

*И.В. Гаврилов^{1,2,3}, В.Н. Мещанинов^{1,2},
Т.Ю. Вержбицкая¹, В.В. Кириллова^{1,2},
В.С. Мякотных², В.А. Лукаш^{1,2},
Н.М. Черепанова¹, У.В. Звезденинова²,
Н.Н. Ванчугова², Д.Л. Щербаков^{1,2},
Е.М. Варлашов^{1,2}, Н.С. Манакова¹,
Е.Д. Решетников¹, А.В. Даниловцева²,
С.Д. Трубачев²*

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕРОПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ МЕТАБОЛИТОВ

¹ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;

³ГАУЗ СО «СОКП госпиталь для ветеранов войн»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Ключевые слова: клетки, молекулы, метаболизм, биологический возраст, L-аргинин, интерлейкин-2, геропротекторная профилактика, противоопухолевая эффективность.

Введение

Успехи мировой медицины и рост безопасности окружающей среды не только увеличили продолжительность жизни людей в большинстве стран, но и заметно повысили вклад процессов старения в качество и продолжительность жизни современного человека [1, 2]. Поиски геропротекторов идут в разнообразных направлениях. При этом, несмотря на многочисленные исследо-

вания и открытия в области старения, эффективных способов увеличения продолжительности жизни человека обнаружено относительно немного, в том числе, наиболее часто используемые из них, в основном клеточно-метаболического и генорегуляторного механизма действия [3, 4, 5, 6, 7].

Перспективным направлением в геронтологии представляется использование стволовых клеток в качестве геропротекторов. Об этом свидетельствуют данные о роли стволовых клеток в регенерации тканей организма, о наличии у них возрастной динамики [7, 8]. Однако, с одной стороны, современное законодательство ограничивает применение стволовых клеток для человека, а с другой стороны многие клеточные технологии пока далеки от совершенства и небезопасны.

В связи с этим, представляется интересным изучение геропротекторных свойств у биоактивных метаболитов, способных влиять в организме человека не только на метаболизм, но и на различные клеточные популяции стволовых клеток.

Данные наших предварительных исследований на животных, а также многочисленные результаты работ других авторов позволяют полагать, что такими цитокорригирующими свойствами могут обладать L-аргинин и интерлейкин-2 [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Кроме геропротекторных свойств, данные биоактивные метаболиты используются в разработке иммунотерапии для лечения онкологических заболеваний, количество которых в последние годы начало увеличиваться. Данные заболевания ведут к уменьшению продолжительности жизни и являются одной из ключевых причин смертности. Так же можно отметить, что увеличивается доля женщин, которые страдают раком репродуктивной системы в молодом возрасте. Ранняя диагностика и развитие более щадящих и эффективных препаратов для лечения, является актуальной проблемой в современном мире [2, 16].

Впервые серьезный научный интерес к L-аргинину проявился в середине 80-х годов прошлого века, когда серией экспериментов было доказано, что эта незаменимая аминокислота может стимулировать выработку гормона роста. Этот эффект

позволяет причислить данную аминокислоту к группе препаратов, замедляющих процесс старения. Особого внимания заслуживает воздействие L-аргинина на иммунитет. Известно, что он стимулирует деятельность НК-клеток, лимфокин активированных киллеров (ЛАК) и Т-лимфоцитов, вырабатываемых тимусом [17].

В ряде исследований отмечается, что снижение концентрации L-аргинина в микроокружении опухоли ослабляет выработку NO и снижает его цитотоксическое воздействие на опухолевые клетки. Кроме этого, недостаток данной аминокислоты негативно сказывается на пролиферации Т-киллеров и естественных киллеров. Истощение L-аргинина в опухолевых клетках связывают с повышенной активностью фермента аргиназы. Было обнаружено две изоформы аргиназы ARG1 и ARG2, первая экспрессируется в основном в клетках печени и миелоидных клетках, а вторая имеется в различных клетках организма, но ее активность ниже по сравнению с первой. Количество и активность данного фермента резко увеличено при онкологии, и обычно связано с более тяжелым протеканием болезни и худшим клиническим прогнозом [18, 19].

Выработка аргиназы макрофагами приводит к ингибированию противоопухолевого ответа через деградацию L-arg, и увеличивает пролиферацию опухолевых клеток, что связано с выработкой L-орнитина, а затем полиамина-путресцина, способствующих пролиферации опухолевых клеток [18].

В эксперименте было показано, что дробное назначение высоких доз аргинина в течение дня приводит к возрастанию активности НК-клеток на 91% [20, 17]. По данным Song J.X. et al., парентеральное назначение L-аргинина больным с иммунодепрессией после операции по поводу рака толстой кишки существенно повышает уровень CD4-лимфоцитов, НК-клеток, ИЛ-2R и соотношения CD4+/CD8+ [11].

