

ЭКОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА

АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН КАК ГЕРОПРОТЕКТОР: ВЛИЯНИЕ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ПОКАЗАТЕЛИ БИОВОЗРАСТА У МЫШЕЙ

В.И. Донцов¹, В.Н. Крутько¹, А.Я. Чижов²

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление»

Российской академии наук

просп. 60-летия Октября, 9, Москва, Россия, 117312

² Экологический факультет

Российский университет дружбы народов

Подольское шоссе, д. 8/5, Москва, Россия, 113093

Альфа-фетопроtein является одним из наиболее известных и изученных эмбриоспецифических белков, который используется для диагностики патологии плода и опухолевых процессов желудочно-кишечного тракта и печени и обладает выраженным иммуностропным и детоксицирующим эффектом, а также прямым апоптозным эффектом на опухолевые клетки. Назначение АФП мышам в самом старом возрасте в наших экспериментах резко повышало выживаемость и выражено увеличивало относительную массу иммуностропных органов, видимо, вследствие характерного для АФП эффекта общего улучшения функций тканей и детоксицирующего действия. Таким образом, АФП обладает значимыми биоактивирующими и антивозрастными эффектами, что позволяет рассматривать его как кандидата на геропротекторное средство.

Ключевые слова: биомаркеры старения, мышцы, иммунный статус, альфа-фетопроtein, аутоиммунная агрессия, геропрофилактика

Введение

Еще в начале XX в. предпринимались активные попытки введения эмбриональных экстрактов для активации функций старого организма, а также для активации репарационных процессов при заживлении ран и трофических язв. В последние годы использование эмбриональных тканей составляет отдельное быстро развивающееся научное и практическое направление исследований [9—11; 16]. Одним из наиболее интересных направлений является использование эмбрионспецифического белка — альфа-фетопроteина (АФП).

Первые обнаруженный в 1956 г. как дополнительная, следующая за альбумином фракция в электрофорезе сыворотки крови плода человека АФП был идентифицирован иммунохимически в 1961 г. как антиген сыворотки крови плода.

Еще через два года Ю.С. Татаринев обнаружил АФП в сыворотке крови больного при первичном раке печени, что подтвердило полученные в 1962 г. результаты Г.И. Абелева и сотрудников на мышцах с химически индуцированной гепатомой. Наличие свойств онко-специфичности стимулировало исследование самого АФП и методов его обнаружения в диагностических целях [1—3; 7; 9—11; 14; 16; 17].

В настоящее время АФП известен прежде всего как гепато-специфический эмбриональный белок, предохраняющий плод от развития аутоиммунного конфликта с матерью: он подавляет экспрессию антигенов второго класса главного комплекса гистосовместимости, препятствуя процессам презентации антигена макрофагами [8—10]. Проникая через плаценту, АФП обнаруживается в сыворотке крови матери на 32—36-й неделях беременности. Альфа-фетопротеин обнаруживается в сыворотке плода уже 4-й недели беременности с максимумом на 12—16-ой неделе; у новорожденного он обнаруживается во всех тканях и сыворотке крови; к 1 году уровень АФП снижается до величин, характерных для взрослых: менее 15 нг/мл. У взрослых альфа-фетопротеин обнаружен в фолликулярной жидкости и печеночной ткани.

Достаточно хорошо изучена структура АФП. Он представляет собой гликопротеид молекулярной массой 69 кД и состоит из одной полипептидной цепи, включая 600 аминокислот и 4% углеводов. АФП сходен с семейством протеинов экстрацеллюлярного матрикса: ламинин, фибронектин, коллаген, тромбоспондин и др.

Регенерация печени сопровождается временным, а злокачественный рост — постоянным синтезом АФП в печени, в котором участвует белок р53 как репрессор.

На практике АФП известен прежде всего как онкомаркер для печени и желудочно-кишечного тракта, однако показаны и антиопухолевые эффекты его, в том числе стимуляция апоптоза опухолевых клеток, а также иммуностропные влияния [3; 9; 15; 16]. Альфа-фетопротеин влияет на специфический иммунитет [10; 16], подавляя формирование антител и цитотоксических Т-лимфоцитов на Т-зависимые антигены, но не влияет на зрелые Т-лимфоциты и В-лимфоциты, влияя главным образом на пролиферирующие Т-хелперы. В смешанной культуре лимфоцитов АФП способен активировать Т-супрессоры, подавляя митогенез. АФП супрессирует синтез TNF- α и IL-1 β через влияния на простагландины группы E и снижает активность естественных киллеров.

