

## С-ПЕПТИД ПРОИНСУЛИНА УЛУЧШАЕТ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС С ДИАБЕТОМ ТИПА 2 С НОРМАЛЬНЫМ, НО НЕ ПОВЫШЕННЫМ, УРОВНЕМ ИНСУЛИНА

К.В. Деркач\*, В.М. Бондарева, Н.Е. Басова, А.О. Шпаков

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН  
194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

При сахарном диабете 2-го типа (СД2) нарушаются функции инсулиновой системы мозга, что обусловлено ослаблением транспорта инсулина через гематоэнцефалический барьер вследствие инсулиновой резистентности. Для коррекции инсулинового дефицита в мозге может быть использован интраназально вводимый инсулин, действие которого усиливается интраназально вводимым С-пептидом. Целью работы было изучить влияние обработки крыс с гиперинсулинемичным и нормоинсулинемичным СД2 с помощью интраназально вводимого С-пептида (36 мкг/крысу/сут.), интраназально вводимого инсулина (20 мкг/крысу/сут.) и их комплекса на метаболические и гормональные показатели. При нормоинсулинемичном СД2 интраназально вводимый С-пептид ослаблял дефицит тиреоидных гормонов и усиливал восстанавливающие эффекты интраназально вводимого инсулина на чувствительность к глюкозе, инсулину и лептину. При гиперинсулинемичном СД2 интраназально вводимый С-пептид был неэффективен, а в комбинации с интраназально вводимым инсулином — ослаблял восстанавливающие эффекты последнего. Тем самым интраназально вводимый С-пептид и его комбинация с интраназально вводимым инсулином эффективны для восстановления метаболических и гормональных показателей при нормоинсулинемичном, но не гиперинсулинемичном СД2.

**Ключевые слова:** инсулин, С-пептид проинсулина, интраназальное введение, диабет 2-го типа, ожирение, тиреоидные гормоны

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** поддержано государственным заданием Минобрнауки России № 075-0152-22-00.

**Для цитирования:** Деркач К.В., Бондарева В.М., Басова Н.Е., Шпаков А.О. С-пептид проинсулина улучшает метаболические и гормональные показатели у крыс с диабетом типа 2 с нормальным, но не повышенным, уровнем инсулина. *Биомедицина*. 2022;18(3):90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-90-94>

Поступила 01.04.2022

Принята после доработки 13.04.2022

Опубликована 10.09.2022

## PROINSULIN C-PEPTIDE IMPROVES METABOLIC AND HORMONAL PARAMETERS IN RATS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS HAVING NORMAL BUT NOT ELEVATED INSULIN LEVELS

Kira V. Derkach\*, Vera M. Bondareva, Natalia E. Basova, Alexander O. Shpakov

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences  
194223, Russian Federation, Saint Petersburg, Thoreza Ave., 44

In type 2 diabetes mellitus (DM2), the impaired functions of the brain insulin system are associated with the weakened insulin transport through the blood-brain barrier due to insulin resistance. Insulin deficiency in the brain can be corrected by intranasal administration of insulin (II), whose effect may be enhanced by intranasal administration of C-peptide (ICP). In this work, we study the effect of treating hyperinsulinemic and normoinsulinemic DM2 rats with ICP (36 µg/rat/day), II (20 µg/rat/day) and ICP+II on metabolic and hormonal parameters. In normoinsulinemic DM2, ICP attenuated thyroid hormone deficiency and enhanced the restorative effects of II on glucose, insulin, and leptin sensitivity. In hyperinsulinemic DM2, ICP was ineffective, and its combination with II weakened the restorative effects of II. Thus, ICP and its combination with II are effective in restoring metabolic and hormonal parameters in normoinsulinemic, but not hyperinsulinemic, DM2.

**Keywords:** insulin, proinsulin C-peptide, intranasal administration, type 2 diabetes mellitus, obesity, thyroid hormones

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Funding:** state assignment of Ministry of Science and Higher Education No. 075-0152-22-00.