Таким образом, неспецифическую стимуляцию иммунной системы организма, и, как следствие, предотвращение возрастного угнетения активности клеток иммунной системы можно рассматривать в качестве одного из возможных геропротектор-

ных свойств L-аргинина. С другой стороны, коррекцию аминокислотного обмена и количества L-аргинина можно считать одним из направлений в иммунотерапии для борьбы как с онкологией [18], так, по-видимому на этой основе, и со старением.

Показано, что одним из наиболее важных и хорошо изученных лимфокинов, участвующих в процессе развития и усиления иммунного ответа, является интерлейкин-2 (IL-2) [12]. Интерлейкин-2 (IL-2) — мономерный секретируемый гликопротеин, полипептидная часть которого состоит из 133 аминокислот (15,4 кДа). Его предшественник дополнительно включает 20 аминокислот на N-конце, которые являются гидрофобным секреторным сигналом, важным для взаимодействия с рецептором IL-2. IL-2 относится к провоспалительным цитокинам Th1 типа. Он оказывает воздействие на многие типы клеток, из которых самыми предпочтительными являются T-лимфоциты. Индуцированное этим цитокином деление осуществляется посредством пропролиферативных сигналов от протоонкогенов *c-fos* и *c-myc* в сочетании с антиапоптотическими сигналами от членов семейства Bcl-2. В дополнение к антиапоптотическим сигналам IL-2 также оказывает позитивное воздействие на клеточный метаболизм и гликолиз, которые необходимы для длительного выживания T-клеток. Антиген-индуцированный иммунный ответ T-клеток критически регулируется взаимодействием IL-2 с высокоаффинным IL-2 рецепторным (IL-2R) комплексом. Регуляторный промотор гена IL-2 не является «высококонсервативным энхансером», который способен регулировать экспрессию данного гена *in vivo* и на котором может собираться энхансеосома. Его можно рассматривать как минимальный регуляторный регион гена интерлейкина-2 [15].

В целом, зависимость широкого круга связанных с возрастом патологических процессов (аутоиммунных заболеваний, опухолей) от дефектов иммунной системы привела к появлению предположения, что старение иммунной системы может ограничивать продолжительность жизни [5]. Связанные с возрастом изменения в фенотипе и в функциях клеток иммунной системы существенно влияют на процессы старения, и наибольшая роль

в старении организма выделяется Т-клеточному иммунному ответу. Возрастной дисбаланс в продукции цитокинов приводит к изменениям в числе и функциях иммунных клеток, что может способствовать различным нарушениям иммунного ответа у пожилых людей [21].

Связанное с возрастом уменьшение индукции митогенами мРНК интерлейкина-2 в лимфоцитах грызунов и человека соответствует возрастному снижению биологической активности этого интерлейкина [13]. ИЛ-2 активирует цитотоксические Т-лимфоциты, стимулирует естественные киллеры и генерирует лимфокин-активированные киллеры, индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов [12].

В настоящее время работа с интерлейкином 2 ведется в направлении терапии для онкобольных. Метод основан на экстракорпоральной генерации в присутствии интерлейкина 2 (ИЛ-2) лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) с их последующим введением в организм больного человека [22, 23].

Для реализации лизиса клеток-мишеней ЛАК не нужна антигенная презентация: сигналом для киллинга служит отсутствие или слабая экспрессия на опухолевых клетках главного комплекса гистосовместимости. Нередко низко- и недифференцированные опухолевые клетки на различных стадиях своей прогрессии теряют данные комплексы и соответственно становятся уязвимыми для естественных киллеров и ЛАК-клеток.

Использование аллогенных ЛАК-клеток и отечественного препарата «Ронколейкин» (рекомбинантный интерлейкин-2 человека, ООО НПК «Биотех», Россия) в комбинации или в монорежиме предложено для иммунотерапии опухолевых серозитов. В ряде исследований показано, что применение данных методов терапий характеризуется высокой клинической эффективностью и позволяет достичь объективного ответа при опухолевых плевритах, опухолевых асцитах и опухолевых перикардитах. Данные виды иммунотерапий были хорошо переносимы пациентами и не вызывали серьезных побочных эффектов. Применение внутрисплеточной ИЛ-2-биотерапии можно считать одним из доступных вариантов в лечении опухолевых серозитов

у больных [22, 23].

Доказано, что включение рекомбинантного интерлейкина-2 в высоких дозах (9 мг/м²/сут.) в схему лечения больных диссеминированными формами меланомы стимулирует Т-клеточное звено иммунитета: увеличивается количество Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD4+) и естественных киллеров (CD16+) ($p < 0,05$) [14]. Также установлено, что ИЛ-2 стимулирует синтез и секрецию целого ряда других лимфокинов: ИЛ-4, ИЛ-6, гамма-интерферона, колоний-стимулирующих факторов (CSFs), факторов некроза опухолей (TNFs) [13].

