ВЛИЯНИЕ КОДИРУЕМЫХ АМИНОКИСЛОТ НА РАЗВИТИЕ ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ КОЖИ

Н. И. Чалисова^{1,2}, А. Е. Коровин¹

¹ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУН «Институт физиологии имени И. П. Павлова» РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

EFFECT OF AMINO ACID ON THE DEVELOPMENT SKIN TISSUE ORGANOTYPIC CULTURE

N. I. Chalisova^{1,2}, A. E. Korovin¹

¹ S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, Saint Petersburg, Russia

² I. P. Pavlov Institute of physiology, Saint Petersburg, Russia

Резюме. В органотипической культуре кожи крыс исследовали влияние 20 кодируемых аминокислот на развитие процессов пролиферации. Аминокислоты в концентрации 0,05 нг/мл стимулировали клеточную пролиферацию в зоне роста эксплантов на 29–30%. При введении в культуральную среду ипритоподобного агента циклофосфана в концентрации 1 мг/мл происходило угнетение клеточной пролиферации. При сочетании введении циклофосфана совместно с аминокислотой, оказывающей стимулирующее действие, наблюдалась отмена ингибирующего влияния циклофосфана. Таким образом, аминокислоты с заряженным боковым радикалом могут оказывать при действии циклофосфана протекторное влияние на клеточную пролиферацию в тканях кожи. Полученные данные создают базу для использования аминокислот при поражении кожи ипритом и при устранении побочных эффектов лечения цитостатиками онкологических заболеваний (1 рис., 1 табл., библи.: 28 ист.).

Ключевые слова: аминокислоты, клеточная пролиферация, кожа, культура тканей, протекторы, циклофосфан.

Summary. The effect of the 20 coded amino acids was investigated on the development of the processes of the proliferation in the organotypic tissue culture of rat skin. The amino acids lysine, arginine and glutamine acid at 0,05 ng/ml concentration stimulated the cellular proliferation in the growth zone of explants by 29–30%. The mustard-like agent cyclophosphane at 1 mg/ml concentration inhibited the cellular proliferation. The delay of this inhibiting effect of cyclophosphane was observed by the combined action of stimulating amino acids with the cyclophosphane. Thus, the amino acids with the charge radicals can be protectors of the cellular proliferation by the toxic effect of the cyclophosphane on the skin. This effect can be used for the treatment of the mustard injury of skin and for the delay of the adverse effect of cytostatic in oncology (1 figure, 1 table, bibliography: 28 refs).

Key words: amino acids, cellular proliferation, cyclophosphane, protectors, skin, tissue culture.

ВВЕДЕНИЕ

Поддержание биологической целостности организма на клеточном уровне регулируется сигналами, которые позволяют сохранять сложное равновесное состояние между двумя основными физиологическими процессами — пролиферацией и программируемой клеточной гибелью (апоптозом). Регуляция репаративных процессов в тканях организма — за счет стимуляции клеточной пролиферации или ее торможения при процессах апоптоза — осуществляется под влиянием различных цитокинов и пептидов [1, 2].

В последние десятилетия усилился интерес к изучению влияния кодируемых аминокислот на клеточные процессы. Имеются данные о том, что кодируемые аминокислоты не только являются структурными элементами белков и пептидов, но и сами могут обладать регуляторными свойствами в отношении тканей-мишеней [3–7]. Так, при исследовании показателей специфической и неспецифической резистентности установлено, что лизин,

аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, триптофан обладают разными иммуно- и фагоцитостимулирующими и детоксицирующими свойствами. После их подкожного введения мышам лизин и аргинин только стимулировали фагоцитоз, но не защищали от токсических веществ, причем лизин не изменял иммунный ответ, а аргинин подавлял его [8].