**For citation:** Derkach K.V., Bondareva V.M., Basova N.E., Shpakov A.O. Proinsulin C-peptide Improves metabolic and Hormonal Parameters in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus Having Normal but not Elevated Insulin Levels. *Journal Biomed.* 2022;18(3):90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-90-94>

Submitted 01.04.2022

Revised 13.04.2022

Published 10.09.2022

## Введение

В настоящее время распространение сахарного диабета 2-го типа (СД2) приобрело характер эпидемии. Основными его признаками являются инсулиновая резистентность (ИР), нарушенная толерантность к глюкозе, дислипидемия. Несмотря на прогресс в лечении СД2, применяемые фармакологические подходы не всегда эффективны и приводят к побочным эффектам [2]. Одной из причин нарушений при СД2 является ослабление инсулиновой сигнализации в мозге, что обусловлено дефицитом инсулина в ЦНС. При СД2 с гиперинсулинемией дефицит инсулина обусловлен нарушением его рецепторопосредуемого транспорта через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), как результат ИР [1]. При декомпенсированном СД2 с нормальной или немного сниженной продукцией инсулина дефицит инсулина в мозге также обусловлен нарушением его транспорта через ГЭБ и усугубляется на фоне недостаточности гормона в кровотоке.

При синтезе инсулина в  $\beta$ -клетках из молекулы проинсулина также образуется С-пептид, необходимый для правильной укладки молекулы инсулина и для сохранения его комплексов в активном состоянии [3]. С-пептид обеспечивает высокий уровень активности инсулиновых комплексов после секреции в кровоток и имеет собственную активность, хотя его сигнальные пути до конца не выяснены [3, 4]. Уровень С-пептида в крови положительно коррелирует с уровнем инсулина, вследствие чего его используют для оценки секреции инсулина. Однако данных о транспорте С-пептида через ГЭБ и его уровне в мозге нет. Поскольку дефицит С-пептида в мозге может приводить к ослаблению С-пептидных и инсулиновых путей, то перспективным является его компенсация с помощью интраназально вводимого С-пептида (ИСП), в т. ч. в комбинации с инсулином (ИИ).

**Целью работы** было изучить влияние обработки самцов крыс с гиперинсу-

линемичным СД2 (ГИ-СД2) с ожирением и с нормоинсулинемичным СД2 (НИ-СД2) без ожирения с помощью ИСП (36 мкг/крысу/сут.), ИИ (20 мкг/крысу/сут.) и комбинации ИИ+ИСП на метаболические и гормональные показатели.

## Материалы и методы

В экспериментах использовали самцов крыс Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария. Все процедуры по уходу и использованию животных осуществляли в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/EEC) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». ГИ-СД2 с ожирением индуцировали высокожировой диетой, которую крысы получали в течение 2 мес., с последующей обработкой стрептозотоцином (СТЗ, 15 мг/кг) («Sigma», США) и продолжением диеты в течение 1 мес. Контрольные животные получали стандартный корм, вместо СТЗ — 0,1 М Na-цитратный буфер (pH=4,5). НИ-СД2 индуцировали введением 5-суточным крысам высокой дозы СТЗ (75 мг/кг). Через 3 мес. у них выявлялись явные признаки СД2. В случае ГИ-СД2 отбирали крыс с повышенными массой тела и постпрандиальными уровнями глюкозы ( $> 7$  mM) и инсулина в крови. В случае НИ-СД2 отбирали крыс с повышенным уровнем глюкозы ( $> 15$  mM). Для ГИ-СД2 формировали 5 групп (n=5): контроль, который интраназально получал физ. р-р (K1), диабет без лечения (ГИ-Д), диабет с лечением в течение 9 дней с помощью ИСП в дозе 36 мкг/крысу/сут. (ГИ-ДС), ИИ в дозе 20 мкг/крысу/сут. (ГИ-ДИ) и их комбинации в тех же дозах (ГИ-ДСИ). Для НИ-СД2 также формировали 5 групп (n=5): контроль (K2), диабет без лечения (НИ-Д) и с 9-дневным лечением ИСП (НИ-ДС), ИИ (НИ-ДИ) и совместно ИСП и ИИ (НИ-ДСИ) в тех же дозах. За день до окончания эксперимента

проводили оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ), для чего после 12 ч депривации пищи вводили через зонд 40% р-р глюкозы (2 г/кг). Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2% р-р лидокаина, 2–4 мг/кг) до и через 15, 30, 60 и 120 мин после глюкозной нагрузки, уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок «One Touch Ultra» (США). Уровни инсулина и лептина до и через 120 мин после глюкозной нагрузки измеряли с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» («Mercodia», Швеция) и «ELISA for Leptin, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США). В последний день эксперимента оценивали уровни свободного (fT4) и общего тироксина (tT4), свободного (fT3) и общего трийодтиронина (tT3), используя наборы фирмы «Иммунотех» (Россия). Статистический анализ данных проводили с помощью программы «Microsoft Office Excel 2007» (Microsoft Corp., США), результаты представляли как  $M \pm SEM$ . Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента, значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