Имеются сведения о том, что помимо интерлейкина-2, существуют другие классы интерлейкинов с геропротекторным действием. Примером является интерлейкин-6 (ИЛ-6) — многофункциональный цитокин, играющий важную роль в острой фазе воспаления. В обычном состоянии, в отсутствие воспалительных процессов, ИЛ-6 не экспрессируется и практически не детектируется в крови. Однако, с началом старения, этот цитокин начинает экспрессироваться, что связывают с возраст-зависимой потерей нормальной регуляции экспрессии ИЛ-6 [24, 25].

Исследования уровня интерлейкинов в сыворотке крови людей показали, что процесс старения сопровождается дисрегуляцией продукции ИЛ-2 и ИЛ-6: у здоровых людей 60-70 лет уровень ИЛ-2 в сыворотке крови в норме, тогда как у людей, не принадлежащих к группе здоровых и почти здоровых, уровень ИЛ-2 снижен [26].

На клеточные популяции стволовых клеток также влияют хемокины, играющие важную роль в мобилизации и хоуминге CD34(+) клеток, конечным продуктом дифференцировки которых и являются иммунные клетки [27]. Одним из таких хемокинов является ИЛ-8. Повышение концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-8 достоверно коррелирует с темпом старения. Это позволяет использовать этот иммунологический показатель в качестве маркера преждевременного старения, а изменение его концентрации может свидетельствовать об активности процессов старения на фоне проведения геропротективных мероприятий [28, 29].

Таким образом, способность интерлейкинов, в частности, интерлейкина-2, и L-аргинина влиять на клеточные популяции, в том числе и при опухолевом росте, позволяет считать эти метаболиты перспективными в изучении геропротекторных свойств. Вероятность снижения темпов старения и биологического возраста через клеточно-опосредованные механизмы требует тщательного исследования влияния ИЛ-2 и L-аргинина на организм человека с целью дальнейшего использования их в качестве геропротекторов.

Цель

Оценить возможности использования потенциальных геропротекторных и противоопухолевых метаболитов интерлейкин-2 и L-аргинин для коррекции биологического возраста человека.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено с привлечением 55 пациентов мужского (32) и женского пола (23) с календарным возрастом от 29 до 83 лет: исследование влияния интерлейкина-2 на биохимические, гематологические, функционально-психологические показатели и темп старения — 18 пациентов мужского пола, L-аргинина — 14 мужского и 23 — женского пола. В исследование были включены пациенты с полиоморбидной патологией (5-7 хронических заболеваний в стадии стойкой ремиссии). Критериями исключения были: обострение хронических заболеваний, травмы, операции менее, чем за год до исследования, наличие опухолевых или инфекционных процессов. Контрольная группа — аналогичное число практически здоровых людей, того же пола и возраста, проходивших обследование в лаборатории антивозрастных технологий и госпитале ветеранов войн и не получавших указанных воздействий или каких-либо других лечебных воздействий. В качестве геропротекторной терапии была использована схема применения «Вазотона» на основе нозологического указателя Регистра лекарственных средств России, содержащего ряд возраст-зависимых нозологий

(хроническая сердечная недостаточность, гипертоническая болезнь, сахарный диабет и др.), стандартная рекомендованная в аннотации к данному БАД («Вазотон», хим. L-аргинин, ООО «Алтайвитамины») курс 14 дней по 1 капсуле 500 мг энтерально, 2 раза в сутки.

Интерлейкин-2 человека (Ронколейкин — рекомбинантный интерлейкин-2 человека, ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург) курс по 5 внутримышечных инъекций по 500 тыс. МЕ в течение 10 дней, по 1 инъекции через сутки.

На анализаторе Chem Well Combi (Awareness Technology, США,) в сыворотке крови пациентов с использованием реактивов «SPINREACT» (Испания) определяли общие биохимические показатели, отражающие обмен белков, липидов, углеводов. В периферической крови пациентов определяли общие гематологические показатели (гематологический анализатор ERMA PCE 90, Walpole, США, при обнаружении патологии — Микроскоп Mikros MC 300TFXS, тринокулярный, флюоресцентный с оптикой ICO Infinitive, Micros, Австрия с помощью камеры Горяева — общее содержание эритроцитов и лейкоцитов или окраски по Романовскому – разновидности лейкоцитов) и содержание гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) по маркерам CD34+ методом 2-цветной проточной цитометрии на приборе FACS Canto II (Becton & Dickinson (BD), США) [9, 30, 31, 32].

У пациентов исследовали физиологические возраст-зависимые показатели и для оценки геропротективного эффекта определяли биовозраст (программа «BIOAGE Polinom», свидетельство № 2012613817) [33, 34].

Статистическая обработка результатов исследований проводилась методами вариационной статистики с применением программного комплекса Stata 6.0 (Stata Corporation, США) на персональном компьютере в операционной системе Microsoft Windows XP Home Edition.