На клеточных линиях PC3 и DU145 андроген-независимого рака предстательной железы показано, что депривация метионина, тирозина и фенилаланина оказывает ингибирующее действие, клеточный цикл останавливается на стадии G0/G1. Депривация метионина усиливает апоптоз в клетках PC3, а тирозина и фенилаланина — в DU145. Отсутствие этих же аминокислот приводит к угнетению инвазии обеих клеточных линий, отсутствие глутамин ингибирует только инвазию DU145, т. е. угнетение инвазии не зависит от индукции апоптоза [9–12].

В ряде работ показано, что глутамин-утилизирующие клетки обладают молекулярными механизмами, определяющими содержание глутамин и

специфически отвечающими на изменения концентрации экстраклеточного глутамината. Так, при понижении уровня экстраклеточного глутамината клетки становились более чувствительными к Fas-опосредованному апоптозу [13]. Установлено, что концентрация глутамата в ликворе здоровых людей составляет 2,8 мкМ, а у больных боковым амиотрофическим склерозом — 5,8 мкМ [14]. Добавление ликвора больных в культуру нейронов коры головного мозга вызывало апоптоз, в отличие от ликвора здоровых, который не оказывал влияния. Добавление каинат-чувствительных антагонистов глутаматных рецепторов — 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамоил-бензол квиноксалин-2,3-диона и α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол пропионовой кислоты (АМПК) снимало апоптоз-индуцирующий эффект глутамата.

По некоторым данным, глутамат-индуцированный апоптоз в этих клетках устраняется при предварительной инкубации культур (7 дней) с 0,5–2 мл лития (антибиоплярное вещество) [15]. Имеются также данные о влиянии аргинина на процессы клеточной пролиферации и апоптоза. Добавление аргиназы (уменьшающей концентрацию аргинина за счет энзиматической деградации) в культуру нормальных клеток приводит к блоку клеточного цикла на стадии G0/G1, но через неделю клетки восстанавливаются. Однако в культуре злокачественных клеток наступает массивная клеточная гибель в течение 3–5 дней, при добавлении аргинина восстанавливается только менее 0,01% клеток [16].

Показано апоптоз-индуцирующее действие аргинина в культуре клеток сетчатки постнатальных крыс — в центральной ретине у 5-дневных крыс и в периферической — у 5–7-дневных [17]. Аргинин является субстратом синтазы окиси азота, которая, таким образом, может участвовать в регуляции пролиферационных процессов. Гладкомышечные клетки сосудов также реагируют на аргинин: понижается пролиферация, повышается апоптоз и снижается соотношение их индексов — индекса площади (ИП) и индекса апоптоза (ИА), увеличивается экспрессия гена Fas [18]. Выявлено, что на клетках эндотелия сосудов при их культивировании без аргинина H_2O_2 вызывает выраженный апоптоз, при добавлении 60 мкМ аргинина (нормальное содержание в сыворотке крови человека и крысы) выживаемость клеток увеличивается наполовину, а при 200 мкМ и выше увеличивается еще больше [19]. Установлено, что после избыточного внутрибрюшинного введения крысам аргинина повышается не только его уровень в плазме крови, но и уровень АТФ в ткани поджелудочной железы, развиваются повреждения за счет активации митохондриального пути апоптоза [20].

При исследовании аминокислот с разветвленными боковыми цепями (валин, лейцин, изолейцин) только лейцин в концентрации 10^{-5} – 10^{-3} М вызывал

в культуре гепатоцитов крыс усиление синтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты и пролиферации. Авторы, используя различные ингибиторы, показали, что в сигнальный путь лейцина вовлекаются фосфолипаза С, тирозинкиназа, фосфатидилинозитол-3-киназа, p70 S6-киназа [21]. Лейцин активировал сигнальные компоненты, ведущие к трансляции матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК-трансляции), и стимулировал синтез белков в скелетных мышцах новорожденных 7-дневных поросят посредством активации mTOR- (mammalian target of rapamycin) рецепторов. Кроме того, лейцин стимулировал S6-киназу 1 (S6K1), эукариотический фактор инициации (eIF4E) [22]. Лейцин увеличивал мРНК-трансляцию, эукариотический фактор инициации (eIF4E) и синтез белков в миокарде крыс, у которых наблюдалось ингибирование этого синтеза при остром отравлении этанолом [23].

