

УДК 612-017.1

ЭФФЕКТЫ ТРАНСФЕР-ФАКТОРА НА БИОМАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ.

Крутько В.Н.*, Гаврилов М.А.***, Донцов В.И.***, Мальцева И.В.***

*Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М.Сеченова,

**Московский государственный медико-стоматологический университет

Крутько В.Н., д.т.н, к.б.н., проф., Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М.Сеченова, krutkovn@mail.ru.

Гаврилов М.А., к.м.н., ст. научн. сотр., Московский государственный медико-стоматологический университет, mag70@yandex.ru.

Донцов В.И., д.м.н., зав. лабораторией, Московский государственный медико-стоматологический университет, dontsovvi@mail.ru.

Мальцева И.В., мл.научн.сотр., Московский государственный медико-стоматологический университет, ptica1965@yandex.ru.

Введение.

Из большой группы средств, обладающих геропротективным, реювенилирующим и биоактивирующим эффектом, одними из наиболее эффективных оказываются иммуномодуляторы [1, 2, 3], что связывают с закономерно развивающимся возрастным иммунодефицитом. Однако, кроме классических представлений о стимуляции собственно иммунитета иммуномодуляторами, обладающими геропротективным эффектом, отечественными учеными разработаны представления о лимфоцитах как регуляторах роста и пролиферации собственно соматических клеток [4-7]. Нами развивается новая иммуно-регуляторная теория старения, связанная с наличием субпопуляций Т-лимфоцитов, специфически влияющих на клеточное деление соматических клеток, и с истощением этой функции с возрастом, что носит, видимо, регуляторный характер [5-7]. Это делает возможным использование различных иммуностимулирующих средств для восстановления потенциала клеточного роста тканей и восстановления их высокого уровня самообновления, резко уменьшающегося с возрастом, т.е. фактически для омоложения тканей.

Перспективным представляется использование новой биодобавки, получаемой из молозива – «Трансфер-фактора» («ТФ»), который показал выраженные иммуномодулирующие свойства при различных патологиях [8-10], и который также рекомендуется как профилактическое средство у здоровых лиц [9-13]. Так как ТФ получают из молозива, то ТФ

естественным образом входит в группу реовенизирующих (омолаживающих) препаратов – группа средств, с древних времен получаемая из молодых растительных и животных тканей, из проростков зерна и т.п.

Целью настоящей работы было изучение комплексных эффектов ТФ на старение в эксперименте у старых мышей и контроль биологического возраста у группы лиц, принимавшей ТФ как биологически активную добавку.

Методы.

В эксперименте использовали мышей Balb/c, самок в возрасте 8 месяцев (40 мышей разделенных поровну на контрольную и опытную группы), питомника «Столбовая». Группе опытных старых животных в течение 3-х месяцев вводили ТФ (производства компании "4 Life Research Co."), в физиологическом растворе, один раз в день, в дозе соответствующей используемой у человека в расчете на 1 кг веса (1 капсула 200 мг на 50 кг веса).

Для комплексной оценки старения животных использовали панель тестов, которые в предварительных экспериментах показали значительные различия для молодых и старых животных, и, в то же время, малые индивидуальные отклонения [15], основываясь на часто применяемых показателях [1, 13] – маркеры биовозраста или биомаркеры старения. Использовали показатели: физической силы – время висения на струне, натянутой на высоте 80 см и максимальная сила натяжения динамометра; температуру тела в прямой кишке как показатель уровня обмена веществ; морфологические показатели – относительный вес внутренних органов для оценки возрастной атрофии тканей; состояние антиоксидантной системы - оценивалось общее содержание продуктов свободнорадикального повреждения – ТБК-активных веществ в крови, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, выражая результат в единицах оптической плотности; относительный вес органов иммунитета (тимуса и селезенки) и количество активных – бластных клеток в селезенке, не осаждающихся при центрифугировании в градиенте плотности фикола 1,065; а также количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) сыворотки крови методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) с нефелометрической регистрацией степени помутнения на спектрофотометре, выражая результаты в у.е. равных оптической плотности. Потенциал клеточного роста оценивали на примере реакции Селье – фармакологически индуцированной гиперплазии слюнных желез; реакция резко снижается с возрастом и зависит от определенных популяций Т-лимфоцитов, регулирующих клеточный рост соматических клеток [5-7].