Результаты исследования

Установлено, что интерлейкин-2 и L-аргинин способны оказывать заметное влияние на состояние биохимических, гемато-

логических, физиологических показателей человека и в целом на темп старения пациентов.

Применение интерлейкина-2 и L-аргинина обнаружило анаболическое влияние на обмен белка. Под действием интерлейкина-2 у пациентов мужского пола в сыворотке крови наблюдалось достоверное повышение содержания общего белка (5,5%, $p < 0,05$) (Табл. 1).

Таблица 1
Влияние интерлейкина-2 на некоторые биохимические показатели сыворотки крови пациентов мужского пола

Показатели, единицы измерения	Значения		Отличия, достоверность
	До лечения	После лечения	
Общий белок, г/л	70,64±1,49	74,53±1,5	5,5% *
Альбумин, г/л	50,46±1,12	52,6±0,78	4,2%
Глобулины, г/л	20,18±0,85	21,93±1,22	8,7%
Триглицериды, ммоль/л	1,39±0,22	1,28±0,17	-8,1%
Общий холестерин, ммоль/л	4,18±0,16	4,1±0,13	-1,8%
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	2,15±0,3	2,5±0,37	16,3%
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	1,4±0,42	1,02±0,45	-26,9%
Коэффициент атерогенности, отн. ед.	1,65±0,34	1,23±0,26	-25,7%

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Под действием L-аргинина у пациентов женского пола в сыворотке крови наблюдалось достоверное повышение содержания общего белка (8%, $p < 0,01$), альбумина (5,5%, $p < 0,05$) и глобулинов (15,7%, $p < 0,01$) (Табл. 2).

Аналогичное анаболическое действие интерлейкина-2 у зрелых и старых лабораторных животных при воспроизведении у них кровопотери было обнаружено нами ранее [10]. Интерлейкин-2 воздействовал на липидный обмен у пациентов мужского пола в виде тенденции в снижении содержания в сыворотке крови триглицеридов (-8,1%, $p > 0,05$), холестерина ЛПНП (-26,9%,

$p > 0,05$) и снижения коэффициента атерогенности ($-25,7\%$, $p > 0,05$). L-аргинин в свою очередь вызвал похожие изменения у мужчин: снижение содержание в сыворотки крови общего холестерина ($-11,2\%$, $p < 0,05$), холестерина ЛПНП ($-18,1\%$, $p > 0,05$) и снижения коэффициента атерогенности ($-17,2\%$, $p > 0,05$) (Табл. 1, 2). Следует заметить, что у пациентов женского пола L-аргинин вызвал заметное повышение в крови триглицеридов ($69,2\%$, $p < 0,01$) (Табл. 2), что может свидетельствовать о запуске липолиза у них в жировой ткани, более развитой, чем у мужчин и, с нашей точки зрения, как неблагоприятное побочное действие препарата расценено быть не может.

Таблица 2
Влияние аргинина на некоторые биохимические показатели пациентов мужского и женского пола

Показатели, единицы измерения	Пол	Значения		Отличия, достоверность
		До лечения	После лечения	
Общий белок, г/л	Женщины	64,22±1,38	69,37±1,24	8% **
	Мужчины	70,75±0,69	72,39±0,89	2,3%
Альбумин, г/л	Женщины	47,07±0,7	49,53±0,61	5,2% *
	Мужчины	49,7±1,24	51,22±0,77	3,1%
Глобулины, г/л	Женщины	17,15±0,89	19,85±0,91	15,7% **
	Мужчины	21,05±0,97	21,73±0,93	3,2%
Триглицериды, ммоль/л	Женщины	0,93±0,07	1,57±0,18	69,2% **
	Мужчины	1,33±0,25	1,33±0,25	-0,2%
Холестерин общий, ммоль/л	Женщины	4,68±0,19	4,79±0,21	2,4%
	Мужчины	5,13±0,23	4,55±0,22	-11,2% *
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	Женщины	1,27±0,07	1,26±0,06	-0,4%
	Мужчины	1,09±0,03	1,13±0,09	3,2%
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	Женщины	2,99±0,16	2,82±0,17	-5,7%
	Мужчины	3,43±0,15	2,81±0,25	-18,1%
Коэффициент атерогенности, отн. ед.	Женщины	2,9±0,22	2,8±0,19	-3,2%
	Мужчины	3,73±0,22	3,09±0,34	-17,2%

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Влияние интерлейкина-2 и L-аргинина на гематологические показатели крови также было достаточно выраженным. Под действием интерлейкина-2 в крови пациентов мужского пола наблюдалось повышение содержания лейкоцитов (18,1%, $p < 0,001$), которое происходило за счет лимфоцитов (9,9%, $p < 0,05$) и гранулоцитов (25,5%, $p < 0,001$) (Табл. 3). Аналогичное действие интерлейкина-2 на лейкоциты ранее было обнаружено нами у лабораторных животных зрелого возраста [10].