Имеются данные, что влияние аминокислот, особенно лейцина, может происходить при участии комплексов mTORC1 (mammalian target of rapamycin, complex 1) и, таким образом, контролировать многие компоненты процесса трансляции, включая факторы инициации и элонгации [6, 24]. В ряде наших работ показано, что кодируемые аминокислоты влияют различным образом на основные клеточные процессы — пролиферацию и апоптоз — в зависимости от генеза ткани: экто-, энто- и мезодермального [3, 25–27].

Широко применяющиеся в настоящее время в онкологии цитостатики имеют ряд побочных эффектов, требующих их устранения. Кроме того, в процессе уничтожения химического оружия становятся актуальными задачи клинической токсикологии, связанные с поражением людей ипритом. Возникают проблемы хронического отравления его малыми дозами в течение длительного периода. Следует отметить, что сильнее всего поражаются те ткани и органы, в которых происходит усиленное размножение клеток. Исходя из этого представляется важным исследовать регуляторные влияния на ткань кожи всех 20 кодируемых аминокислот, а также выявить протекторные свойства аминокислот при действии цитостатиков.

Одним из ипритоподобных веществ является цитостатик циклофосфан, используемый также для моделирования действия иприта. Молекулярный механизм токсического действия циклофосфана, как и иприта, связан с его алкилирующими свойствами и вследствие этого с его способностью вступать в связь с анионами фосфорных и карбоновых кислот, фенолов, а также с аминогруппами. Эти химические радикалы широко представлены в нуклеиновых кислотах, ферментах и структурных белках, и их цитостатический эффект начинается уже в фазе G1 клетки и содействует торможению в фазе S.

Целью настоящей работы было исследовать действие 20 кодируемых аминокислот на разви-

тие органотипической культуры фрагментов кожи крыс, а также их регуляторное влияние в присутствии цитостатического агента — циклофосфана.

ОРГАНОТИПИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ТКАНЕЙ

Наиболее адекватным методом для быстрой количественной оценки направленности влияния исследуемых биологически активных веществ является органотипическое культивирование фрагментов тканей и анализ зоны роста эксплантатов [4, 25–28]. Органотипическое культивирование позволяет произвести быструю скрининговую оценку биологической активности изучаемого вещества. Это связано с тем, что изменение количества клеток является результатом стимуляции или ингибирования клеточной пролиферации, и данное изменение служит критерием первичной интегральной оценки биологической активности веществ. Преимуществом рассматриваемого метода является то, что в эксплантатах сохраняется такая же иерархическая соподчиненность клеточного состава ткани, как и в целостном организме. Кроме того, в органотипической культуре возможно строго дозированное воздействие непосредственно на клетки исследуемыми препаратами. При этом исключаются действующие в целостном организме нервные, гормональные и другие влияния. Исходным материалом для культивирования служит ткань от различных животных. Детерминированные уже на ранних стадиях развития, ее клеточные элементы оказываются способными в условиях культивирования развертывать свои гистогенетические и морфофункциональные потенции, а также дифференцироваться в искусственных условиях питательных сред. Изменение количества пролиферирующих клеток в зоне роста может служить критерием первичной интегральной оценки биологической активности исследуемого вещества и являться основанием для поиска других его эффектов. Классической тест-системой является органотипическая культура различных тканей крыс.