Биологические свойства АФП простираются также на другие физиологические процессы: он является регулятором гомеостаза в норме и патологии, связывая стероиды и ретиноиды, жирные кислоты, фаловониды, билирубин и ряд лекарственных препаратов и токсинов [6]; АФП влияет на обеспечение клетки энергетическим и пластическим материалом, усиливает экспрессию рецепторов клетки и влияет на синтез регуляторных простых молекул: простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов.

Мы изучали геропротекторные эффекты АФП, исходя из развиваемой нами иммуно-регуляторной теории старения [5] и наличия геропротекторных свойств иммуностропных препаратов [6; 12], а также на основании литературных данных о возможном наличии геропротекторных свойств у АФП [7]. Известно

также. Что альфа-фетопротеин в дозе 1 мкг/кг уже через 30 минут после его введения повышал половую активность крыс; он также увеличивал мозговой кровоток и обладал выраженной анти-гопоксической активностью [11].

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали 27 старых мышей линии BALB/c в возрасте 1,5 лет, самок, полученных из питомника «Столбовая» РАМН. Мышей содержали в стандартных условиях вивария Московского государственного медико-стоматологического университета им. Евдокимова. В качестве АФП использовали препарат «Альфа-протеин» отечественного производства (ЗАО «Институт новых медицинских технологий»). АФП вводили опытной группе мышей 2 недели ежедневно внутривнутрибрюшинно в 0,5 мл физиологического раствора в дозе 10 мкг на кг массы тела.

Исследовали количество доживших животных в контрольной и опытной группах и ряд биомаркеров, отражающих старение животных: внешний вид в баллах (желтизна и тусклость шерсти, степень плешивости) и выраженности старческого горба. Общее состояние оценивали по числу умываний, количеству вертикальных стоек при переносе в новую клетку (рефлекс на новое) и времени удерживания на струне в сек (мышечная сила). Исследовали также общую массу тела и относительную массу внутренних органов к общей массе тела.

Для ориентации в иммунном статусе оценивали относительную массу тимуса и селезенки, а также уровень возрастной аутоагрессии по количеству ауто-антител в сыворотке крови — спектро-фотометрически после добавления полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000), выражая в единицах оптической плотности, как описывалось [4].

Возрастное состояние тканей оценивали по степени потери массы (на примере почек) в 40% сахарозе вследствие адсорбции внутриклеточной воды, как ранее описывалось [4].

По результатам оценивали степень дожития животных в течение опыта в процентах к исходному числу; вычисляли средние значения и стандартные отклонения для исследованных биомаркеров старения у групп контроля и опыта; различия сравнивали по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В нашем опыте мы использовали группу мышей на поздних стадиях старения, что отражалось на уровне смертности популяции: за два предыдущих месяца погибла половина мышей. В течение эксперимента естественная гибель животных в контрольной группе составила 47%, тогда как введение АФП снижало смертность в опытной группе до 17% (таблица), т.е. почти в 3 раза.

Изменение биомаркеров старения у мышей, получивших АФП, представлено на рис. 1. Для всех животных, получавших АФП, наблюдалась четкая тенденция к улучшению внешнего вида, потеря шерсти и плешивые участки были статистически значимо меньше. Улучшение физиологического состояния тканей отмечалось также по повышению внутриклеточной воды, что, как известно, отражает общее состояние клеток и степень их постарения. Имелась также тенденция к

улучшению показателей общего состояния животных по другим показателям, хотя статистическая достоверность не достигала 0,05.

Статистически значимое улучшение отмечались для показателей относительной массы внутренних органов (сердца) и органов иммунитета (тимус и селезенка). Улучшение функции иммунитета регистрировалось также по снижению возрастной аутоагрессии.

Относительная масса печени и почек статистически значимо снижалась в опытной группе в сравнении с контролем. Это можно объяснить исходя из представлений о регулирующем и дезинтоксикационном эффектах АФП: улучшение функции тканей стареющего организма снижает и нагрузки на детоксицирующие органы животных — печень и почки; этому же способствует снижение возрастной аутоагрессии к тканям.