Таблица 3
Влияние интерлейкина-2 на некоторые гематологические показатели и маркеры стволовых клеток периферической крови пациентов мужского пола

Показатели, единицы измерения	Значения		Отличия, достоверность
	До лечения	После лечения	
Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	7,16 \pm 0,47	8,46 \pm 0,54	18,1% ***
Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	3,08 \pm 0,12	3,38 \pm 0,14	9,9% *
Моноциты $\times 10^9/\text{л}$	0,23 \pm 0,01	0,27 \pm 0,03	15,6%
Гранулоциты $\times 10^9/\text{л}$	3,83 \pm 0,36	4,81 \pm 0,42	25,5% ***
Лимфоциты %	44,24 \pm 1,61	41,1 \pm 1,53	-7,1% **
Моноциты %	3,59 \pm 0,12	3,39 \pm 0,25	-5,7%
Гранулоциты %	52,17 \pm 1,65	55,51 \pm 1,58	6,4% **
Эритроциты $\times 10^{12}/\text{л}$	4,85 \pm 0,07	4,88 \pm 0,04	0,6%
Гемоглобин г/л	137,67 \pm 2,75	134,39 \pm 1,99	-2,4%
Гематокрит %	45,26 \pm 0,84	44,83 \pm 0,67	-0,9%
Маркер стволовых клеток CD34+, Ед./1000 клеток	0,024 \pm 0,002	0,021 \pm 0,001	-12,1%*

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

L-аргинин не повлиял на общее содержание в крови пациентов лейкоцитов, при этом изменил их соотношение. Под действием L-аргинина в крови возросло содержание лимфоцитов (абсолютно у женщин (♀) +14%, $p > 0,05$; у мужчин (♂) +11,7%, $p > 0,05$; относительно у ♀ +8,8%, $p > 0,05$; у ♂ +18%, $p < 0,01$) и снизилось содержание моноцитов (абсолютно у ♀ -7,9%, $p > 0,05$; у ♂ -26,8%, $p > 0,05$; относительно у ♀ -14,9%, $p > 0,05$; у ♂ -13,7%, $p > 0,05$) и гранулоцитов (абсолютно у ♀ 5,8%%,

$p > 0,05$; у ♂ -19% $p < 0,01$; относительно у ♀ -5,6%, $p > 0,05$; у ♂ -13,5%, $p < 0,01$). Кроме того, L-аргинин вызвал повышение в крови пациентов эритроцитов (у ♀ +7,6%, $p < 0,01$; у ♂ +3,1%, $p > 0,05$) и гематокрита (у ♀ +5,6%, $p < 0,05$; у ♂ +3,7%, $p < 0,05$) (Табл. 4).

Таблица 4
Влияние аргинина на некоторые гематологические показатели и маркеры стволовых клеток периферической крови пациентов мужского и женского пола

Показатели, единицы измерения	Пол	Значения		Отличия, достоверность
		До лечения	После лечения	
Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	Женщины	6,21±0,25	6,75±0,3	8,7%
	Мужчины	6,21±0,29	5,82±0,28	-6,3%
Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	Женщины	2,57±0,13	2,93±0,2	14%
	Мужчины	2,63±0,17	2,93±0,11	11,7%
Моноциты $\times 10^9/\text{л}$	Женщины	0,28±0,03	0,26±0,03	-7,9%
	Мужчины	0,25±0,04	0,18±0,02	-26,8%
Гранулоциты $\times 10^9/\text{л}$	Женщины	3,36±0,16	3,56±0,16	5,8%
	Мужчины	3,33±0,25	2,7±0,23	-19% **
Лимфоциты, %	Женщины	41,49±1,63	45,16±0,85	8,8%
	Мужчины	42,84±2,46	50,54±1,38	18% **
Моноциты, %	Женщины	4,66±0,41	3,97±0,38	-14,9%
	Мужчины	4,14±0,52	3,58±0,48	-13,7%
Гранулоциты, %	Женщины	53,85±1,6	50,81±0,9	-5,6%
	Мужчины	53,02±2,33	45,88±1,79	-13,5% **
Эритроциты $\times 10^{12}/\text{л}$	Женщины	4±0,1	4,3±0,06	7,6% **
	Мужчины	4,96±0,09	5,11±0,07	3,1%
Гемоглобин, г/л	Женщины	106,1±1,96	110,4±1,95	4,1%
	Мужчины	132,25±1,5	133,2±1,47	0,7%
Гематокрит, %	Женщины	35,33±0,62	37,31±0,66	5,6% *
	Мужчины	42,57±0,63	44,15±0,39	3,7% *
Маркер стволовых клеток CD34+, Ед./1000 клеток	Женщины	0,013±0,002	0,02±0,002	53,8% ***
	Мужчины	0,021±0,003	0,026±0,003	23,8% **

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

У интерлейкина-2 и L-аргинина обнаружено влияние на содержание в периферической крови маркеров гемопоэтических стволовых клеток. Через 14 дней после начала действия L-аргинина в крови пациентов было обнаружено повышение содержания маркеров гемопоэтических стволовых клеток CD34+ (у ♀ +53,8%, $p < 0,001$; у ♂ +23,8%, $p < 0,01$) (Табл. 4). А через 10 дней после начала введения интерлейкина-2 в крови пациентов отмечалось, наоборот, снижение содержания маркера гемопоэтических стволовых клеток CD34+ (-12,1%, $p < 0,05$) (Табл. 3).