В данной работе органотипическое культивирование тканей проводили, используя 900 эксплантатов кожи 3-месячных самцов крыс линии Вистар. Отпрепарированные в стерильных условиях фрагменты кожи разделяли на более мелкие части величиной около 1 мм³, которые помещали в чашки Петри с коллагеновым покрытием дна. Питательная среда состояла на 35% из среды Игла, 35% — раствора Хенкса, 25% — фетальной телячьей сыворотки. В среду добавляли глюкозу (0,6%), инсулин (0,5 ед/мл), гентамицин (100 ед/мл). Использованы L-аминокислоты (фирма «Sigma», США) — глицин (Gly), аланин (Ala), аспарагин (Asn), гистидин (His), лизин (Lys), серин (Ser), глютамин (Gln), аргинин (Arg), пролин (Pro), аспарагиновая (Asp) и глутаминовая (Glu) кислоты, тирозин (Tyr), цистеин (Cys), валин (Val), треонин (Thr), метионин (Met), лейцин (Leu), изолейцин (Ile), фенилаланин (Phe), триптофан (Trp). Для

выявления эффективных концентраций исследуемые препараты вводились в культуральную среду экспериментальных чашек Петри в различных концентрациях — 0,01–0,05 нг/мл.

При раститровке аминокислот от 0,01 до 100 нг/мл было обнаружено, что аминокислоты обладают максимальной стимулирующей пролиферацию активностью при концентрации 0,05 нг/мл, т. е. эта концентрация является эффективной. В чашки Петри с экспериментальными эксплантатами добавляли 3 мл питательной среды с исследуемой концентрацией препаратов, в чашки Петри с контрольными эксплантатами — 3 мл питательной среды без добавления препаратов. Таким образом, эксплантаты экспериментальной и контрольной групп развивались в одинаковых объемах питательной среды.

Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37 °С в условиях постоянного поступления 5% CO₂ и через 3 сут просматривали под фазово-контрастным микроскопом. Определяли ИП, который рассчитывали в условных единицах как соотношение площади всего эксплантата (вместе с зоной выселяющихся клеток) и площади центральной зоны эксплантата. С целью визуализации эксплантатов применяли микротеленасадку для микроскопа (серия 10, «МТН-13» фирмы «Альфа-Телеком», Россия). Для расчета ИП эксплантатов использовали программу PhotoM 1.2.

В 1-е сут культивирования происходило распластывание эксплантатов на коллагеновой подложке, выселение пролиферирующих и мигрирующих эпителиоцитов, фибробластов, составляющих зону роста от края эксплантата. Через 3 сут, если в эксперименте наблюдалась стимуляция развития зоны роста в результате клеточной пролиферации, ИП экспериментальных эксплантатов увеличивался по сравнению с ИП контрольных эксплантатов. В случаях угнетения зоны роста ИП эксплантатов понижался по сравнению с контрольными значениями (рис. 1).

Рис. 1. Микрофотография эксплантата органотипической культуры кожи с зоной роста. 3 сут культивирования. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×100

Было установлено, что в культуре ткани кожи крыс при действии эффективных концентраций 0,05 нг/мл всех исследуемых аминокислот стимулирующее клеточную пролиферацию влияние выявляется у 5 аминокислот. Так, при введении в культуральную среду глутаминовой кислоты ИП увеличивался на $29 \pm 1\%$ ($n = 24$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 22$), при действии лизина он увеличивался на $30 \pm 3\%$ ($n = 22$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 21$), под влиянием аргинина — на $30 \pm 3\%$ ($n = 25$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 23$), при действии пролина — на $21 \pm 1\%$ ($n = 21$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 24$), при действии триптофана — на $18 \pm 4\%$ ($n = 20$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 23$), а при действии тирозина отмечалось статистически не достоверное увеличение на $16 \pm 3\%$ ($n = 21$, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($n = 24$). Остальные исследованные аминокислоты либо вызывали статистически не достоверное уменьшение ИП эксплантатов (аспарагин, аспарагиновая кислота), либо ИП оставался на уровне контрольных значений (табл. 1).

