Полякова В.О.* и др. Тетрапептид H-Ala-Glu-Asp-Arg-OH стимулирует экспрессию белков цитоскелета и кариоскелета // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012. № 2. С. 88–91.
52. *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Полякова В.О.* и др. Пептиды тканеспецифически стимулируют дифференцировку клеток при их старении // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012. № 1. С. 34–37.
53. *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Тарновская С.И.* Короткие пептиды регулируют экспрессию генов // Бюл. экспер. биол. мед. 2016. Т. 162, № 8. С. 259–263.
54. *Хавинсон В.Х., Лопатина Н.Г., Чалисова Н.И.* и др. Трипептид модулирует условно-рефлекторную деятельность медоносной пчелы *Apis mellifera* L. // Фундаментальные исследования. Серия Биология. 2015. № 2. С. 492–496.
55. *Хавинсон В.Х., Морозов В.Г.* Геропротекторная эффективность тималина и эпителина // Успехи геронтол. 2002. Т. 10. С. 11–23.

56. Хавинсон В.Х., Проняева В.Е., Линькова Н.С., Трофимова С.В. Пептидергическая регуляция дифференцировки эмбриональных клеток сетчатки // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2013. № 1. С. 57–60.
57. Хавинсон В.Х., Севостьянова Н.Н., Дурнова А.О. и др. Тетрапептид стимулирует функциональную активность клеток поджелудочной железы при старении // Успехи геронтол. 2012. Т.25, №4. С. 680–684.
58. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Жилинский Д.В. и др. Эпигенетические аспекты пептидной регуляции старения // Успехи геронтол. 2012. Т. 25, № 1. С. 11–22.
59. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Тарновская С.И., Линькова Н.С. Механизм биологической активности коротких пептидов: проникновение в клетку и эпигенетическая регуляция экспрессии генов // Успехи соврем. биол. 2013. Т. 133, № 3. С. 310–316.
60. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Шатаева Л.К. Молекулярный механизм взаимодействия олигопептидов и двойной спирали ДНК // Бюл. экспер. биол. мед. 2006. Т. 141, № 4. С. 443–447.
61. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Шатаева Л.К. Плавление двойной спирали ДНК при связывании с геропротекторным тетрапептидом // Бюл. экспер. биол. мед. 2008. Т. 146, № 11. С. 560–562.
62. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. и др. Короткие пептиды, проникающие в клетку: модель взаимодействия с промоторными участками генов // Бюл. экспер. биол. мед. 2012. № 10. С. 391–396.
63. Хавинсон В.Х., Умнов Р.С., Линькова Н.С., Арутюнян А.В. Молекулярно-клеточные механизмы пептидергической регуляции функций мозга. М. : Наука, 2018. 224 с.
64. Хавинсон В.Х., Федорева Л.И., Ванюшин Б.Ф. Короткие пептиды моделируют действие эндонуклеаз из проростков пшеницы // Докл РАН. 2011. Т. 437, № 1. С. 124–127.
65. Хавинсон В.Х., Шатаева Л.К. Модель комплементарного взаимодействия олигопептидов с двойной спиралью ДНК // Мед. акад. журн. 2005. Т. 5, № 1. С. 15–23.
66. Черешнев В.А., Чистова Е.В. Выявление региональных особенностей старения населения России // Экономический анализ: теория и практика. 2017. Т. 16, № 12. С. 2206–2223.
67. Alexandrov V.A., Beshpalov V.G., Morozov V.G. et al. Study of the post-natal effects of chemopreventive agents on ethylnitrosourea-induced transplacental carcinogenesis in rats. II. Influence of low-molecular-weight polypeptide factors from the thymus, pineal glands, bone marrow, anterior hypothalamus, brain cortex and brain white substance // Carcinogenesis. 1996. Vol.17, № 8. P. 1931–1934.
68. Anisimov S.V., Boheler K.R., Khavinson V.Kh., Anisimov V.N. Elucidation of the effect of brain cortex tetrapeptideCortagen on gene expression in mouse heart by microarray // Neuroendocrinol. Lett. 2004. Vol. 25, № 1/2. P. 87–93.

69. *Anisimov V.N., Arutjunyan A.V., Khavinson V.Kh.* Effects of pineal peptide preparation Epithalamin on free-radical processes in humans and animals // *Neuroendocrinol. Lett.* 2001. Vol. 22. P. 9–18.

70. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh.* Small peptide-associated modulation of aging and longevity // *Modulating aging and longevity / S.I.S. Rattan (ed.)*. Kluwer Academic Publishers. 2003. P. 279–301.

71. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Mikhalski A.I., Yashin A.I.* Effect of synthetic thymic and pineal peptides on biomarkers of ageing, survival and spontaneous tumour incidence in female CBA mice // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122, № 1. P. 41–68.

72. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V.G.* Carcinogenesis and aging. IV. Effect of low-molecular-weight factors of thymus, pineal gland and anterior hypothalamus on immunity, tumor incidence and life span of C3H/Sn mice // *Mech. Ageing Dev.* 1982. Vol. 19. P. 245–258.

73. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V. G.* Twenty years of study on effect of pineal peptide preparation: epithalamin in experimental gerontology and oncology // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 483–493.

74. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V.G.* Effect of synthetic dipeptide Thymogen □ (Glu-Trp) on life span and spontaneous tumor incidence in rats // *The Gerontologist.* 1998. Vol. 38. P. 7–8.

75. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V.G.* Immunomodulatory peptide L-Glu-L-Trp slows down aging and inhibits spontaneous carcinogenesis in rats // *Biogerontology.* 2000. Vol. 1. P. 55–59.

76. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Popovich I.G.* et al. Effect of epitalon on biomarkers of aging, life span and spontaneous tumor incidence in female swiss-derived SHR mice // *Biogerontology.* 2003. № 4. P. 193–202.

77. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Popovich I.G., Zabezhinski M.A.* Inhibitory effect of peptide Epitalon on colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats // *Cancer Lett.* 2002. Vol. 183. P. 1–8.

78. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Provinciali M.* et al. Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in Her-2/NEU transgenic mice // *Int. J. Cancer.* 2002. Vol. 101. P. 7–10.

79. *Anisimov V.N., Loktionov A.S., Khavinson V.Kh., Morozov V.G.* Effect of low-molecular-weight factors of thymus and pineal gland on life span and spontaneous tumour development in female mice of different age // *Mech. Ageing Dev.* 1989. Vol. 49. P. 245–257.

80. *Anisimov V.N., Mylnikov S.V., Khavinson V.Kh.* Pineal peptide preparation epithalamin increases the lifespan of fruit flies, mice and rats // *Mech. Ageing Dev.* 1998. Vol. 103. P. 123–132.

81. *Arking R.* Biology of aging. Observations and principles. Sunderland: Sinauer. 1998. 486 p.

82. *Arutjunyan A., Kozina L., Khavinson V.* et al. Pineal protects the rat offspring from prenatal hyperhomocysteinemia // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2012. Vol. 5, N2. P. 179–185.

