

БИОГЕРОНТОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ВИЛОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ

В.Х.Хавинсон, В.Н.Анисимов*, Н.Ю.Заварзина*, М.А.Забежинский*, О.А.Зиминова*, И.Г.Попович*, А.В.Штылик*, В.В.Малинин, В.Г.Морозов

*Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН; *Отдел канцерогенеза и онкогеронтологии НИИ онкологии им. проф. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург*

Подкожное введение вилон (Lys-Glu) самкам мышей линии СВА с 6-месячного возраста в течение всей жизни повышало физическую активность и выносливость, снижало температуру тела, увеличивало продолжительность жизни и угнетало развитие спонтанных новообразований. Вилон не влиял на возрастные изменения эстральной функции и свободнорадикальные процессы у мышей. Длительное введение вилон не оказало никакого неблагоприятного влияния на развитие животных. Полученные данные свидетельствуют о безопасности хронического применения вилон и позволяют рассматривать этот препарат в качестве геропротектора и средства предупреждения возрастной патологии.

Ключевые слова: вилон, продолжительность жизни, репродуктивная функция, физическая активность, мыши линии СВА

Согласно иммунологической теории старения, развивающаяся с увеличением возраста дисфункция иммунной системы приводит к снижению сопротивляемости инфекциям, увеличивает риск развития аутоиммунных заболеваний и рака [7, 8, 10]. Исходя из этого, были предприняты попытки замедлить процесс старения иммунной системы у старых животных пересадками лимфоцитов и тимуса или введением различных иммуномодуляторов и препаратов вилочковой железы [3, 7, 12]. В серии исследований, выполненных в течение 25 лет, выявлена способность полипептидного препарата вилочковой железы тималина увеличивать продолжительность жизни мышей и крыс [1, 2, 4, 5]. Некоторые другие пептидные препараты тимуса, в частности тимозин- α , обладают также иммуномодулирующими и слабыми геропротекторными свойствами [3, 6, 12]. Следует отметить, что возможности клинического применения тималина, несмотря на его эффективность, ограничены, прежде всего в свя-

зи с дефицитом сырья для производства препарата. Синтез биологически активных пептидов тимуса открывает широкие возможности для их внедрения в клиническую практику. Вилон (Lys-Glu) сконструирован на основании анализа аминокислотной последовательности тималина и других пептидов тимуса, а также цитокинов [9].

В настоящей статье представлены результаты изучения влияния вилон на продолжительность жизни, физическую и двигательную активность, репродуктивную функцию, температуру тела, развитие спонтанных опухолей, а также свободнорадикальные процессы у мышей.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Мышей-самок линии СВА ($n=120$) в возрасте 6 мес разделили на две группы по 60 особей. Мышам опытной группы вводили вилон по 0.1 мкг подкожно ежемесячно курсами по 5 дней подряд. Животные контрольной группы получали инъекции физиологического раствора по аналогичной схеме. Каждые 3 мес в течение 2 нед ежедневно у мышей брали влагалищные мазки для цитологического исследования с целью оцен-

Адрес для корреспонденции: 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3, НИИ биорегуляции и геронтологии. vvm@medport.ru. Хавинсон В.Х.

ки эстральной функции. В эти же сроки измеряли ректальную температуру с помощью электронного термометра "ТПЭМ-1" (КМИЗ, Россия) и исследовали двигательную активность мышей в тесте "открытое поле", оценивая количество пересеченных квадратов, вертикальных стоек, длительность реакции груминга морды, тела и гениталий. Кроме того, через 1 год после начала эксперимента оценивали их мышечную силу и утомляемость. Для этого мышей подвешивали на струну, натянутую на высоте 75-80 см, так, чтобы они цеплялись передними лапами и висели на струне. Регистрировали время (в секундах) до момента утомления и падения. Через 20 мин мышей подвешивали второй раз и снова измеряли время, в течение которого мыши могли удержаться на струне. Разницу между этими двумя показателями рассматривали как показатель восстановления сил. Наблюдение продолжали до естественной гибели животных. Регистрировали день гибели и рассчитывали сред-

нюю и максимальную продолжительность жизни, а также возраст 90% смертности. Всех павших или забитых в состоянии крайней слабости животных вскрывали. Выявленные новообразования изучали микроскопически. Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики с использованием пакета статистических программ "Statgraphics".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мыши, получавшие вилон, в возрасте 18 и 21 мес были достоверно ($p < 0.01$) больше контрольных. Регулярные (каждые 3 мес) измерения не выявили сколько-нибудь существенных различий в количестве потребляемого корма между контрольной и опытной группами. Следовательно, увеличение массы в опытной группе не обусловлено влиянием вилон на потребление корма.