Для изучения действия циклофосфана на эксплантаты кожи в органотипической культуре в питательную среду вводили циклофосфан в концентрациях 0,01–10 мг/мл. Начиная с концентрации 0,01 мг/мл наблюдалось частичное ингибирование зоны роста, что приводило к статистически достоверному уменьшению ИП на $18 \pm 3\%$ ($n = 20$; $p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями ($n = 22$). По мере увеличения концентраций рост эксплантатов затормаживался еще больше. При концентрации циклофосфана 0,5 мг/мл ИП эксплантатов уменьшался уже на $25 \pm 5\%$ ($n = 21$, $p < 0,05$) по сравнению с ИП в контроле ($n = 23$). При введении циклофосфана в культуральную среду в концентрации 1 мг/мл всегда возникало статистически достоверное угнетение развития эксплантатов кожи крыс, выражавшееся в снижении ИП на 25–30% по сравнению с ИП контрольных эксплантатов.

При одновременном введении в культуральную среду таких стимулирующих ИП аминокислот, как лизин, аргинин, глутаминовая кислота, в концентрации 0,05 нг/мл и циклофосфана в концентрации 1 мг/мл происходило устранение ингибирующего действия циклофосфана и величина ИП оказывалась на уровне контроля. Так, при сочетанном введении циклофосфана в культуральную среду в концентрации 1 мг/мл с лизином в эффективной концентрации 0,05 нг/мл угнетающий эффект в эксплантатах не наблюдался. Отсутствие ингибирующего влияния циклофосфана выражалось в статистически не достоверном уменьшении зоны роста эксплантатов селезенки на $3 \pm 1\%$ ($n = 24$, $p > 0,05$), что сравнимо с контрольными значениями ИП ($n = 22$). При сочетанном действии циклофосфана в концентрации 1 мг/мл с аргинином в

эффективной концентрации в культуре ткани кожи ингибирующее влияние циклофосфана на эксплантаты также устранялось. Наблюдалось лишь статистически не достоверное уменьшение зоны роста эксплантатов селезенки на $5 \pm 2\%$ ($n = 25$; $p > 0,05$), что сопоставимо с контрольными значениями ИП ($n = 20$). Совместное введение в культуральную среду эффективной концентрации циклофосфана с глутаминовой кислотой в концентрации 0,05 нг/мл приводило к устранению ингибирующего влияния циклофосфана и статистически не достоверному увеличению зоны роста эксплантатов селезенки на $4 \pm 1\%$ ($n = 24$; $p > 0,05$) по сравнению с контрольными значениями ($n = 20$). При введении в культуральную среду пролина и триптофана (у которых стимулирующий пролиферацию эффект был ниже, чем у лизина, аргинина, глутаминовой кислоты, на 7–12%) не наблюдалось отмены угнетающего влияния циклофосфана.

Таким образом, выявлено, что цитостатическое действие циклофосфана при одновременном введении с аминокислотами — лизином, аргинином, глутаминовой кислотой — устранялось, уменьшаясь в целом на 18–24%. Эти аминокислоты с заряженным боковым радикалом — кислым у глутаминовой кислоты и основным у лизина,

Таблица 1

Изменение ИП (%) по отношению к контролю при введении в культуру ткани кожи аминокислот в эффективных концентрациях

Аминокислота	ИП (%) по отношению к контролю
Gly	$+2 \pm 1$
Ala	-3 ± 2
Asn	-13 ± 3
His	$+12 \pm 5$
Lys	$+30^* \pm 3$
Ser	$+4 \pm 3$
Gln	-7 ± 5
Arg	$+30^* \pm 3$
Pro	$+21^* \pm 1$
Glu	$+29^* \pm 1$
Asp	-15 ± 5
Cys	-3 ± 1
Tyr	$+16 \pm 5$
Val	-4 ± 2
Thr	-2 ± 1
Met	$+6 \pm 2$
Leu	$+5 \pm 3$
Ile	-8 ± 2
Phe	$+5 \pm 1$
Trp	$+18^* \pm 4$

Примечание. * — различия по сравнению с показателем в контроле, $p < 0,05$.