Для изучения эффектов ТФ у человека исследовали показатели биовозраста (БВ) у 12 мужчин в возрасте 55-73 лет, принимавших по 300 мг ТФ в день 5 раз в неделю в течение 6 недель. Параметры биологического возраста человека [16], были оценены с использованием автоматизированного комплекса [17], разработанного Национальным Геронтологическим

Центром (Москва, Россия) с определением биомаркеров: кровяное давление, скорость пульсовой волны, жизненная емкость легких, время статической балансировка, тесты Штанге, Шульте, Векслера, частотный порог слуха, динамометрия, масса тела, объем аккомодации [18].

Результаты подвергали статистической обработке с вычислением: среднего (M), среднеквадратичного отклонения (m), максимального и минимального абсолютных значений, коэффициента Стьюдента и достоверности (p).

Результаты исследования.

Результаты исследования эффектов ТФ на старых мышей сведены в таблицу 1.

Таблица 1.

Геропротективные эффекты Трансфер-фактора в эксперименте.

№	Тест	Контроль		Опыт		% к контролю		p<
		M	m	M	m	%	m %	
1	Рост (мм)	9,0	2,7	9,0	0,3	99,4	4,0	-
2	Вес (гр)	31,8	7,6	24,9	0,8	78,1	3,7	-
3	Динамометрия (гр)	97,5	14,4	144,7	12,3	148,4	2,8	0,05
4	Висение на струне (сек)	232	81	387	100	166,3	29,3	0,05
5	t°C	38,0	0,3	38,3	0,3	100,9	0,2	0,05
6	Гиперплазия на изопротеренол(%)	103,6	3,9	146,8	3,0	141,7	0,7	0,001
7	Бласты селезенки (млн)	2,6	0,4	5,6	0,4	215,4	2,4	0,001
8	ОВИМ	3,29	0,29	4,2	0,2	126,6	1,8	0,05
9	Тимус (мг)	15	2,6	38,3	5,1	255,3	3,6	0,001
10	Селезенка (мг)	94,8	5,7	139,5	3,4	147,2	1,0	0,001
11	Почки (мг/гр)	7,1	1,0	11,7	0,9	165,5	2,5	0,01
12	Печень (мг/гр)	39,7	0,6	52,3	3,2	131,6	1,0	0,05
13	Сердце (мг/гр)	3,6	0,3	5,0	0,1	139,9	1,4	0,01
14	ТБК (OD)	0,045	0,002	0,036	0,003	80,0	1,7	0,05
15	ЦИК(OD)	0,338	0,010	0,290	0,015	85,9	1,0	0,05

Обмен веществ, оцениваемый по температуре тела, показывал в среднем более высокие значения, чем у контрольных животных. Сила опытных животных, оцениваемая по динамометрии и времени висения на струне, статистически значимо возрастала, что сопровождалось и достоверным увеличением индекса икроножной мышцы (ОВИМ) – широко применяемым в экспериментальной геронтологии тестом отношения массы икроножной мышцы в мг к массе тела в гр. У опытных животных также значимо увеличивалась относительная масса внутренних органов, особенно иммунокомпетентных – тимуса и селезенки. Количество активных клеток селезенки, оцениваемых по центрифугированию в градиенте плотности фиколла с пониженной плотностью, также значимо увеличивалось. Количество иммунных комплексов, с другой стороны, значимо снижалось. Известно, что с возрастом уровень иммунных комплексов у мышей значимо повышается, что отражает развитие аутоиммунных процессов.

Для оценки способности клеток и тканей к росту (потенциала роста тканей) использовали изопротеренол-индуцированную гиперплазию подчелюстных слюнных желез у мышей. Было показано, что введение изопротеренола приводит к гиперплазии слюнных желез молодых мышей (повышение массы в 1,56-1,72 раза), тогда как все старые животные показали уменьшение реакции - снижение массы желез ниже интактных. Введение ТФ восстанавливало потенциал клеточного роста у старых мышей для всех животных – введение изопротеренола увеличило массу слюнных желез для старых животных в 1,4-1,6 раз, приближая степень гиперпластической реакции к таковой у молодых. Одновременно резко (в 2-3,5 раза) увеличивалось количество активированных клеток селезенки, имеющих более низкую плотность при центрифугировании в градиенте плотности фиколла.