В тесте "открытое поле" наибольшую активность в возрасте 6 и 9 мес проявляли мыши кон-

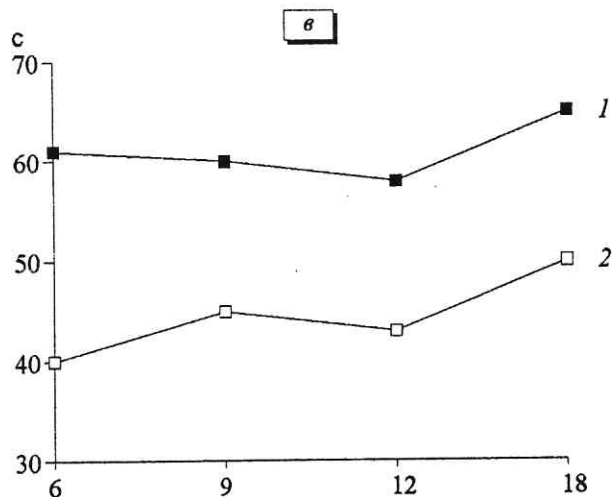
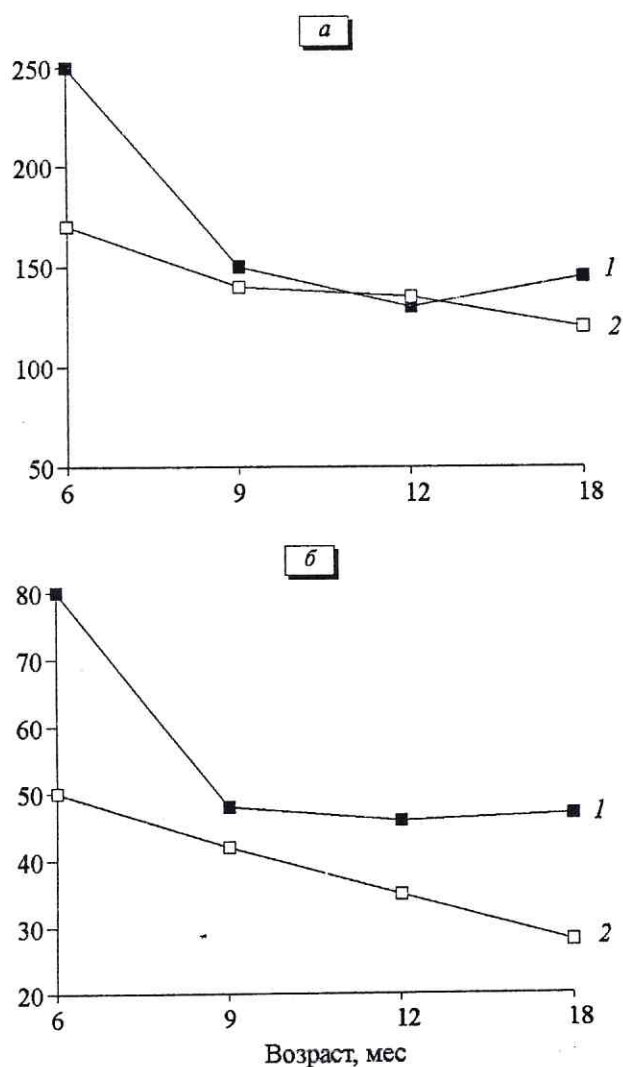


Рис. 1. Возрастная динамика двигательной активности — пересечений квадратов поля (а) и вертикальных стоек (б) в тесте "открытое поле", длительности реакций груминга (в) в контроле (1) и на фоне применения вилон (2).

