

ЭКОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА

ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ КАК ГЕРОПРОТЕКТОРЫ: ГЕРОПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ «ТРАНСФЕР-ФАКТОРА»

**В.И. Донцов^{2,3}, В.Н. Крутько^{1,3}, А.А. Кудашов⁴,
В.А. Санталова⁵, А.Я. Чижов^{3,5}, М.А. Ванюхина^{1,3}**

¹ Институт системного анализа РАН
проспект 60-летия Октября, 9, Москва, Россия, 117312

² Московский государственный медико-стоматологический университет
ул. Десятская, 20, стр. 1, Москва, Россия, 103473

³ Национальный геронтологический центр
проспект 60-летия Октября, 9, Москва, Россия, 117312

⁴ ООО «ВНИПИМ»
пр. Ленина, 102, Тула, Россия, 300026

⁵ Экологический факультет
Российский университет дружбы народов
Подольское шоссе, 8/5, 113093, Москва, Россия

Биологически активная добавка «Трансфер-фактор», получаемая компанией «4 Life Research Со» (США) из коровьего молозива, положительно действует на иммунные показатели старых подопытных мышей и оказывает комплексное геропротективное влияние на их физическое состояние, динамометрические показатели, обмен веществ и свободнорадикальные механизмы старения. «Трансфер-фактор» восстанавливает потенциал клеточного роста тканей старых животных до величин, характерных для молодого возраста. Он может применяться для активации регенерации тканей с целью их заживления. Также важным является описываемый в работе антистрессорный эффект воздействия этого средства на иммунную систему и его защитное влияние на возрастное и алиментарное ожирение.

Ключевые слова: практическая геронтология, геростимулятор, геропротективный эффект, БАД «Трансфер-фактор», иммунная защита, предотвращение старости.

Введение. Одной из наиболее эффективных групп средств, обладающих геропротективными, реовенизирующими и биоактивирующими свойствами, являются иммуномодуляторы [1; 6; 12], эффект действия которых объясняют кор-

рекции возрастного иммунодефицита. Однако, кроме классических представлений о стимуляции иммунитета иммуномодуляторами, обладающими геропротективным эффектом, отечественными учеными разработаны представления о лимфоцитах как регуляторах роста и пролиферации собственно соматических клеток [2; 4—6].

Центральный механизм старения тканей, самообновляющихся путем клеточного деления, связан со снижением клеточного самообновления (снижением потенциала клеточного роста), т.е. со снижением скорости физиологической регенерации. Возможность влияния на старение посредством влияния на процесс клеточного роста тканей связана с теорией регуляции процессов роста соматических тканей лимфоцитами, выдвинутой нашими учеными, которые впервые апробировали ее на моделях травматической регенерации ряда органов [2].

В нашей лаборатории проводится серия опытов по проверке иммунной теории старения, связанной с наличием субпопуляций Т-лимфоцитов, специфически влияющих на клеточное деление соматических клеток и с истощением этой функции с возрастом, что имеет, возможно, регуляторный характер [4—6].

Данное предположение делает возможным использование различных иммуномодулирующих средств для омоложения тканей, а именно для восстановления потенциала клеточного роста тканей и их высокого уровня самообновления, уменьшающегося с возрастом. Перспективным для данной области исследований представляется использование новой биологически активной добавки, получаемой из молозива коров — препарата «Трансфер-фактор» (ТФ), производимого компанией «4 Life Research Co».

Применение данной биологически активной добавки продемонстрировало выраженные иммуномодулирующие свойства при различных патологиях [3; 7; 8; 10; 11; 15], что, по мнению ряда ученых, позволяет рекомендовать данное средство в качестве профилактического препарата для предупреждения заболеваемости у здоровых людей [11; 13; 14; 15].

Возможность восстановления потенциала клеточного роста у старых мышей была показана в нашей лаборатории при применении «Трансфер-фактора» в тесте фармакологически индуцированной гиперплазии тканей [4—6]. Так как данную добавку получают из коровьего молозива (молока на первых неделях жизни), то ТФ естественным образом входит в группу реювенизирующих препаратов, которые с древних времен добывали из молодых растительных и животных тканей, например проростков пшеничных зерен.