Также отмечалось снижение стрессовой реакции тимуса на введение адренергического агента – изопротеренола. Типичная реакция на стресс – резкое и быстрое уменьшение массы тимуса, что можно наблюдать в группе животных без введения ТФ; однако, для опытной группы животных, получавших ТФ, не отмечалось значимого снижения массы тимуса на стрессорный агент.

Наконец, в группе животных с ТФ снижалось количество ТБК-активных веществ крови, что указывает на благоприятное действие ТФ на процессы накопления в тканях продуктов перекисного окисления тканей с возрастом, что в соответствии со свободно-радикальной теорией старения считается одним из главных механизмов старения у млекопитающих [1, 14].

У группы лиц, потреблявших ТФ как биологически активную добавку в течение 6 недель, отмечались ясные и достоверные изменения биологического возраста. Было показано, что средний биовозраст данной группы до начала исследований составил $63,5 \pm 0,7$ лет (отличия БВ от календарного возраста (КВ) располагались в диапазоне от + 0,5 до – 6,6 лет, в среднем: – 4,2

года). После курса ТФ среднее отличие БВ от КВ составило $-8.2 \pm 0,5$ лет (от $-4,0$ до $-10,7$ лет, $p < 0.001$ к контрольным данным) то есть биологический возраст снизился на 4 года (рисунок 1).

Особый интерес представляет динамика изменения биомаркеров, характеризующих функционирование сердечно-сосудистой системы. Наличие функционального напряжения перед приемом ТФ характеризуется увеличением артериального давления по сравнению с возрастной нормой. После курса ТФ наблюдалась нормализация значений как систолического артериального давления (в среднем со 134 до 125 мм рт ст), так и диастолического артериального давления (в среднем с 79 до 75 мм рт ст).

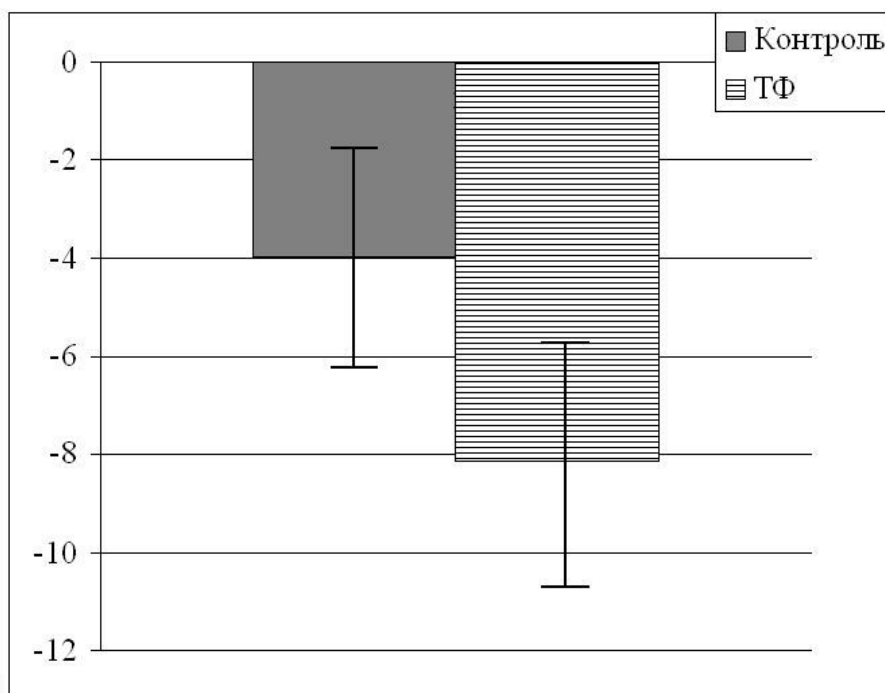


Рисунок 1. Влияние Трансфер-фактора на биовозраст человека.