аргинина — способны устранять ингибирующий эффект циклофосфана в органотипической культуре ткани кожи крыс. Аминокислоты с заряженными боковыми цепями могут рассматриваться в качестве простейших регуляторов и стимуляторов физиологических функций [8, 16, 20, 27]. Известно, что из всех физико-химических свойств аминокислот именно гидрофобность их боковых групп очень важна для их молекулярных взаимодействий. Механизмы действия данных аминокислот на клетки могут иметь универсальные черты, что согласуется с предположением об участии электростатических и гидрофобных взаимодействий в этих процессах.

На основании полученных экспериментальных данных можно полагать, что при действии цикло-

фосфана, моделирующего резорбтивное действие иприта, в ткани кожи происходит угнетение клеточной пролиферации. Данный эффект циклофосфана необходимо учитывать при лечении отдаленных последствий отравлений ипритом и ипритоподобными соединениями, так как даже в случаях легкого поражения могут развиваться патологические изменения кожи, с чем также могут быть связаны онко- и мутагенные эффекты иприта. Полученные результаты позволяют обосновать использование аминокислот с заряженными боковыми радикалами — лизин, аргинин, глутаминовая кислота — как для снятия токсического влияния иприта и ипритоподобных веществ, так и для ослабления побочных явлений при лечении цитостатиками онкологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Solov'yov A. Yu., Chalisova N. I., Chernova I. A., Shataeva L. K., Sinyachkin D. A. Mechanisms of stimulation of cell proliferation under the influence of L-amino acids in tissue culture of young and old rats. *Uspekhi gerontologii*. 2013; 26 (2): 186–97. Russian (Соловьев А. Ю., Чалисова Н. И., Чернова И. А., Шатаева Л. К., Синячкин Д. А. Механизмы стимуляции клеточной пролиферации под влиянием L-аминокислот в культуре тканей молодых и старых крыс. *Успехи геронтологии*. 2013; 26 (2): 186–97).
2. Khavinson V. Kh., Chalisova N. I., Lin'kova N. S., Khalimov R. I., Nichik T. E. The dependence of the tissue specific peptide from the number of amino acids in their composition. *Fundamental'nyye issledovaniya*. 2015; 2 (3): 497–503. Russian (Хавинсон В. Х., Чалисова Н. И., Линькова Н. С., Халимов Р. И., Ничик Т. Е. Зависимость тканеспецифического действия пептидов от количества аминокислот, входящих в их состав. *Фундаментальные исследования*. 2015; 2 (3): 497–503).
3. Chalisova N. I., Kontsevaya E. A., Woytsechowskaya M. A. Regulatory effect of encoded amino acids on the basic cellular processes in young and old animals. *Uspekhi gerontologii*. 2011; 24 (2): 189–97. Russian (Чалисова Н. И., Концевая Е. А., Войцеховская М. А. Регуляторное влияние кодируемых аминокислот на основные клеточные процессы у молодых и старых животных. *Успехи геронтологии*. 2011; 24 (2): 189–97).
4. Chalisova N. I., Zakutskii A. Effect of amino acids on cell proliferation and P53 expression in neonatal rats. *Cell Biol. Int.* 2008; 32 (2): 1574–7.
5. Gerarde H. W., Jones M., Winnick T. Protein synthesis and amino acid turnover in tissue culture. *J. Biol. Chem.* 1966; 1: 51–68.