Целью данной работы было изучение комплексных эффектов «Трансфер-фактора» на процессы старения в эксперименте у старых мышей.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 40 подопытных мышей-самок Valb/c питомника «Столбовая» в возрасте 8 месяцев, разделенных поровну на контрольную и опытную группы.

Опытной группе старых животных на протяжении трех месяцев вводили «Трансфер-фактор» в физиологическом растворе. Доза соответствовала рекомендованной для человека из расчета на 1 кг веса (1 капсула 200 мг на 50 кг).

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 малый межиндивидуальный разброс. Такие часто применяемые показатели [1; 16], как подвижность по числу пересеченных квадратов, число стоек (ориентировочный рефлекс), потребление кислорода, сорбция красителя тканью печени, гемолиз эритроцитов, каталаза и пероксидаза крови, окисленный глутатион оказались мало пригодными ввиду значительных межиндивидуальных разбросов и относительно незначительных изменений с возрастом.

Параллельно для групп контрольных и опытных мышей исследовали следующие показатели.

Общие физиологические показатели: общий вид по 6 показателям в баллах: цвет и лоск шерсти; наличие старческого горба; блеск глаз — по 4-балльной шкале (4 балла — норма у молодых); рост (с точностью 1 мм); вес тела (с точностью 0,1 г).

Физическая сила: время (сек) висения на струне, натянутой на высоте 80 см (в таблице результатов — строка «d»); максимальная сила натяжения динамометра (точность 0,1 г, в таблице результатов — строка «с»); индекс икроножной мышцы (ОВИМ, в таблице результатов — строка «h»).

Показатели общего обмена: уровень потребления кислорода — оказался весьма лабильным индивидуальным показателем, связанным с подвижностью животных; температура тела (строка «e») — отражает интенсивность общего обмена, и с возрастом у мышей она снижается на 1,5—2 °С и более. Температуру тела оценивали в прямой кишке медицинской термометром, при введении на глубину 1 см (точность 0,1 °С).

Морфологические показатели: масса внутренних органов (как абсолютная, так и относительная — к массе тела): тимуса (строка «i»), селезенки (строка «j»), почек (строка «k»), сердца (строка «l») и печени (строка «m»). Данные показатели использовались для оценки возрастной атрофии тканей.

Состояние антиоксидантной системы: оценивалось общее содержание продуктов свободнорадикального повреждения — ТБК-активных веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), результат выражался в единицах оптической плотности (строка «n»). Для этого 0,1 мл осажденных в процессе центрифугирования эритроцитов лизировали добавлением 1 мл дистиллированной воды, прибавляли 0,5 мл 17% трихлоруксусной кислоты для осаждения белка эритроцитов и кипятили 10 мин на кипящей бане; затем 10 мин центрифугировали при 3000 об/мин и измеряли оптическую плотность при длине волны 540 нм на спектрофотометре СФ-46.

Состояние иммунной системы: исследовали с помощью упомянутых выше морфологических показателей — относительной массы органов иммунитета (тимуса и селезенки); также определяли: количество активных — бластных клеток (строка «g») в селезенке, не осаждающихся при центрифугировании в градиенте плотности фиколла 1,065; количество циркулирующих иммунных комплексов

(ЦИК) сыворотки крови (строка «о») методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) с нефелометрической регистрацией степени помутнения на спектрофотометре, результаты выражались в условных единицах, равных оптической плотности. Для определения ЦИК к 0,05 мл сыворотки крови подопытных мышей добавляли 0,1 мл 0,1 молярного боратного буферного раствора с рН 8,4 и 1 мл ПЭГ, через 1 час при 20 °С измеряли оптическую плотность при 450 нм.