Такую разность в направленности эффектов на данном этапе исследования мы объясняем возможным наличием выраженной фазности ответной реакции на введение цитокинов, что подтверждают данные литературы [4, 6, 8, 35] и требуют проведения дополнительных исследований в динамике воздействия.

Интерлейкин-2 вызвал у пациентов мужского пола улучшение ряда физиологических показателей: снижение артериального систолического давления (-9,7%, $p < 0,01$), артериального диастолического давления (-6,4%, $p < 0,01$), артериального пульсового давления (-15,2%, $p < 0,05$), количества баллов теста субъективной оценки здоровья (-21,2%, $p < 0,05$); увеличение времени статической балансировки (35,2%, $p < 0,01$), скорости выполнения теста Векслера (14,4%, $p < 0,001$), времени задержки дыхания на вдохе (+13,4%, $p > 0,05$) и аккомодации (+89,3%, $p > 0,05$). В результате под действием интерлейкина-2 у пациентов мужского пола наблюдалось существенное снижение биовозраста (-14,9%, $p < 0,001$) (Табл. 5), что может соответствовать его анаболическому и отчасти гипополипидемическому эффектам, а также подтверждается выявленными нами признаками активацией лейко- и гранулоцитопоэза.

У пациентов женского пола под действием L-аргинина улучшался результат субтеста Векслера (+10,0%, $p < 0,05$), субъективная оценка здоровья (-12,1%, $p < 0,05$), недостоверно улучшалась статическая балансировка (+106,1%, $p > 0,05$), задержка дыхания на вздохе (+10,8%, $p > 0,05$) и аккомодация (+13,5%, $p > 0,05$) (Табл. 6).

Таблица 5
Влияние интерлейкина-2 на некоторые физиологические показатели и биологический возраст пациентов мужского пола

Показатели, единицы измерения	Значения		Отличия, достоверность
	До лечения	После лечения	
Артериальное давление систолическое, мм рт. ст.	127,78±2,64	115,33±3,87	-9,7% **
Артериальное давление диастолическое, мм рт. ст.	79,67±2,15	74,56±2,55	-6,4% **
Артериальное давление пульсовое, мм рт. ст.	48,11±2,22	40,78±2,35	-15,2% *
Статическая балансировка, сек.	18,33±3,75	24,78±3,69	35,2% **
Субъективная оценка здоровья, бал.	12,56±1,38	9,89±1,18	-21,2% *
Тест Векслера, бал.	41,78±2,57	47,78±2,87	14,4% ***
Календарный возраст, лет	47,89±1,05	47,89±1,05	0%
Биологический возраст, лет	46,89±1,48	39,89±2,29	-14,9% ***

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Таблица 6
Влияние аргинина на некоторые физиологические показатели и биологический возраст пациентов мужского и женского пола

Показатели, единицы измерения	Пол	Значения		Отличия, достоверность
		До лечения	После лечения	
Жизненная емкость легких, л.	Женщины	2636±269	2454±260	-6,9% ***
	Мужчины	3783±503	3988±420	5,4%
Статическая балансировка, сек.	Женщины	7,33±1,73	15,11±4,65	106,1%
	Мужчины	26,17±7,95	29±9,46	10,8%
Субъективная оценка здоровья, бал.	Женщины	15,56±1,59	13,67±1,57	-12,1% *
	Мужчины	12±1,75	11,5±2,31	-4,2%
Тест Векслера, бал.	Женщины	36,78±5,38	40,44±5,84	10% *
	Мужчины	40,83±8,54	42,17±8,96	3,3%
Биологический возраст, лет	Женщины	62,67±4,96	58,89±5,95	-6% *
	Мужчины	51±8,43	49,67±8,18	-2,6%

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

В результате под действием L-аргинина у пациентов женского пола наблюдалось снижение биовозраста (-6,0%, $p < 0,05$) (Табл. 6). У мужчин под действием L-аргинина физиологические составляющие биологического возраста достоверно не изменялись.