6. Kimball S. R., Jefferson L. S. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006; 83 (2): 500–7.
7. Neame K. D. Effect of neutral alpha- and omega-amino acids and basic alpha-amino acids on uptake of L-histidine by intestinal mucosa, testis, spleen and kidney in vitro: a comparison with effect in brain. *J. Physiol.* 1966; 185 (3): 627–45.
8. Belokrylov G. A., Derevnina O. N., Popova O. Ya. Differences in the immune response, phagocytosis and detoxification properties under the influence of peptide and amino acid drugs. *Byul. eksperiment. biol.* 1995; 118 (2): 509–12. Russian (Белокрылов Г. А., Деревнина О. Н., Попова О. Я. Различия в иммунном ответе, фагоцитозе и детоксицирующих свойствах под влиянием пептидных и аминокислотных препаратов. *Бюл. эксперимент. биол.* 1995; 118 (2): 509–12).
9. Arai T., Hiromatsu K., Nishimura H., Kimura Y., Kobayashi N., Ishida H., Nimura Y., Yoshikai Y. Endogenous interleukin 10 prevents apoptosis in macrophages during Salmonella infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 213 (2): 600–7.
10. Booth P. J., Humpherson P. G., Watson T. J., Leese H. J. Amino acid depletion and appearance during porcine preimplantation embryo development in vitro. *Reproduction*. 2005; 130 (5): 655–68.
11. Fratelli M., Gagliardini V., Galli G., Gnocchi P., Ghiara P., Ghezzi P. Autocrine interleukin-1 beta regulates both proliferation and apoptosis in EL4-6.1 thymoma cells. *Blood*. 1995; 85 (12): 3532–7.
12. Fu Y. M., Yu Z. X., Li Y. Q., Ge X., Sanchez P. J., Fu X., Meadows G. G. Specific amino acid dependency regulates invasiveness and viability of androgen-independent prostate cancer cells. *Nutr. Cancer*. 2003; 4 (1): 60–73.
13. Oehler R., Roth E. Regulatory capacity of glutamine. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2003; 6 (3): 277–82.
14. Cid C., Alvarez-Cermenio J. C., Regidor I., Plaza J., Salinas M., Alcázar A. Low concentrations of glutamate induce apoptosis in cultured neurons: implications for amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 2003; 206 (1): 91–5.
15. Chen R. W., Qin Z. H., Ren M., Li M. Regulation of c-Jun N-terminal kinase, p38 kinase and AP-1 DNA binding in cultured brain neurons: roles in glutamate excitotoxicity and lithium neuroprotection. *J. Neurochem.* 2003; 84 (3): 566–75.
16. Philip R., Campbell E., Wheatley D. N. Arginine deprivation, growth inhibition and tumour cell death: 2. Enzymatic degradation of arginine in normal and malignant cell cultures. *Br. J. Cancer*. 2003; 8 (4): 613–23.
17. Kim K. Y., Moon J. I., Lee E. J., Kim I. B., Park C. K., Oh S. J., Chun M. H. The effect of L-arginine, a nitric oxide synthase substrate, on retinal cell proliferation in the postnatal rat. *Dev. Neurosci.* 2002; 24 (4): 313–21.
18. Bruhat A., Cherasse Y., Chaveroux C., Maurin A. C., Jousse C., Faournoux P. Amino acids as regulators of gene expression in mammals: molecular mechanisms. *Biofactors*. 2009; 35 (1): 249–57.
19. Suschek C. V., Schnorr O., Hemmrich K., Aust O., Klotz L. O., Sies H., Kolb-Bachofen V. Critical role of L-arginine in endothelial cell survival during oxidative stress. *Circulation*. 2003; 107 (20): 2607–14.