Потенциал клеточного роста: оценивали на примере реакции Селье — фармакологически индуцированной гиперплазии слюнных желез при введении изопротеренола (строка «б»); реакция резко снижается с возрастом и зависит от определенных популяций Т-лимфоцитов, регулирующих клеточный рост соматических клеток [4—6].

Результаты лабораторных исследований были обработаны статистическими методами с вычислением: среднего значения (*M*), среднеквадратичного отклонения (*m*), максимального и минимального значений, с вычислением коэффициента Стьюдента для сравнения значений у молодых и старых животных и определением уровня достоверности (*p*).

Результаты исследования и их обсуждение. Основные результаты исследования сведены в таблицу.

Таблица

Результаты исследований морфофизиологических показателей

Строка	Тест	Контрольная группа		Опытная группа		% к контрольной группе		p< (контроль — опыт)
		M	m	M	m	%	d%	
a	Рост, мм	9,0	2,7	9,0	0,3	99,4	4,0	—
b	Масса, г	31,8	7,6	24,9	0,8	78,1	3,7	—
c	Динамометрия, г	97,5	14,4	144,7	12,3	148,4	2,8	0,05
d	Время висения на струне, сек	232	81	387	100	166,3	29,3	0,05
e	Температура тела, °С	38,0	0,3	38,3	0,3	100,9	0,2	—
f	Гиперплазия на изопротеренон, %	103,6	3,9	146,8	3,0	141,7	0,7	0,001
g	Бласты селезенки, млн	2,6	0,4	5,6	0,4	215,4	2,4	0,001
h	ОВИМ	3,29	0,29	4,2	0,2	126,6	1,8	0,05
i	Масса тимуса, мг	15	2,6	38,3	5,1	255,3	3,6	0,001
j	Масса селезенки, мг	94,8	5,7	139,5	3,4	147,2	1,0	0,001
k	Относительная масса почек, мг/г	7,1	1,0	11,7	0,9	165,5	2,5	0,01
l	Относительная масса печени, мг/г	39,7	0,6	52,3	3,2	131,6	1,0	0,05
m	Относительная масса сердца, мг/г	3,6	0,3	5,0	0,1	139,9	1,4	0,01
n	ТБК (OD)	0,045	0,002	0,036	0,003	80,0	1,7	0,05
o	ЦИК(OD)	0,338	0,010	0,290	0,015	85,9	1,0	0,05

Оценка общего вида животных по цвету и лоску шерсти, наличию старческого горба и блеску глаз в баллах недостаточно информативна, поскольку старые животные заметно не отличались по данным показателям от молодых трех- — четырехмесячных. Резкие изменения показателей внешнего облика были замечены лишь в гораздо более поздних возрастах при условии кормления животных преимущественно гранулированным кормом. Рацион, применяемый в наших лабораторных испытаниях (овощи, молоко, крупы, неограниченный объем пищи), обусловил отсутствие резких внешних возрастных изменений.

Рост грызунов продолжается в течение всей жизни, однако со временем он резко замедляется. Нами не было отмечено различий в средних показателях роста в контроле и опыте.

Масса опытных мышей статистически не отличалась от контроля, однако в наших условиях, когда животные получали неограниченное и разнообразное питание, в контроле они четко разделялись на две группы: с массой тела 24—27 г и 33—40 г, с явными признаками ожирения во втором случае. В то же время в группе опытных животных масса тела мышей не выходила за пределы 24—27 г. Таким образом, ТФ явно влиял на жировой обмен животных, предотвращая возрастное ожирение. Отмечалось также снижение потребления корма животными, получавшими «Трансфер-фактор», что свидетельствует о влиянии этой биодобавки на процесс алиментарного ожирения.

Общий обмен веществ у подопытных грызунов, оцениваемый в наших испытаниях по температуре тела, имел в среднем более высокие значения, но индивидуальные вариации были высоки, как мы полагаем, по причине того, что температура у самок может значительно зависеть от эстрального цикла, а также в силу одновременного вхождения в климактерический период.