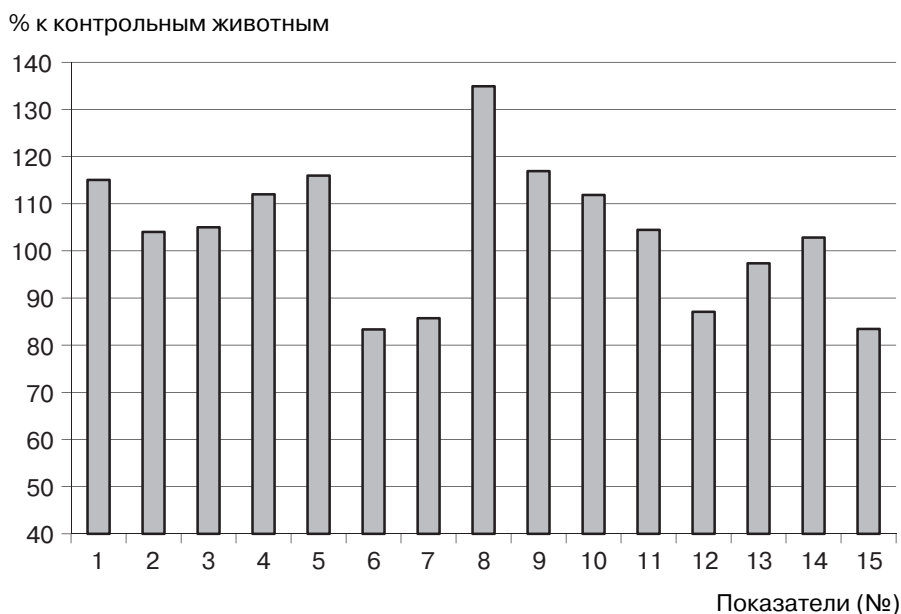


Рис. 1. Влияние АФП на некоторые показатели старения у мышей
 Показатели: 1 — плешивость (баллы); 2 — цвет шерсти (баллы); 3 — лоск (баллы); 4 — горб (баллы); 5 — число умываний; 6 — подвижность (пересеченные квадраты); 7 — число стоек; 8 — висение на струне, сек.; 9 — тимус, мг/г массы; 10 — селезенка, мг/г массы; 11 — сердце, мг/г массы; 12 — печень, мг/г массы; 13 — почки, мг/г массы; 14 — внутренняя вода, %; 15 — ауто-антитела (OD)
 Различия достоверны: $P < 0,05$ для показателей 1, 8, 9, 13; $P < 0,01$ для показателей 11 и 14; $P < 0,001$ для показателей 10, 12 и 15.

Таблица

Выживаемость мышей в контроле и при введении альфа-фетопротеина

День	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Дожившие (контроль)	15	15	14	14	13	13	13	12	12	11	11	10	10	9	8
%	100	100	93,3	93,3	86,7	86,7	86,7	80,0	80,0	73,3	73,3	66,7	66,7	60,0	53,3
Дожившие (опыт)	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	10	10	10	10
%	100	100	100	100	100	100	91,7	91,7	91,7	91,7	91,7	83,3	83,3	83,3	83,3

Наиболее интересным является эффект резкого повышения выживаемости мышей в опытной группе в течение опыта. Известно из литературы, что АФП повышает выживаемость при самых различных заболеваниях, а также при опухолевых процессах, химиотерапии и радиоактивном облучении, что определяется общим стимулирующим и общерегуляторным действием АФП, а также благоприятным иммуностропным эффектом.

Известны влияния АФП как геропротектора *in vitro*: АФП обнаружил свойства активатора анаэробного катаболизма с цитопротективным эффектом и антиоксидантный механизм действия в биообразцах; также АФП снижал кардиальный биологический возраст у пациентов в зрелом возрасте, благотворно влияя на сердечно-сосудистую систему.

Заключение

Альфа-фетопропротеин является одним из наиболее известных и изученных эмбриоспецифических белков. Он используется для диагностики патологии плода и опухолевых процессов желудочно-кишечного тракта и печени и обладает выраженным иммуностропным и детоксицирующим эффектом, а также прямым апоптозным эффектом на опухолевые клетки.