Заключение

Установлено, что интерлейкин-2 и L-аргинин способны в течение короткого курсового воздействия в тестовом режиме, в течение 10-14 суток, оказывать влияние на некоторые биохимические, гематологические и физиологические показатели пациентов, и замедлять темп старения пациентов с полиморбидностью, по-видимому, за счет реализации анаболического, цитопротективного и стимулирующего физиологические функции ЦНС и организма в целом на этой основе. Наиболее выраженный геропрофилактический эффект по показателю биовозраста обнаружен у интерлейкина-2 для пациентов мужского пола. Возможно, геропрофилактический эффект изученных веществ опосредован также и ролью стволовых гемопоэтических клеток, содержание которых под действием L-аргинина и интерлейкина-2 существенно и достоверно, но при этом разнонаправленно изменяется, выявляя их явную заинтересованность в этом процессе. Обнаруженное нами зависимое от пола снижение биологического возраста под действием интерлейкина-2 и L-аргинина показывает возможность групповой пол-зависимой персонализации при их применении и реализации ими не только реально измеренной геропрофилактической активности, но и в качестве ее потенциальной основы – также и противоопухолевой фармакодинамики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мещанинов В.Н., Цывьян П.Б., Мякотных В.С., Ковтун О.П., Щербаков Д.Л., Благодарева М.С. Онтогенетические принципы ускоренного старения и перспективы его профилактики и лечения // Успехи геронтологии. 2021. Т. 34. № 4. С. 637-648.
2. Новикова Е.А., Крохалев В.Я., Костромина О.В., Демидов

С.М., Сазонов С.В. Возрастные особенности распределения частоты встречаемости люминального а молекулярно-биологического подтипа рака молочной железы // Вестник уральской медицинской академической науки. 2021.Т. 18. № 1. С. 36-40,

3. Хавинсон В.Х., Михайлова О.Н., Попович И.Г. Увеличение ресурса жизнедеятельности человека в условиях новой демографической реальности // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. 2021. № 1. С. 30-37.

4. Мякотных В.С., Торгашов М.Н., Егорин К.В., Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В., Боровкова Т.А., Звездина Е.М., Вержбицкая Т.Ю., Ткаченко Е.Л. Сравнительный анализ разных методов геропротекции // Успехи геронтологии. 2016. Т. 29. № 4. С. 594-601.

5. Семиглазова Т.Ю., Алексеева Ю.В., Ткаченко Е.В., Шарашенидзе С.М., Балдуева И.А., Волчёнков С.А., Ковязин А.К., Филатова Л.В., Каспаров Б.С., Семиглазов В.В., Проценко С.А., Анисимов В.Н., Беляев А.М. Особенности обследования и системного лечения злокачественных новообразований у больных геронтологического профиля // Фарматека. 2021. Т. 28. № 7. С. 138-145.

6. Коркушко О.В., Копчак О.О., Шатило В.Б., Бачинская Н.Ю. Метаболический синдром и когнитивные нарушения у больных старшего возраста с дисциркуляторной энцефалопатией // Успехи геронтологии. 2015. Т. 28. № 3. С. 546-554.

7. Зиновкин Р.А., Скулачев М.В., Скулачев В.П. Митохондриальный геном и продолжительность жизни (мини-обзор) // Биохимия. 2016. Т. 81. № 12. С. 1669-1674.

8. Галицкий В. А. Эпигенетическая природа старения // Цитология. 2009. Т. 51, № 5. С. 388–397.

9. Bernardo M.E. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms // Cancer Res. 2007. Vol. 67. № 19. P. 9142-9149.

10, Бродовикова Н.А., Гаврилов И.В., Валамина И.Е. Исследование геропротекторных механизмов ИЛ-2 на лабораторных животных // Аллергология и иммунология. 2011. Т. 12. № 1. С. 41-42.

11. Song J.X., Qing S.H., and Huang X.C.. Effect of parenteral

nutrition with L-arginine supplementation on postoperative immune function in patients with colorectal cancer // *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2002. Vol. 22. № 6. P. 545–547.

12. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека [Текст] / Симбирцев А.С. — Санкт-Петербург: Фолиант, 2018. — 512 с.

13. Егорова В.Н. и др. Интерлейкин-2: Обобщенный опыт клинического применения : юбилейное издание к 20-летию ООО «Биотех» [Текст] / В.Н. Егорова, А.М. Попович, И.В. Бабаченко – Санкт-Петербург: Ультра Принт, 2012. – 98 с.

14. Молчанов О.Е. Применение ронколейкина (рекомбинантного интерлейкина-2) в онкологии: пособие для врачей. Издание 3-е, обновлённое и дополненное / ФГУ Рос. науч. центр радиологии и хирург. технологий Росздрава; — Санкт-Петербург: Новая Альтернативная Полиграфия, 2010, — 44 с.

15. Мюльберг А.А., Гришина Т.В., Жмайлова-Сеник О.В. Регуляция гена интерлейкина-2 // *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2009. Сер. 3. Вып. 1 С. 143-165.