Влияние вилонна на возрастную динамику температуры тела у мышей ($M \pm m$)

Фаза эстрального цикла	Возраст мышей, мес							
	9		12		15		18	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Эструс	35.8±1.6	37.300±0.116*	37.7±0.2	36.940±0.136****	34.960±2.469	36.940±0.153**	37.110±0.167	37.030±0.085
Диэструс	37.480±0.112	37.330±0.096***	37.73±0.08	36.960±0.122**	37.370±0.183	35.990±0.107**	37.180±0.111	36.430±0.212**
Метаэструс и проэструс	37.400±0.207	36.920±0.319	37.310±0.234	36.610±0.229*	37.260±0.219	36.240±0.146****	37.120±0.136	36.920±0.384****
Без учета фазы	37.420±0.062	37.270±0.076	37.670±0.092***	36.900±0.085***	37.370±0.120	36.000±0.079**	37.130±0.077	36.650±0.144**

Примечание. * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.05$ по сравнению с 12-месячными мышами; * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.05$ по сравнению с контролем того же возраста.

трольной группы ($p < 0.001$). В дальнейшем (в возрасте 12 и 18 мес) различия сглаживались и не были достоверными (рис. 1). Мышечная сила, утомляемость и способность к восстановлению сил у мышей опытной и контрольной групп в возрасте 18 мес характеризовались значительной индивидуальной изменчивостью. Однако среди мышей с повышенной массой (больше 34 г), получавших вилон, отношение массы мышцы к времени подвешивания до падения оказалось достоверно меньшим, чем в контроле, т.е. толстые мышцы, получавшие вилон, и при первом, и при втором подвешивании висели дольше, чем контрольные толстые мыши. Таким образом, длительное введение вилонна увеличивало мышечную силу и снижало утомляемость мышей.

Продолжительность эстрального цикла в контроле с возрастом несколько увеличивалась, при этом относительное число коротких эстральных циклов с возрастом достоверно уменьшалось, тогда как число длинных — увеличивалось. У более старых контрольных мышей встречался анэструс, не наблюдавшийся у более молодых. Длительное введение вилонна не оказывало существенного влияния на возрастную динамику эстральной функции.

У мышей контрольной группы с 9-го по 15-й месяцы жизни наблюдалось отчетливое повышение ректальной температуры в фазу диэструса по сравнению с эструсом (таблица), что обусловлено функционированием желтых тел в яичниках в фазу диэструса. У 18-месячных контрольных мышей повышения ректальной температуры в фазу диэструса не наблюдалось — показатели температуры были постоянны вне зависимости от фазы цикла. У мышей контрольной группы с возрастом не наблюдалось сколько-нибудь существенного изменения температуры тела как в среднем, так и в любую из фаз эстрального цикла. У мышей, получавших вилон, не наблюдалось циклических изменений ректальной температуры в течение эстрального цикла и изменений ее с возрастом. Важно отметить, что средняя температура тела у мышей этой группы была меньшей, чем у контрольных животных, фазу диэструса с 12-го по 18-й месяц жизни.

Динамика выживаемости не различалась в обеих группах до возраста 21 мес, после чего наблюдалось отчетливое уменьшение смертности под влиянием вилонна (рис. 2). Число мышей, доживших до возраста 22 мес, в опытной группе было в 1.24, а до 23-месячного — в 2.57 раза выше, чем в контроле ($p < 0.01$). Таким образом, кривая выживаемости мышей, получавших вилон, была смещена вправо относительно кривой

чем (в
лись и
я сила,
лению
рупп в
ельной
среди
г), по-
к вре-
сь до-
олстые
и при
м кон-
г, дли-
ечную

в кон-
сь, при
льных
алось.
ось. У
ечался
лодых.
ло су-
намику

то 15-й
выше-
струса
услов-
ични-
троль-
рату-
пока-
зави-
льной
ко-ни-
ы тела
льного
аблю-
й тем-
изме-
сред-
а была
фазу

лась в
е чего
ности
ышей.
груп-
7 раза
разом.
их ви-
ривой

для контрольных мышей. Средняя продолжительность жизни мышей в обеих группах достоверно не различалась и составила 685.0 ± 9.2 и 694.0 ± 12.5 сут соответственно, тогда как продолжительность жизни последних 10% животных под воздействием вилона достоверно увеличилась (с 737.0 ± 1.1 сут в контроле до 761.0 ± 7.7 сут при введении дипептида, $p < 0.05$), а максимальная продолжительность жизни под воздействием вилона увеличилась почти на 2 мес (740 и 792 сут соответственно), что может свидетельствовать о некотором замедлении скорости старения животных во второй половине жизни под влиянием вилона.