Обнаружение у АФП возможности влияния на биологический возраст у человека и геропротективные свойства *in vitro* на ткани индуцировало исследование нами влияния АФП на выживаемость старых мышей и на ряд возрастных показателей при длительном введении.

Назначение АФП мышам в самом старом возрасте в наших экспериментах резко повышало выживаемость и выражено увеличивало относительную массу иммуностропных органов, видимо, вследствие характерного для АФП эффекта общего улучшения функций тканей и детоксицирующего действия. Таким образом, АФП обладает значимыми биоактивирующими и анти-возрастными эффектами, что позволяет рассматривать его как кандидата на геропротекторное средство.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Алексеева М.Л., Пустотина О.А., Фанченко Н.Д., Понкратова Т.С.* АФП как прогностический показатель состояния новорожденного // Проблемы репродукции. 2005. Т. 11. № 5. С. 79–82.
- [2] *Архипкин А.А., Лянг О.В., Кочетов А.Г.* Альфа-фетопропротеин в прогнозе выживаемости и функционального восстановления больных с ишемическим инсультом // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. Т. 59. № 10. С. 12–15.
- [3] *Гордейчук И.Н., Чирков Р.Н., Бабаян К.В.* Вопросы ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. Т. 10. № 2. С. 41–46.
- [4] *Донцов В.И.* Экспериментальная геронтология: методы исследования старения. М.: Альтекс, 2011. 432 с.
- [5] *Донцов В.И.* Новая иммуно-регуляторная теория старения: возрастной иммунодефицит как причина дистрофии соматических тканей // Доклады МОИП. 2015. Т. 59. С. 62–80.
- [6] *Зубкова Е.С., Семенова Л.Н., Дудич И.В., Дудич Е.И., Хромых Л.М., Макаревич П.И., Парфенова Е.В., Меньшиков М.Ю.* Рекомбинантный человеческий альфа-фетопропротеин как регулятор активности стромальных клеток жировой ткани // Биоорганическая химия. 2012. Т. 38. № 5. С. 524.

- [7] Мещанинов В.Н., Жиборкин Г.В., Яковлев Н.В., Гаврилов И.В. Метаболические механизмы геропротекторной активности L-аргинина и альфа-фетопротеина // Материалы конф. «Достижения, инновационные направления, перспективы развития и проблемы современной медицинской науки, генетики и биотехнологий». Материалы I Международной научно-практической конференции 31 марта 2011 г. С. 192.
- [8] Молгодзагиева Н.Т., Терентьев А.А. Альфа-фетопротеин и факторы роста. Структурно-функциональные взаимоотношения и аналоги // Успехи биологической химии. 2006. Т. 46. С. 99—148.
- [9] Мусатов О.В., Коханов А.В. Диагностические возможности альфа-фетопротеина в оценке репаративных и иммунорегуляторных процессов при травмах печени // International Journal on Immunorehabilitation. 2009. Т. 11. № 1. С. 28а.
- [10] Никогосян С.О., Кадагидзе З.Г., Шеленкова В.М., Кузнецов В.В. Современные методы иммунодиагностики злокачественных новообразований яичников // Онкогинекология. 2014. № 3. С. 49—54.
- [11] Русских А.А., Юшков В.В., Ивашев М.Н. О влиянии альфа-фетопротеина на центральную нервную систему // Вестник уральской медицинской академической науки, тематический выпуск по фармации. 2011. № 3/1(35). С. 46—48.
- [12] Чижов А.Я., Зенчук Е.С., Крутько В.Н., Донцов В.И. Применение корректора иммунной системы трансфер фактора для снижения биологического возраста человека // Технологии живых систем. 2013. Т. 10. № 1. С. 41—46.
- [13] Chereshnev V.A. Alpha-fetoprotein in combined treatment of patients with chronic hepatitis // Int. J. of immunorehabilitation. 2003. Vol. 5. № 5. P. 195—199.
- [14] Demers S., Roberge S., Bujold E. Low-dose aspirin for the prevention of adverse pregnancy outcomes in women with elevated alpha-fetoprotein // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2015. Vol. 28. № 6. P. 726—726.
- [15] Murgita R.A., Goidl E.A., Kontianen S., Wigzell H. Alpha-fetoprotein induces suppressor T-cells in vitro // Nature. 1977. Vol. 267. № 5608. P. 257—259.
- [16] Wong R.J., Ahmed A., Gish R.G. Elevated Alpha-Fetoprotein: Differential diagnosis-hepatocellular carcinoma and other disorders // Clinics in liver disease. 2015. Vol. 19. № 2. P. 309—323.
- [17] Zhang S.Y., Lin B.D., Li B.R. Evaluation of the diagnostic value of alpha-L-fucosidase, alpha-fetoprotein and thymidine kinase 1 with ROC and logistic regression for hepatocellular carcinoma // FEBS open bio. 2015. Vol. 5. P. 240—244.