16. Ванинов А. С. Злокачественные новообразования, как наиболее приоритетная медико-социальная проблема системы здравоохранения // *Бюллетень науки и практики*. 2019. Т 5. №11. С. 120-130,

17. Shcherbak S.G., Lisovets D.G., Tereshin A.E., Belokopytov I.Y., Saran A.M., Gutka V.O., and Agafonov P.V. The use of L-arginine in the treatment of internal diseases // *Terra Medica*. 2007. Vol. 1. P. 34-39.

18. Grzywa T.M., Sosnowska A., Matryba P., et al. Myeloid Cell-Derived Arginase in Cancer Immune Response // *Frontiers in immunology*. 2020, Vol. 11. doi:10,3389/fimmu.2020,00938.

19. Steggerdal S.M., Bennett M.K., Chen J., et al. Inhibition of arginase by CB-1158 blocks myeloid cell-mediated immune suppression in the tumor microenvironment // *Journal for immunotherapy of cancer*. 2017. Vol. 5. doi:10,1186/s40425-017-0308-44.

20. Izgut-Uysal V.N., Ozkaya Y.G., Ozdemir S. Effect of L-arginine on age-related changes in macrophage phagocytic activity

// Immunol Invest. 2004. Vol. 33. P. 287–293.

21. Peralbo E, DelaRosa O, Gayoso I, Pita ML, Tarazona R, and Solana R. Decreased frequency and proliferative response of invariant Valpha24Vbeta11 natural killer T (iNKT) cells in healthy elderly // Biogerontology. 2006; 7(5-6):483-92.

22. Титов К.С., Демидов Л.В., Шубина И.Ж., Хайленко В.А., Киселевский М.В., Вихрова А.С. Технологии клеточной иммунотерапии в лечении больных со злокачественными новообразованиями // Вестник РГМУ. 2014. №1. С 42-47.

23. Титов К. С, Демидов Л. В., Шубина И. Ж., Грицай А. Н., Егорова А. В., Киселевский М. В. Клиническая эффективность внутриспиральной биотерапии у больных с опухолевыми серозитами // Российский онкологический журнал. 2015. №2. С 8-12.

24. Maggio M., Basaria S., Ceda G.P. The relationship between testosterone and molecular markers of inflammation in older men // J. Endocrinol. Invest. 2005. Vol. 28. № 11. P. 116–119.

25. Maggio M., Guralnik J.M., Longo D.L., Ferrucci L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway // A. Biol. Sci. Med. Sci. 2006. Vol. 61. № 6. P. 575–584.

26. Trzonkowski P., Myśliwska J., Szmit E., Zak M., Foerster J., and Myśliwski A. Lower percentage of CD8 (high+) CD152 (+) but not CD8 (high+) CD28 (+) T lymphocytes in the elderly may be reverted by interleukin 2 in vitro // Mech. Ageing Dev. 2002. Vol. 123. № 9. P. 1283-1293.

27. Ястребов А. П. Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине / А. П. Ястребов, Д. Ю. Гребнев, И. Ю. Маклакова. – Екатеринбург : УГМУ 2016. – 282 с.

28. Абдрашитова А.Т., Панова Т.Н., Белолапенко И.А., Френкель М.В. Использование розувастатина в качестве геропротектора у лиц, занятых на газодобывающем производстве // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2011. Т 4. № 7. С. 447-451.

29. Исаев Н.К., Стельмашук Е.В., Стельмашук Н.Н., Шаронова И.Н., Скребицкий В.Г. Старение головного мозга и митохондриально адресованные антиоксиданты класса SKQ // Био-

химия. 2013. Т 78. № 3. С. 391-397.

30. Bernardo M.E. Optimization of in vitro expansion of human multipotent mesenchymal stromal cells for cell-therapy approaches: further insights in the search for a fetal calf serum substitute // J. Cell Physiol. 2007. Vol. 211. № 1. P. 121-130,

31. Gratama J.W., Sutherland D.R., Keeney M., Papa S. Flow cytometric enumeration and immunophenotyping of hematopoietic stem and progenitor cells // J. Biol Regul Homeost Agents. 2001. Vol. 15. № 1. P. 14-22.

32. Lu F.Z., Fujino M., Kitazawa E. Characterization and gene transfer in mesenchymal stem cells derived from human umbilical-cord blood // J. Lab. Clin. Med. 2005. Vol. 146. № 5. P. 271-278.

33. Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н., Щербачев Д.Л., Лукаш В.А., Варлашов Е.М. Скрининг функциональных, биохимических и клеточно-гематологических показателей организма как маркеров процесса старения человека // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2018. Т. 15. № 5. С. 691-703.

34. Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н., Леонтьев С.Л. и др. «Программа для ЭВМ «BIOAGE Polinom» Свидетельство РФ о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2012613817, зарегистрирован в реестре 15 марта 2012 года.

35. Анисимов В.Н., Донцов В.И., Крутько В.Н., Подколзин А.А. Фундаментальные механизмы геропротекции // Успехи геронтологии. 2006. №19. С. 152-157.