Сила опытных животных, оцениваемая по показателям динамометрии и времени висения на струне, статистически значимо возрастала, что сопровождалось и статистически достоверным увеличением индекса икроножной мышцы (ОВИМ).

У старых грызунов из опытной группы было замечено увеличение относительной массы 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. Хорошо известно, что с возрастом уровень иммунных комплексов у мышей значимо повышается, что отражает развитие аутоиммунных процессов.

При старении у грызунов, как правило, развивается естественный иммунодефицит, выражающийся, в частности, в резком снижении относительной массы иммунокомпетентных органов — тимуса и селезенки. Одновременно резко снижаются процессы клеточного деления самообновляющихся тканей, а также скорость и объем гиперпластических реакций при воздействиях разного характера. Удобно для оценки уровня ростового потенциала ткани использовать известный феномен Селье — фармакологически индуцированную реакцию гиперплазии ткани слюнных желез. С возрастом данная реакция резко снижается. Из-

вестно также, что это является результатом снижения активности лимфоидных клеток — регуляторов процессов роста соматических тканей: в ходе гиперпластических и регенеративных реакций самого разного типа происходит активирование регулирующих этот процесс лимфоидных клеток, которые скорее всего являются лимфоцитами, реагирующими в сингенной смешанной культуре лимфоцитов [4—6]. Так как типичным для активации лимфоцитов — регуляторов клеточного роста соматических тканей является их бластная активация, их можно выделить в градиенте фиколла с пониженной плотностью [4—6].

Нами 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 продемонстрировали уменьшение реакции — снижение массы желез ниже интактных.

Введение «Трансфер-фактора» восстанавливало потенциал клеточного роста у старых мышей для всех животных — введение изопротеренола увеличивало массу слюнных желез для старых животных в 1,4—1,6 раз, приближая степень гиперпластической реакции к значению, характерному для молодых мышей. Также резко (в 2—3,5 раза) увеличилось количество активированных клеток селезенки, имеющих более низкую плотность при центрифугировании в градиенте плотности фиколла.

Нами также было зафиксировано снижение стрессовой реакции тимуса на введение адренергического агента — изопротеренола. Как известно, типичная реакция на стресс — это резкое и быстрое уменьшение массы тимуса, что было отмечено в контрольной группе животных. При этом у группы животных, получавших «Трансфер-фактор», значимого снижения массы тимуса на стрессорный агент не наблюдалось.

Одним из главных результатов наших испытаний стало снижение количества ТБК-активных веществ в крови у животных, получавших «Трансфер-фактор». Это говорит о благоприятном воздействии биологически активной добавки «Трансфер-фактор» на возрастные процессы накопления в тканях продуктов перекисного окисления, что в соответствии со свободно-радикальной теорией старения считается одним из главных механизмов старения у млекопитающих [1; 9].

Заключение. Таким образом, применение «Трансфер-фактора» у подопытных старых мышей продемонстрировало как положительное влияние на иммунные показатели старых животных, так и комплексное геропротективное действие у мышей при длительном введении данной добавки, повлияв на физическое состояние, силу животных, обмен веществ, свободно-радикальные механизмы старения и клеточный потенциал роста тканей старых животных, восстановленный до уровней, близких к молодому возрасту. Открытые нами эффекты воздействия «Трансфер-фактора» открывают возможности перспективного применения данного препарата в области практической геронтологии. В медицине антистарения эта биологически активная добавка имеет потенциал применения для активации клеточного роста, для профилактики различных патологических процессов