ALPHA-FETOPROTEIN AS ANTI-AGING AGENT: EFFECT ON SURVIVAL AND AGE-MARKERS IN MICE

V.I. Dontsov¹, V.N. Krut'ko¹, A.Ya. Chizhov²

¹ Laboratory of Systems Analysis and Information
Technologies in Medicine and Ecology, Federal Research Center
«Informatics and Management» of the Russian Academy of Sciences
60-Letiya Oktyabrya Prospekt, 9, Moscow, Russia, 117312

² Ecological faculty
Peoples' Friendship University of Russia
Podolskoe shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093

Alpha-fetoprotein is one of the best known embryospecific proteins, which is used to diagnose fetal abnormalities and tumor processes of the gastrointestinal tract and liver and has a pronounced immunotropic and detoxifying effect, and also a direct apoptotic effect on tumor cells. The appointment

of AFP mice at the oldest age in our experiments, dramatically increased survival and markedly increased the relative weight immunotropic bodies, apparently, due to the characteristic of the AFP general effect of improving the functions of tissues and detoxifying action. Thus, AFP has a significant bioactivity and anti-aging effectname, that allows to consider it as a candidate for a geroprotective agent.

Key words: biomarkers of aging, mice, immune status, alpha-fetoprotein, autoimmune aggression, geroprophylaxis

REFERENCES

- [1] Alekseeva M.L., Pustotina O.A., Fanchenko N.D., Ponkratova T.S. AFP kak prognosticheskij pokazatel' sostojanija novorozhdenного [AFP as a prognostic indicator of newborn]. Problemy reprodukcii [Problems of reproduction]. 2005. Vol. 11. N 5. P. 79—82.
- [2] Arhipkin A.A., Ljang O.V., Kochetov A.G. Al'fa-fetoprotein v prognoze vyzhivaemosti i funkcional'nogo vosstanovlenija bol'nyh s ishemicheskim insul'tom [Alpha-fetoprotein in the prediction of survival and functional recovery of patients with ischemic stroke]. Klinicheskaja laboratornaja diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]. 2014. Vol. 59. N 10. P. 12—15.
- [3] Gordejchuk I.N., Chirkov R.N., Babajan K.V. Voprosy rannej diagnostiki gepatocelluljarnoj karcinomy [Questions of early diagnosis of hepatocellular carcinoma]. Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal [Upper Volga Medical Journal]. 2012. Vol. 10. N 2. P. 41—46.
- [4] Doncov V.I. Jeksperimental'naja gerontologija: metody issledovanija starenija [Experimental Gerontology: aging research methods]. M.: Al'teks. [Moscow: Altex]. 2011. 432 p.
- [5] Doncov V.I. Novaja immuno-reguljatornaja teorija starenija: vozrastnoj immunodeficit kak prichina distrofii somaticheskikh tkanej [New immuno-regulatory theory of aging: age immune deficiency as the cause of degeneration of somatic tissues]. Doklady MOIP [Reports of the Moscow Society of Naturalists]. 2015. Vol. 59. P. 62—80.
- [6] Zubkova E.S., Semenkova L.N., Dudich I.V., Dudich E.I., Hromyh L.M., Makarevich P.I., Parfenova E.V., Men'shikov M.Ju. Rekombinantnyj chelovecheskij al'fa-fetoprotein kak reguljator aktivnosti stromal'nyh kletok zhirovoj tkani [Recombinant human alpha-fetoprotein as a regulator of the activity of adipose tissue-derived stromal cells]. Bioorganicheskaja himija [Bioorganic chemistry]. 2012. Vol. 38. N 5. P. 524.
- [7] Meshhaninov V.N., Zhiborkin G.V., Jakovlev N.V., Gavrilov I.V. Metabolicheskie mehanizmy geroprofilakticheskoy aktivnosti L-arginina i al'fa-fetoproteina [Metabolic mechanisms geroprofilactic activity L-arginine and alpha-fetoprotein]. Materialy Konf. «Dostizhenija, innovacionnye napravlenija, perspektivy razvitija i problemy sovremennoj medicinskoj nauki, genetiki i biotehnologij». Konferencija posvjashhena 80-letiju so dnja sozdanija kafedry medicinskoj biologii i genetiki Ural'skoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. Materialy i Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii [Materials Conf. «Achievements, innovative directions, prospects and problems of modern medical science, genetics and biotechnology.» The conference is dedicated to the 80-th anniversary of the establishment of the Department of Medical Biology and Genetics of the Ural State Medical Academy. Proceedings of the i International Scientific-Practical Conference] March 31st, 2011. P. 192.
- [8] Mol'godzagieva N.T., Terent'ev A.A. Al'fa-fetoprotein i faktory rosta. Strukturno-funcional'nye vzaimootnoshenija i analogi [Alpha-fetoprotein and growth factors. Structural and functional relationships and analogues]. Uspehi biologicheskoy himii [Successes of Biological Chemistry]. 2006. Vol. 46. P. 99—148.
- [9] Musatov O.V., Kohanov A.V. Diagnosticheskie vozmozhnosti al'fa-fetoproteina v ocenke reparativnyh i immunoreguljatornyh processov pri travmah pecheni [The diagnostic capabilities of alpha-fetoprotein in the evaluation of repairing and immunoregulating processes in the liver injuries]. International Journal on Immunorehabilitation. 2009. Vol. 11. N 1. P. 28a.
- [10] Nikogosjan S.O., Kadagidze Z.G., Shelepova V.M., Kuznecov V.V. Sovremennye metody immunodiagnostiki zlokachestvennyh novoobrazovanij jaichnikov [Modern methods of immunological diagnosis of malignant tumors of the ovaries]. Onkoginekologija [Oncogynecology]. 2014. N 3. P. 49—54.

