ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LXXXV 1987 5

УДК 612.102.94.017.1.014.46:615.276.4

МЕДИЦИНА

С. С. Гамбаров, Н. В. Адамян, Т. В. Агасарян, Л. Д. Мхеян, В. А. Шекоян, А. М. Хзарджян, Р. Т. Адамян

Эффект контрасупрессии у человека

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. Л. Микаеляном 11/IX 1987)

Расшифровка тонких механизмов иммунорегуляции имеет важное значение как для теории, так и для целей трансплантологии, онкологии, проблемы аутоиммунных и иммунодефицитных состояний. В последние годы в экспериментах на мышах ([1,2]) был выявлен новый уровень иммунорегуляции—контрасупрессия. Однако до настоящего времени встречаются лишь единичные работы ([3]) по изучению контрасупрессии у человека, что связано с отсутствием простого и удобного метода для выявления и оценки этого явления. Целью настоящего исследования явилось выявление эффекта контрасупрессии и его нарушения у человека, а также разработка метода, позволяющего его оценить.

Эффекты контрасупрессии изучались в системе отмены конканавалининдуцированной супрессии. Функциональную активность Т-супрессоров определяли методом двойной реакции бласттрансформации в модификации Гамбарова ([4]). Тест-культуру и культуру для индукции супрессоров готовили одномоментно. Из локтевой вены забирали кровь у здоровых добровольцев и больных с опухолевым ростом (рак тела матки). В одноступенчатом градиенте фиколл-верографина выделяли мононуклеары. После выделения клетки распределялись в три пенициллиновых флакона для последующего культивирования. Клетки в концентрации 1 млн/мл культивировали в 3 мл среды RPMI 1640 (Gibco) с добавлением 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (Flow), 10mM Hepes, 2mM глютамина, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина.

В первый флакон добавляли фитогемагглютинин (ФГА) (Serva) в дозе 20 мкг/мл (получение тест-культуры), во второй—конканавалин А (Кон А) в дозе 40 мкг/мл (индукция супрессоров), в третий митогены не добавляли (контроль спонтанной пролиферации). Через 48 ч клетки из первого флакона отмывали и распределяли в девять флаконов по 3×10^5 в каждый. Лимфоциты доноров, инкубированные с Кон А, отмывали и ресуспендировали в среде RPMI 1640 с вышеуказанными добавками и инкубировали в течение 40 мин при температуре 37°C с митомицином С в количестве 40 мкг/мл. После инкубации с митомицином С клетки дважды отмывали и переносили в шесть из девяти флаконов, содержащих клетки, стимулированные ФГА, в соотношении 1:1, а также в три пустых флакона (контроль обработки митомицином). В три флакона помещали клетки, инкубированные без митогена

(контроль спонтанной пролиферации). В три из этих шести флаконов добавляли свежевыделенные аутологичные лимфоциты. Во все флаконы добавляли H^3 тимидин с радиоактивностью 2 мкК. Результаты учитывались через 24 ч.

Индекс супрессии ($И_с$) вычисляли по формуле $И_с = \frac{I(ФГА) - I(S)}{I(ФГА)} \times$ $\times 100$, где I(ФГА)—количество импульсов в тест-культуре с ФГА, $I(S)$—количество импульсов в культуре, содержащей смесь клеток, инкубированных с ФГА, и индуцированных Кон А супрессоров.

Индекс контрасупрессии ($И_{кс}$) определяли по формуле $И_{кс} = \frac{I_{кс} - I(S)}{I(ФГА) - I(S)}$, где $I_{кс}$—количество импульсов культуры, содержащей клетки, инкубированные с ФГА, конканавалининдуцированные супрессоры и свежевыделенные аутологичные лимфоциты.

Как видно из рис. 1, супрессоры, индуцированные Кон А и добавленные через 48 ч после начала культивирования в тест-культуру лим-