В контрольной группе общая частота опухолей составила 30%. Наиболее часто развивались аденомы легких (в 20% случаев) и новообразования молочной железы (8%). Применение вилона определенно угнетало спонтанный канцерогенез, что выразилось в снижении частоты развития всех опухолей (в 1.5 раза) и их множественности (в 1.8 раза), а также в увеличении средней продолжительности жизни животных с опухолями (в среднем более чем на 1 мес). Под влиянием вилона у мышей в 2 раза реже развивались аденомы легких ($p < 0.05$), отмечалась тенденция к снижению частоты развития аденокарцином молочной железы.

Таким образом, длительное введение вилона сопровождается увеличением продолжительности жизни и угнетением развития спонтанных новообразований у самок мышей линии СВА. Применение вилона положительно влияет на физическую активность и выносливость животных. При этом выявлено увеличение массы тела мышей, снижение двигательной активности и температуры тела, что особенно важно, поскольку снижение температуры тела и связанное с ним замедление метаболических процессов в организме увеличивает продолжительность жизни животных [12].

Следует подчеркнуть, что геропротекторный и противоопухолевый эффекты вилона не связаны с его влиянием на массу тела и потребление корма. Ограничение калорийности питания и обусловленное этим снижение массы тела существенно замедляют старение лабораторных грызунов и угнетают развитие у животных спонтанных опухолей [3,12]. Отмечают, что при ограничении калорийности питания замедляется старение иммунной системы [12]. Есть основания предполагать, что иммуномодулирующие свойства вилона [9] играют ведущую роль в его геропротекторном и противоопухолевом действии.

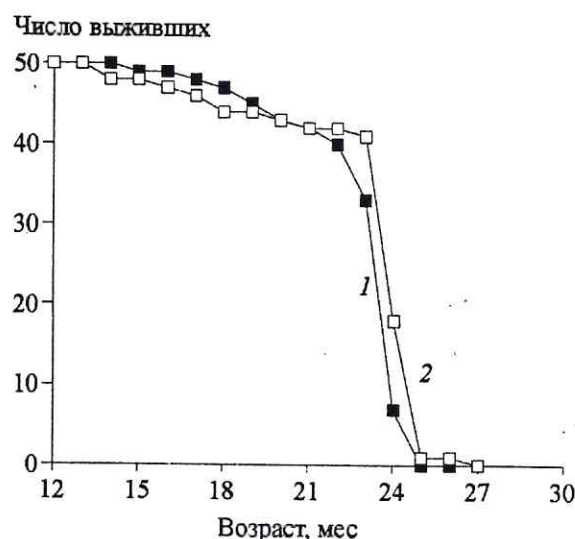


Рис. 2. Влияние вилона на продолжительность жизни мышей.

Результаты данного исследования согласуются с ранее полученными данными о безопасности длительного применения пептидных препаратов, выделенных из тимуса, и наличии у них геропротекторных и антиканцерогенных свойств [1,2,4,5], что позволяет рассматривать вилон в качестве геропротектора и средства предупреждения развития возрастной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. // Докл. АН СССР. - 1982. - Т. 263. - С. 742-745.
2. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). - СПб., 1996.
3. Anisimov V.N. Carcinogenesis and aging. - Boca Raton, 1987. - Vol. 2.
4. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Morozov V.G. // Mech. Ageing Dev. - 1982. - Vol. 19. - P. 245-258.
5. Anisimov V.N., Loktionov A.S., Khavinson V.Kh., Morozov V.G. // Ibid. - 1989. - Vol. 49. - P. 245-257.
6. Ghanta V.K., Hiramoto N.S., Soong S.-J., Hiramoto R.N. // Ann. N. Y. Acad. Sci. - 1991. - Vol. 621. - P. 239-255.
7. Kay M.M.H., Makinodan T. Handbook of immunology of aging. - Boca Raton, 1986.
8. Miller R. // Int. Rev. Cytol. - 1991. - Vol. 124. - P. 187-216.
9. Morozov V.G., Khavinson V.Kh. // Int. J. Immunopharmacol. - 1997. - Vol. 19. - P. 501-505.
10. Walford R.L. // Fed. Proc. - 1974. - Vol. 33. - P. 2020-2027.
11. Weindruch R., Walford R.L. The retardation of aging and disease by dietary restriction. - Springfield, 1988.
12. Zatz M.M., Goldstein A.L. // Gerontology. - 1985. - Vol. 31. - P. 263-277.

Получено 22.06.00