20. Trulsson L., Sandström P., Sundqvist T., Smeds S., Gasslander T., Svanvik J. The Influence of a load of L-arginine on serum amino acids and pancreatic apoptosis/proliferation and ATP levels in the rat. *Pancreas*. 2004; 29 (4): 113–20.
21. Kimura M., Ogihara M. Effects of branched-chain amino acids on DNA synthesis and proliferation in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; 510 (3): 167–180.
22. Suryawan A., O'Connor P. M., Bush J. A., Nguyen H. V., Davis T. A. Differential regulation of protein synthesis by amino acids and insulin in peripheral and visceral tissues of neonatal pigs. *Amino Acids*. 2009; 37 (1): 97–104.
23. Vary T. Oral leucine enhances myocardial protein synthesis in rats acutely administered ethanol. *J. Nutr.* 2009; 139 (8): 1439–44.
24. Proud C. G. Amino acids and mTOR signalling in anabolic function. *Biochem. Soc. Trans.* 2005; 35 (5): 1187–90.
25. Vakhitov T. Ya., Chalisova N. I., Sall T. S., Kontsevaya E. A., Kozina L. S., Polevaya E. A., Zalomayeva E. S. Influence of genetically encoded amino acids and their precursors of carboxylic acids on cell proliferation in organotypic culture of the spleen in young and old rats. *Uspekhi gerontologii*. 2017; 30 (1): 39–42. Russian (Вахитов Т. Я., Чалисова Н. И., Салль Т. С., Концевая Е. А., Козина Л. С., Полевая Е. А., Заломаяева Е. С. Влияние генетически кодируемых аминокислот и их предшественников карбоновых кислот на клеточную пролиферацию в органотипической культуре селезенки у молодых и старых крыс. *Успехи геронтологии*. 2017; 30 (1): 39–42).
26. Chalisova N. I., Zakutskiy A. N., Aniskina A. V., Nozdrachev A. D. Effect of arginine and its metabolites in the myocardium of rats on an organotypic tissue culture. *Doklady RAS*. 2007; 415 (2): 273–6. Russian (Чалисова Н. И., Закуцкий А. Н., Анискина А. В., Ноздрачев А. Д. Влияние аргинина и его метаболитов на миокард крыс в органотипической культуре ткани. *Доклады РАН*. 2007; 415 (2): 273–6).
27. Chalisova N. I., Penniyaynen V. A., Nozdrachev A. D. Regulatory effect of amino acids in organotypic culture of lymphoid tissue with different degree of maturity. *Doklady RAS*. 2003; 389 (2): 117–9. Russian (Чалисова Н. И., Пенний-нен В. А., Ноздрачев А. Д. Регулирующее действие аминокислот в органотипической культуре лимфоидных тканей с различной степенью зрелости. *Доклады РАН*. 2003; 389 (2): 117–9).
28. Khavinson V. Kh., Lin'kova N. S., Dudkov A. V., Polyakova V. O., Kvetnoy I. M. Peptidergic regulation of expression of genes encoding antioxidant and anti-inflammatory proteins. *Byul. eksp. biol. med.* 2011; 152 (11): 548–51. Russian (Хавинсон В. Х., Линькова Н. С., Дудков А. В., Полякова В. О., Кветной И. М. Пептидергическая регуляция экспрессии генов, кодирующих антиоксидантные и противовоспалительные белки. *Бюл. эксп. биол. мед.* 2011; 152 (11): 548–51).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Чалисова Наталья Иосифовна — докт. биол. наук, ведущий научный сотрудник группы пептидной регуляции старения, ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова» Российской академии наук, 194037, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6, конт. тел.: +7(921)7647350, e-mail: ni-chalisova@mail.ru

Коровин Александр Евгеньевич — докт. мед. наук, доцент, подполковник мед. службы, начальник научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского отдела экспериментальной медицины, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, конт. тел.: +7(904)6035192, e-mail: korsyrik@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Chalisova Natal'ya I. — D. Sc. (Biology), Leading researcher, peptide regulation of ageing group, I. P. Pavlov Institute of physiology, 6, Makarova quay, Saint Petersburg, Russia, 194037, cont. phone: +7(921)7647350, e-mail: ni-chalisova@mail.ru

Korovin Aleksander E. — D. Sc. (Medicine), Assoc. Prof., Lieutenant Colonel of the Medical Service, the Head of the Research laboratory Military therapy of the Scientific research division of Experimental medicine, S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044, cont. phone: +7(904)6035192, e-mail: korsyrik@mail.ru