и стимуляции посттравматической регенерации тканей. Не менее интересным и перспективным эффектом можно считать анти-стрессорное действие данного препарата на иммунную систему и его протективное действие на возрастное и алиментарное ожирение.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. — СПб.: Наука, 2003.
- [2] *Бабаева А.Г.* Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции нелимфоидных клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1995. — № 9. — С. 230—234.
- [3] *Дадали В.А., Рак А.В., Столпник Е.С., Келвин В.К. Мак-Косланд, Оганова Э.А.* Применение «Трансфер-фактора» в лечении больных остеомиелитом // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. — 2002. — № 3—4.
- [4] *Донцов В.И.* Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации — альтернатива теории «противоопухолевого надзора?» // Иммунология. — 1989. — № 5. — С. 94—96.
- [5] *Донцов В.И.* Иммунобиология постнатального развития. — М.: Наука, 1990.
- [6] *Донцов В.И., Крутько В.Н., Подколзин А.А.* Фундаментальные механизмы геропрофилактики. — М.: Биоинформсервис, 2002.
- [7] Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных и соматических заболеваниях с использованием трансфер-факторов: Методическое письмо Минздрава России. — 2004.
- [8] *Карбышева Н.В., Карбышев И.А., Татаринцев П.Б., К. Мак-Косланд, Оганова Э.А.* «Трансфер-факторы» в лечении больных вирусными гепатитами // Сибирский журнал «Гастроэнтерология и гепатология». — 2003. — № 16. — С. 147—149.
- [9] *Кольтовер В.К.* Свободнорадикальная теория старения: исторический очерк // Успехи геронтологии. — 2000. — Вып. 4. — С. 33—40.
- [10] *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.
- [11] *Оганова Э.А., Келвин В., К. Мак-Косланд.* «Трансфер-факторы» — природные иммунокорректоры // Сб. науч.-практ конф. с международным участием: Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных заболеваниях. — Барнаул. 29 ноября 2003. — С. 22—26.
- [12] *Семенов В.Ф., Карандашов В.И., Ковальчук Л.В.* Иммуногеронтология. — М.: Медицина, 2005.
- [13] *Суханов Б.П.* «Трансфер-факторы» как элемент питания человека // Сб. науч.-практ. конф. с международным участием: Иммунореабилитация при инфекционно-воспалительных заболеваниях. — г. Барнаул. 29 ноября 2003. — С. 27—28.
- [14] *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.
- [15] *Lawrence H.S., Borkowsky W.* «Transfer Factor current, status and future prospects» // Biotherapy. — 1996. — Vol. 9. — P. 1—3.
- [16] *Warner H.R., Ingram D., Miller R.A., Nadon N.L., Richardson A.G.* Program for testing biological interventions to promote healthy aging // Mech. Ageing Dev. — 2000. — Vol. 115. — P. 199—208.

THE IMMUNE MODULATORS AS GEROPROTECTORS: THE GEROPROPHYLACTIC EFFECT OF TRANSFER-FACTOR

V.I. Dontsov^{2,3}, V.N. Krutko^{1,3}, A.A. Kudashov⁴,
V.A. Santalova⁵, A.Ya. Chizhov^{3,5}, M.A. Vanyukhina^{1,3}

¹ The institute for the systems analysis of the Russian academy of sciences
prospect 60-letya Octyabrya, 9, Moscow, Russia, 117312

² Moscow state medical and dentistry university
Delegatskaya str., 20/1, Moscow, Russia, 103473

³ The National Gerontology Center
prospect 60-letya Octyabrya, 9, Moscow, Russia, 117312

⁴ ООО «VNIPIIM»
prospect Lenina, 102, Tula, Russia, 300026

⁵ Ecological faculty
The peoples' friendship university of Russia
Podol'skoye shosse, 8/5, Moscow, Russia, 133093

Biologically active dietary supplement «Transfer-factor» obtained from cow colostrums by the company «4 Life Research Co» (the USA) has positive impact on the immune characteristics of the old laboratory animals and displays the complex gero-prophylaxis influence on the mice's physical state, dynamometric figures of the animals, the metabolism and the free radical mechanisms of ageing. «Transfer-factor» renews the cellular potential growth of old animals' tissues to the values specific for the young age. It can be used for the tissue regeneration activation with the purpose of their healing. As important is the described in the work anti-stress action of this remedy on the immune system and its protection impact on the age-specific and alimentary obesity.

Key words: Practical gerontology, BADS «Transfer-factor», biologically active dietary, gero-stimulator, immune protection, ageing preventing.