- [11] Russkih A.A., Jushkov V.V., Ivashev M.N. O vlijanii al'fa-fetoproteina na central'nuju nervnuju sistemu [The influence of alpha-fetoprotein in the central nervous system]. Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoj nauki, tematiceskij vypusk po farmacii [Herald of Ural Medical Academic Science, Special Issue on the pharmacy]. 2011. N 3/1 (35). P. 46—48.
- [12] Chizhov A.Ja., Zenchuk E.S., Krut'ko V.N., Doncov V.I. Primenenie korrektora immunnoj sistemy transfer faktora dlja snizhenija biologicheskogo vozrasta cheloveka [The use of a corrector of the immune system of transfer factor for reducing biological age]. Tehnologii zhivyh sistem [Technologies of living systems]. 2013. Vol. 10. N 1. P. 41—46.
- [13] Shereshnev V.A. Alpha-fetoprotein in combined treatment of patients with chronic hepatitis. Int. J. of immunorehabilitation. 2003. Vol. 5. N 5. P. 195—199.
- [14] Demers S., Roberge S., Bujold E. Low-dose aspirin for the prevention of adverse pregnancy outcomes in women with elevated alpha-fetoprotein. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2015. Vol. 28. N 6. P. 726—726.
- [15] Murgita R.A., Goidl E.A., Kontianen S., Wigzell H. Alpha-fetoprotein induces suppressor T-cells in vitro. Nature. 1977. Vol. 267. N 5608. P. 257—259.
- [16] Wong R.J., Ahmed A., Gish R.G. Elevated Alpha-Fetoprotein: Differential diagnosis-hepatocellular carcinoma and other disorders. Clinics in liver disease. 2015. Vol. 19. N 2. P. 309—323.
- [17] Zhang S.Y., Lin B. D., Li B.R. Evaluation of the diagnostic value of alpha-l-fucosidase, alpha-fetoprotein and thymidine kinase 1 with ROC and logistic regression for hepatocellular carcinoma. FEBS open bio. 2015. Vol. 5. P. 240—244.