83. *Audhya T., Scheid M.P., Goldstein G.* Contrasting biological activities of thymopoietin and splenin, two closely related polypeptide products of thymus and spleen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984. Vol. 81, № 9. P. 2847–2849.
84. *Bellamy D.* The thymus in relation to problems of cellular growth and aging // *Gerontologia.* 1973. Vol. 19. P. 162–184.
85. *Canavelli P., Islam S., Powner M.W.* Peptide ligation by chemoselective aminonitrile coupling in water // *Nature.* 2019. Vol. 571, № 7766. P. 546–549. doi: 10.1038/s41586-019-1371-4.
86. *Caputi S., Trubiani O., Bruna S.* et al. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2019. Vol. 33. P. 1–12.
87. *Chiang A.J., Malli Mohan G.B., Singh N.K.* et al. Alteration of Proteomes in First-Generation Cultures of *Bacillus pumilus* Spores Exposed to Outer Space // *mSystems.* 2019. Vol. 4, № 4. pii: e00195-19. doi: 10.1128/mSystems.00195-19.
88. *Cox D.R., Oakes D.* Analysis of Survival Data. London: Chapman & Hall, 1996.
89. *Dilman V.M., Anisimov V.N., Ostroumova M.N.* et al. Increase in lifespan of rats following polypeptide pineal extract treatment // *Exp. Pathol.* 1979. Bd. 17, № 9. P. 539–545.
90. *Djeridane Y., Khavinson V.Kh., Anisimov V.N., Touitou Y.* Effect of synthetic pineal tetrapeptide (Ala-Glu-Asp-Gly) on melatonin secretion by the pineal gland of young and old rats // *J. Endocrinol. Invest.* 2003. Vol. 26, № 3. P. 211–215.
91. *Doyle M.J., Sussel L.* Nkx2.2 regulates  $\beta$ -cell function in the mature islet // *Diabetes.* 2007. Vol. 56. № 8. P. 1999–2007.
92. *Finch C.* Longevity, senescence and the genome. Chicago: Univ. of Chicago Press, 1990. 922 p.
93. *Frankel A.D., Pabo C.O.* Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus // *Cell.* 1988. Vol. 55. P. 1189–1193.
94. *Frolkis V.V.* On the regulatory mechanism of molecular-genetic alterations during aging // *Exp. Gerontol.* 1970. Vol. 5. P. 37–47.
95. *Gart J.J., Krewski D., Lee P.N.* et al. Statistical methods in cancer research // *IARC Sci Publ.* 1986. No. 79. P. 1–219.
96. *Goldstein G., Scheid M., Hammerling U.* et al. Isolation of a polypeptide that has Lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1975. Vol. 72, № 1. P. 11–15.
97. *Goncharova N.D., Vengerin A.A., Khavinson V.Kh., Lapin B.A.* Pineal peptides restore the age-related disturbances in hormonal functions of the pineal gland and the pancreas // *Exper. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 51–57.
98. *Hayflick L.* The future of ageing // *Nature.* 2000. Vol. 408. № 6809. P. 267–269.
99. *Hirokawa K.* The thymus and aging // *Immunology and aging* / T. Makinodan, E. Yunis. (eds.) New York, 1977. P. 5172.

100. *Ivanov V.T., Karelin A.A., Philippova M.M.* et al. Hemoglobin as a source of endogenous bioactive peptides: the concept of tissue-specific peptide pool // *Biopolymers*. 1997. Vol. 43, № 2. P. 171–188.

101. *Jacob F., Monod J.* Genetic regulation mechanisms in the synthesis of proteins // *J. Mol. Biol.* 1961. Vol.3. P. 318–356.

102. *Jenniskens P., Shaddad M.H., Numan D.* et al. The impact and recovery of asteroid 2008 TC3 // *Nature*. 2009. Vol. 458. P. 485–488.

103. *Kaplan E.L., Meier P.* Nonparametric estimation from incomplete observations // *JASA*. 1958. Vol. 53. P. 457–481.

104. *Karlin S., Altschul S.F.* Method for assessing the statistical significance of molecular sequence features by using general scoring schemes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990. Vol. 87, № 6. P. 2264–2268.

105. *Khavinson V. Kh.* Peptides and ageing // *Neuroendocrinol. Lett. Special Issue*. 2002. 144 p.

106. *Khavinson V.Kh., Goncharova N., Lapin B.* Synthetic tetrapeptide epitagon restores disturbed neuroendocrine regulation in senescent monkeys // *Neuroendocrinol. Lett.* 2001. Vol. 22. P. 251–254.

107. *Khavinson V.Kh., Lezhava T.A., Monaselidze J.R.* et al. Peptide Epitagon activates chromatin at the old age // *Neuroendocrinol. Lett.* 2003. Vol. 24, № 5. P. 329–333.

108. *Khavinson V.Kh., Linkova N.S., Kukanova E.O.* et al. Neuroprotective Effect of EDR Peptide in Mouse Model of Huntington Disease // *J. Neurol. Neurosci.* 2017. Vol. 8, № 1. P. 1–11.

109. *Khavinson V.Kh., Malinin V.V.* Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel (Switzerland): Karger AG, 2005. 104 p.

110. *Khavinson V.Kh., Mikhailova O.N.* Health and aging in Russia // *Global health and global aging* / M. Robinson et al. (eds.). 2007. P. 226–237.

111. *Khavinson V., Morozov V.* Peptides of pineal gland and thymus prolong human life // *Neuroendocrinol. Lett.* 2003. Vol. 24. № 3/4. P. 233–240.

112. *Khavinson V.Kh., Polyakova V.O., Linkova N.S.* et al. Peptides Regulate Cortical Thymocytes Differentiation, Proliferation, and Apoptosis // *J. Amino. Acids*. 2011. Vol. 2011: 517137. doi: 10.4061/2011/517137.