У крыс, в течение 3 мес. находящихся на высокожировой диете и обработанных низкой дозой СТЗ, развивались ожирение и другие признаки СД2, включая гиперинсулинемию, как базовую, так и после глюкозной нагрузки (табл.). Обработка крыс с ГИ-СД2 с помощью ИСП (9 дней) существенно не влияла на массу тела, уровни глюкозы, инсулина и лептина в крови после глюкозной нагрузки и на уровни тиреоидных гормонов. ИИ ослаблял гипергликемию, гиперинсулинемию и гиперлептинемии и повышал уровни fT4, tT4 и tT3. В сочетании с ИСП восстанавливающие эффекты ИИ снижались, так что, по сравнению с группой ГИ-ДИ, отличий исследуемых

**Таблица.** Метаболические и гормональные показатели у самцов крыс с ГИ-СД2 и НИ-СД2, и влияние длительной их обработки ИСП, ИИ и совместно ИСП и ИИ  
**Table.** Metabolic and hormonal parameters in male rats with HI-DM2 and NI-DM2, and the effect of their long-term treatment with ICP, II, and both ICP and II

Параметр	К1	ГИ-Д	ГИ-ДС	ГИ-ДИ	ГИ-ДСИ
Масса тела, г	360±8	423±11 <sup>a</sup>	432±12 <sup>a</sup>	417±11 <sup>a</sup>	424±14 <sup>a</sup>
Глюкоза, мм*	5,0±0,2	8,3±0,5 <sup>a</sup>	8,6±0,8 <sup>a</sup>	6,6±0,4 <sup>a, b</sup>	7,5±0,7 <sup>a</sup>
Инсулин, нг/мл	0,57±0,08	1,30±0,15 <sup>a</sup>	1,46±0,17 <sup>a</sup>	0,68±0,11 <sup>b</sup>	0,98±0,16
Инсулин, нг/мл*	0,63±0,10	1,86±0,21 <sup>a</sup>	1,94±0,29 <sup>a</sup>	1,09±0,13 <sup>a, b</sup>	1,68±0,22 <sup>a</sup>
Лептин, нг/мл*	1,49±0,26	4,76±0,56 <sup>a</sup>	4,48±0,37 <sup>a</sup>	3,15±0,27 <sup>a, b</sup>	3,98±0,46 <sup>a</sup>
fT4, пМ	29,8±1,4	22,5±1,1 <sup>a</sup>	24,7±0,9 <sup>a</sup>	30,6±1,5 <sup>b</sup>	27,4±0,8 <sup>a</sup>
tT4, нМ	102,6±4,6	79,0±5,7 <sup>a</sup>	90,1±7,9	108,4±3,2 <sup>b</sup>	98,2±8,9
fT3, пМ	3,72±0,11	3,21±0,10 <sup>a</sup>	3,08±0,16 <sup>a</sup>	3,55±0,24	3,40±0,18
tT3, нМ	2,76±0,14	2,08±0,09 <sup>a</sup>	2,12±0,14 <sup>a</sup>	2,51±0,10 <sup>b</sup>	2,27±0,13 <sup>a</sup>
Параметр	К2	НИ-Д	НИ-ДС	НИ-ДИ	НИ-ДСИ
Масса тела, г	356±18	372±19	376±15	380±18	369±12
Глюкоза, мм*	5,2±0,2	18,5±1,7 <sup>a</sup>	14,3±1,6 <sup>a</sup>	13,2±1,9 <sup>a</sup>	10,7±0,8 <sup>a, b</sup>
Инсулин, нг/мл	0,61±0,12	0,45±0,07	0,48±0,10	0,37±0,15	0,43±0,10
Инсулин, нг/мл*	0,76±0,17	1,11±0,14	0,90±0,16	0,88±0,11	0,67±0,07 <sup>b</sup>
Лептин, нг/мл*	1,54±0,17	2,78±0,22 <sup>a</sup>	1,93±0,12 <sup>b</sup>	2,20±0,34	1,82±0,21 <sup>b</sup>
fT4, пМ	27,1±1,0	20,6±1,5 <sup>a</sup>	25,5±1,6	26,8±1,3 <sup>b</sup>	29,7±1,5 <sup>b</sup>
tT4, нМ	95,2±5,9	76,3±7,2	83,6±4,8	84,7±5,2	108,5±5,1 <sup>b</sup>
fT3, пМ	3,57±0,16	2,87±0,10 <sup>a</sup>	3,20±0,17	3,11±0,12	3,45±0,13 <sup>b</sup>
tT3, нМ	2,66±0,08	1,84±0,13 <sup>a</sup>	2,25±0,20	2,31±0,04 <sup>a, b</sup>	2,51±0,15 <sup>b</sup>

**Примечания:** \* — уровни глюкозы и гормонов через 120 мин после глюкозной нагрузки в ОГТТ; а и b — различия с контролем и диабетом значимы при  $p < 0,05$ ;  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .

**Notes:** \* — the glucose and hormones levels 120 min after glucose loading in OGTT; a and b — the difference with control and diabetes is significant at  $p < 0.05$ ;  $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ .

показателей в группе ГИ-ДСИ от необработанных диабетических крыс выявлено не было (табл.).

У крыс, которых в неонатальном периоде обрабатывали высокой дозой СТЗ, в возрасте 3 мес. развивался тяжёлый, декомпенсированный СД2 без ожирения и с небольшим снижением уровня инсулина. Поскольку отличия базового уровня инсулина от такового в контроле не были значимыми ( $p > 0,05$ ), то таких животных рассматривали как нормоинсулинемичных. В отличие от ГИ-СД2, при лечении ИСП в той же дозе и в те же сроки у крыс с НИ-СД2 отмечали значимое улучшение ряда показателей. У них

снижался стимулированный глюкозой уровень лептина, частично восстанавливались уровни тиреоидных гормонов, сниженные при НИ-СД2. Отчётливо выраженное восстановление уровней глюкозы, глюкоза-стимулированных уровней инсулина и лептина, уровней тиреоидных гормонов отмечали при совместном воздействии ИСП и ИИ, причём эти эффекты были более выражены, чем при монотерапии ИИ (табл.).

Поскольку рецептор для С-пептида не идентифицирован, можно полагать, что его транспорт через ГЭБ не является рецептор-опосредуемым, и, в отличие от инсулина, наблюдается корреляция между уров-

ниями С-пептида в крови и мозге. Вследствие этого в условиях С-пептидемии, характерной для ГИ-СД2, в мозге наблюдается избыток С-пептида, который усугубляется при дополнительном его интраназальном введении. Повышение уровня С-пептида приводит к повышению его связывания с инсулином, результатом чего является снижение уровня активного инсулина и ослабление инсулиновой сигнализации [3]. В случае НИ-СД2 со слабо выраженным дефицитом инсулина

и С-пептида, ИСП, напротив, компенсирует «недостаток» их сигналинга в ЦНС.

## Вывод

Интраназально вводимый С-пептид и его комбинация с интраназально вводимым инсулином эффективны для восстановления метаболических и гормональных показателей у крыс с нормоинсулинемичным СД2, но существенно не влияют на них у животных с гиперинсулинемичным СД2.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

---

1. Derkach K., Zakharova I., Zorina I., Bakhtuykov A., Romanova I., Bayunova L., Shpakov A. The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect. *PLoS One*. 2019;14(3):e0213779. DOI: 10.1371/journal.pone.0213779.
2. Serbis A., Giapros V., Kotanidou E.P., Galli-Tsinopoulou A., Siomou E. Diagnosis, treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J. Diabetes*. 2021;12(4):344–365. DOI: 10.4239/wjd.v12.i4.344.
3. Shpakov A.O. Mechanisms of action and therapeutic potential of proinsulin C-peptide. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2017;53(3):180–190. DOI: 10.1134/S0022093017030024.
4. Washburn R.L., Mueller K., Kaur G., Moreno T., Moustaid-Moussa N., Ramalingam L., Dufour J.M. C-peptide as a therapy for type 1 diabetes mellitus. *Biomedicines*. 2021;9(3):270. DOI: 10.3390/biomedicines9030270.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Деркач Кира Викторовна\***, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;  
e-mail: [derkach\\_k@list.ru](mailto:derkach_k@list.ru)

**Kira V. Derkach\***, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: [derkach\\_k@list.ru](mailto:derkach_k@list.ru)

**Бондарева Вера Михайловна**, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;  
e-mail: [bondver@mail.ru](mailto:bondver@mail.ru)

**Vera M. Bondareva**, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: [bondver@mail.ru](mailto:bondver@mail.ru)

**Басова Наталья Евгеньевна**, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;  
e-mail: [basovnat@mail.ru](mailto:basovnat@mail.ru)

**Natalia E. Basova**, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: [basovnat@mail.ru](mailto:basovnat@mail.ru)

**Шпаков Александр Олегович**, д.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;  
e-mail: [alex\\_shpakov@list.ru](mailto:alex_shpakov@list.ru)

**Alexander O. Shpakov**, Dr. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: [alex\\_shpakov@list.ru](mailto:alex_shpakov@list.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author