По вертикали – разность биологического и календарного возраста (отрицательные значения означают более молодой биологический возраст).

Результатом улучшения общего состояния и адаптационных показателей организма явилось увеличение показателя статического баланса, показатели которого увеличивались в 2,4 раза, а также увеличение значений пробы Штанге (задержка дыхания) – в 1,26 раза.

Интересно, что такие показатели биовозраста, которые отражают собственно процессы биологического старения и обычно ригидны к внешним воздействиям, как показатели старения органов зрения и слуха, а также показатели ЖЕЛ также изменялись при воздействии ТФ. Так, расстояние ближнего зрения снизилось после приема ТФ с 212 до 151 мм, а слуховой порог повысился с 10 390 до 10 460 Гц; показатели ЖЕЛ повысились с 3100 до 3470 мл; показатели силы также повысились в среднем с 35 до 37 кг.

Обсуждение результатов.

Таким образом, ТФ оказывает не только положительное действие на иммунные показатели, но и проявляет комплексное геропротективное действие в эксперименте, влияя на: физическое состояние, силу животных, обмен веществ, свободно-радикальные механизмы старения; он также способен восстанавливать клеточный потенциал роста тканей старых животных до уровней, близких к молодому возрасту, повышает показатели иммунитета и снижает уровень аутоиммунных реакций. У человека ТФ значительно влиял на показатели биологического возраста, снижая в целом этот показатель для группы на 4 года уже при 6-недельном введении.

В старости, как известно, развивается естественный иммунодефицит, хорошо наблюдаемый как резкое снижение относительной массы иммунотропных органов – тимуса и селезенки; при этом снижение супрессорных влияний растормаживает аутоиммунные реакции. Одновременно с возрастом резко снижаются процессы клеточного деления самообновляющихся тканей, а также объем и скорость гиперпластических реакций при различных воздействиях – потенциал клеточного роста тканей. Известно, что центральный механизм старения самообновляющихся путем клеточного деления тканей связан со снижением клеточного самообновления (снижением потенциала клеточного роста) – снижением скорости физиологической регенерации. Возможность влияния на старение тканей посредством влияния на процесс клеточного роста связана с хорошо разработанной отечественными учеными теорией регуляции процессов роста соматических тканей лимфоцитами, впервые наблюдаемой на моделях травматической регенерации ряда органов [4]. Нами развивается новая иммунная теория старения, связанная с наличием субпопуляций Т-лимфоцитов, специфически влияющих на клеточное деление соматических клеток – функцию, снижающуюся с возрастом [5-7], что делает возможным использование иммунотропных средств для восстановления высокого уровня самообновления тканей [19].

Заключение.

Проведенные исследования показывают на примере Трансфер-фактора, что иммуномодуляторы способны оказывать не только положительное действие на иммунные показатели старых животных, но и проявлять комплексное геропротективное действие, влияя на физическое состояние, силу животных, обмен веществ, свободно-радикальные механизмы старения и др. Препарат ТФ оказался способен также восстанавливать клеточный потенциал роста тканей старых животных, что является важнейшим механизмом старения

самообновляющихся тканей. У человека прием ТФ сопровождается значимыми изменениями биомаркеров старения и комплексного показателя – биологического возраста.

Обнаруженные эффекты ТФ иллюстрируют возможности нового перспективного класса средств медицины антистарения - иммуномодуляторов [20]. Препарат ТФ, видимо, может также быть использован для активации клеточного роста при различных патологических процессах с целью заживления тканей, ран и т.д.

Список литературы.