113. *Khavinson V., Popovich I.* Short Peptides Regulate Gene Expression, Protein Synthesis and Enhance Life Span // *Drug Discovery Series No. 57. Anti-aging Drugs: From Basic Research to Clinical Practice* / A.M. Vaiserman (ed.). 2017. P. 496–513.

114. *Khavinson V., Shataeva L., Chernova A.* DNA double-helix binds regulatory peptides similarly to transcription factors // *Neuroendocrinol. Lett.* 2005. Vol. 26. № 3. P. 237–241.

115. *Khavinson V.Kh., Solovieva D.V.* New approach to the prophylaxis and treatment of age-related pathology // *Rom. J. Gerontol. Geriatr.* 1998. Vol. 20, № 1. P. 28–34.



116. *Khavinson V.Kh., Tendler S.M., Kasyanenko N.A.* et al. Tetrapeptide KEDW Interacts with DNA and Regulates Gene Expression // *Am. J. Biomed. Sci.* 2015. Vol. 7, № 3. P. 156–169.
117. *Khavinson V.Kh., Tendler S.M., Vanyushin B.F.* et al. Peptide Regulation of Gene Expression and Protein Synthesis in Bronchial Epithelium // *Lung.* 2014. Vol. 192. P. 781–791.
118. *Kolchina N., Khavinson V., Linkova N.* et al. Systematic Search for Structural Motifs of Peptide Binding to Double-Stranded DNA // *Nucleic Acids Res.* 2019. Vol.47, № 20. P. 10553-10563. doi: 10.1093/nar/gkz850.
119. *Kvetnoy I.M., Reiter R.J., Khavinson V.Kh.* Claude Bernard was right: hormones may be produced by “non-endocrine” cells // *Neuroendocrinol. Lett.* 2000. Vol. 21. P. 173–174.
120. *Lezhava T.* Heterochromatization as a key factor in aging // *Mech. Ageing Dev.* 1984. Vol.28, № 2–3. P. 279–288.
121. *Lezhava T.* Human chromosomes and aging. From 80 to 114 Years. Nova Biomedical. New York. 2006. 177 p.
122. *Lindgren V., Hallbrink M.* Cell-penetrating peptides // *Trends. Pharmacol. Sci.* 2000. Vol. 21. P. 99–103.
123. *Lindgren M., Langel U.* Classes and prediction of cell-penetrating peptides // *Methods Mol. Biol.* 2011. Vol. 683. P. 3–19. doi: 10.1007/978-1-60761-919-2\_1.
124. *McKnight B., Crowley J.* Tests for differences in tumor incidence based on animal carcinogenesis experiments // *J. Am. Stat. Assoc.* 1984. Vol. 79. P. 639–648.
125. *Mechnikov I.* Etudes sur la nature humaine: essai de philosophie optimiste. Paris: Masson, 1903. 399 p.
126. *Morozov V.G., Khavinson V.Kh.* Natural and synthetic thymic peptides as therapeutics for immune dysfunction // *Int. J. Immunopharmacol.* 1997. Vol. 19, № 9/10. P. 501–505.
127. National Cancer Institute. Causes and Prevention: The genetics of cancer. 2017. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics>
128. *Tarone R.* Tests for trend in life table analysis // *Biometrika.* 1975. Vol. 62. P. 679–682.
129. *Vanyushin B.F., Khavinson V.Kh.* Short Biologically Active Peptides as Epigenetic Modulators of Gene Activity // *Epigenetics – A Different Way of Looking at Genetics / W. Doerfler, P. Böhm (eds.). Springer International Publishing. Switzerland. 2016. P. 69–90.*

*Монография*

Владимир Хацкелевич Хавинсон

## **ПЕПТИДЫ, ГЕНОМ, СТАРЕНИЕ**

*Утверждено к печати*

*Ученым советом Института физиологии им. И.П. Павлова РАН,  
Президиумом Геронтологического общества РАН,  
Ученым советом Санкт-Петербургского института  
биорегуляции и геронтологии*

Формат 70x90 1/8

Гарнитура Times

Усл.-п. л. 8,77. Уч.-изд. л. 2,42

Тираж 300 экз.

Издатель – Российская академия наук

Верстка и печать – УНИД РАН

Отпечатано в экспериментальной цифровой типографии РАН

Издается по решению Научно-издательского совета  
Российской академии наук (НИСО РАН)  
и распространяется бесплатно