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука.– 2003. – 468с.
2. Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных и соматических заболеваниях с использованием трансфер факторов. Методическое письмо МЗ РФ.М.:2004. – 32 с.
3. Семенков В.Ф., Карандашов В.И., Ковальчук Л.В. Иммуногеронтология. М.:Медицина. – 2005. – 206 с.
4. Бабаева А.Г. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции нелимфоидных клеток //Бюлл. exper. биологии и мед. – 1995. – № 9. – С. 230–234.
5. Донцов В.И. Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации - альтернатива теории “противоопухолевого надзора?”//Иммунология. – 1989. – N. 5. – С. 94-96.
6. Донцов В.И. Иммунобиология постнатального развития. М.:Наука. – 1990. – 152 с.
7. Донцов В.И., Крутько В.Н. Труханов А.И. Медицина антистарения: Фундаментальные основы.М.: URSS.– 2010. – 680 с.
8. Лыкова С.Г., Немчанинова О.Б., Черникова Е.В., Гичев Ю. П. Опыт применения «Трансфер Фактора» в дерматовенерологии//Сибирский журнал дерматологии и венерологии.– 2002. – № 3.– С.34-35.
9. Оганова Э.А., Келвин В. МакКосланд. Трансфер Факторы – природные иммунокорректоры//В сб. научно-практ конф. с международным участием: Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Барнаул. 29 ноября 2003.– С. 22-26.
10. Lawrence H. S., Borkowsky W. Transfer Factor current, status and future prospects// Biotherapy.–1996 – Vol.9.– P. 1-3.
11. Суханов Б.П. Трансфер Факторы, как элемент питания человека. //В сб. научно –практ. конф. с международным участием: Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Барнаул . 29 ноября 2003.– С. 27-28.
12. Хеннен У.Дж. Трансфер фактор Плюс: идеальная комбинация биологически активных веществ для оптимального иммунитета (под ред. Ю. П. Гичева и Э.А. Огановой). Новосибирск.– 2001.– 73 с.

13. Warner, H. R., Ingram, D., Miller, R. A., Nadon, N. L., and Richardson, A.G. Program for testing biological interventions to promote healthy aging. //Mech. Ageing Dev. – 2000. – Vol.115. – P. 199-208.
14. Кольтовер В.К. Свободнорадикальная теория старения: исторический очерк//Успехи геронтологии. – 2000.– Вып.4.– С.33-40.
15. Донцов В.И., Чернилевский В.Е. Экспериментальные модели старения: скрининг методов оценки старения у мышей// Доклады МОИП. Ежегодник. Сборник статей.М.:2010.– Т. 43.– С. 52-76.
16. Чеботарев Д.Ф. П/ред. Биологический возраст, наследственность и старение. Ежегодник "Геронтология и гериатрия". Киев.– 1984.– 180 с.
17. Донцов В.И., Крутько В.Н. Диагностика старения: биовозраст. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2007614122 от 26 сентября 2007 г.
18. Подколзин А.А., Донцов В.И., Крутько В.Н. и др. Оптимизация профилактических мероприятий с использованием компьютерной системы "Профилактика старения". Пособие для врачей.М.:НГЦ.– 2003.– 27 с.
19. Донцов В.И., Крутько В.Н., Чернилевский В.Е., Чижов А.Я. Способ восстановления снижающегося с возрастом потенциала клеточного роста тканей (омоложения тканей).Патент. Рег.№ 2400239 от 27 сент.2010 г.
20. Донцов В.И., Крутько В.Н., Чижов А.Я. Способ снижения биологического возраста (омоложения организма). Патент. Рег.№ 2404784 от 27 ноября 2010 г.

РЕЗЮМЕ

Биодобавка «Трансфер-фактор» оказывал как положительное действие на иммунные показатели старых животных, так и проявлял комплексное геропротективное действие в эксперименте у мышей. Он положительно влиял на физическое состояние, силу животных, обмен веществ, а также на свободнорадикальные механизмы старения. Он также восстанавливал клеточный потенциал роста тканей старых животных до уровня молодых. У человека при 6-недельном применении ТФ снижал биомаркеры старения и понижал биологический возраст на 4 года. Препарат ТФ является перспективным геропротективным агентом.

ABSTRACT

The bioadditive "Transfer-Factor" (TF) demonstrated the positive action on immune factors in old animals, and shown the complex geroprotective action in experiments on mice. It positively effects on the physical condition, animal power, metabolism, as well as on biochemical mechanisms of ageing. It

also restored the cellular potential of the tissue growing in old animal. Person using TF reduced age biomarkers and lowered the biological age on 4 year. The bioadditive TF is perspective as geroprotective agent.

Рубрика журнала для публикации: Медицина антистарения и активное долголетие.