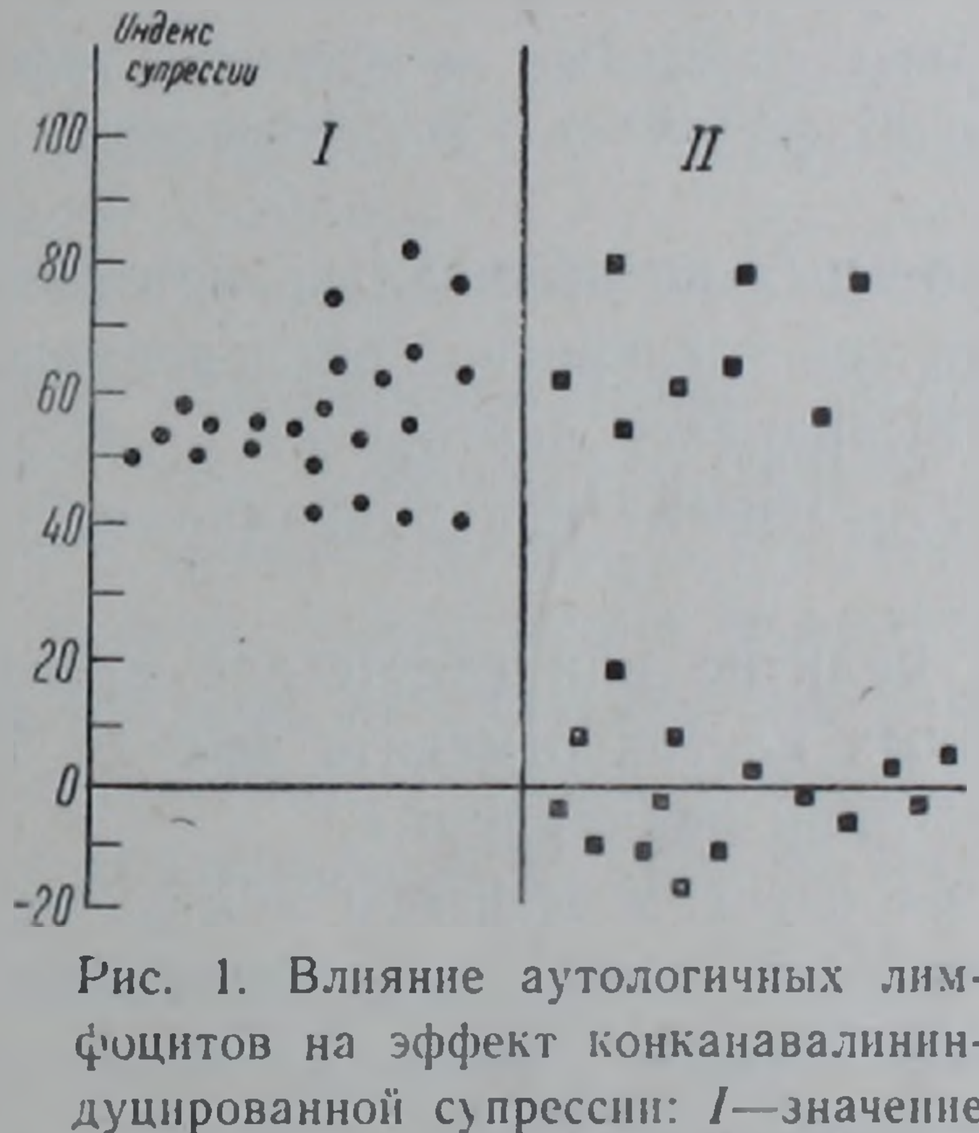

Рис. 1. Влияние аутологичных лимфоцитов на эффект конканавалининдуцированной супрессии: *I*—значение индекса супрессии без добавления аутологических лимфоцитов; *II*—индекс супрессии в системе при добавлении аутологичных лимфоцитов

фоцитов, стимулированных ФГА, угнетают пролиферативную активность клеток мишеней приблизительно на 50%. В то же время при добавлении в тест-культуру вместе с конканавалининдуцированными супрессорами свежевыделенных аутологичных мононуклеаров в 70% случаев наблюдалась полная отмена или значительное ослабление эффекта супрессии. Таким образом, в популяции свежевыделенных мононуклеаров присутствуют клетки, блокирующие эффект конканавалининдуцированных супрессоров, т. .е .обладающие контрасупрессорной активностью.

У 10 лиц с выявленной способностью свежевыделенных аутологичных лимфоцитов блокировать эффект сингенных конканавалининдуцированных супрессоров эффект контрасупрессии определялся еще дважды с интервалом в один месяц. У 9 из 10 обследованных контра-

супрессорный эффект свежевыделенных аутологичных лимфоцитов определяли при всех исследованиях. Причем индексы контрасупрессии в каждом случае не претерпевали существенных колебаний (таблица). У одного эффект контрасупрессии определяли в двух из трех исследо-

Значение индексов контрасупрессии при трехкратных исследованиях

Группа I			Группа II		
I	II	III	I	II	III
1,2	1,1	0,9	0,01	0,01	0,05
0,85	0,1	0,9	0,01	0,02	0,01
0,74	0,8	1,0	0,02	0,04	0,01
1,07	1,2	0,9	0,04	—0,02	0,03
1,2	0,9	1,2	—0,08	0,01	—0,04
1,3	1,1	1,0			
1,3	0,9	1,2			
0,97	1,2	0,8			
1,0	0,8	0,9			
1,2	1,0	1,1			

Примечание: группа I—лица с первично выявленным эффектом контрасупрессии; группа II—лица с невыявленным эффектом контрасупрессии

ваний. У 5 лиц, у которых не выявлялась контрасупрессорная активность, также проводилось трехкратное обследование. Ни в одном случае у этих лиц не выявлялась способность свежевыделенных мононуклеаров блокировать эффект конканавалининдуцированных супрессоров.

Таким образом, наличие или отсутствие способности свежевыделенных мононуклеарных клеток отменять эффект Т-супрессоров является стабильным свойством индивидуума.

В дальнейшем мы изучали эффекты контрасупрессии при состояниях, сопровождающихся значительным угнетением иммунного ответа, а именно при опухолевом росте и после сложных оперативных вмешательств (митральная комиссуротомия).

На рис. 2 приводятся данные по изучению эффекта контрасупрессии больных с опухолевым ростом (рак тела матки) до проведения оперативного вмешательства. Как видно из рисунка, добавление в тест-культуру лимфоцитов вместе с супрессорами свежевыделенных лимфоцитов у 12 из 20 больных с опухолевым ростом не сопровождалось блокированием эффекта конканавалининдуцированных супрессоров. В пяти случаях наблюдался инверсный эффект, т. е. свежевыделенные аутологичные мононуклеары усиливали эффект конканавалининдуцированных супрессоров. Всего лишь у 3 из 20 обследованных наблюдался эффект контрасупрессии. Таким образом, у лиц с опухолевым ростом способность аутологичных лимфоцитов проявлять контрасупрессорный эффект выявлялась лишь в 15% случаев, а в 25% случаев наблюдался инверсный эффект, т. е. усиление супрессии.

Изучение влияния оперативного вмешательства на эффекты кон-

трасупрессии выявило, что в ближайшем послеоперационном периоде наблюдается нарушение взаимодействия клеток, приводящих к контрасупрессорному эффекту (рис. 3).

Таким образом, из приведенных выше данных можно прийти к заключению, что в популяции мононуклеаров человека присутствуют

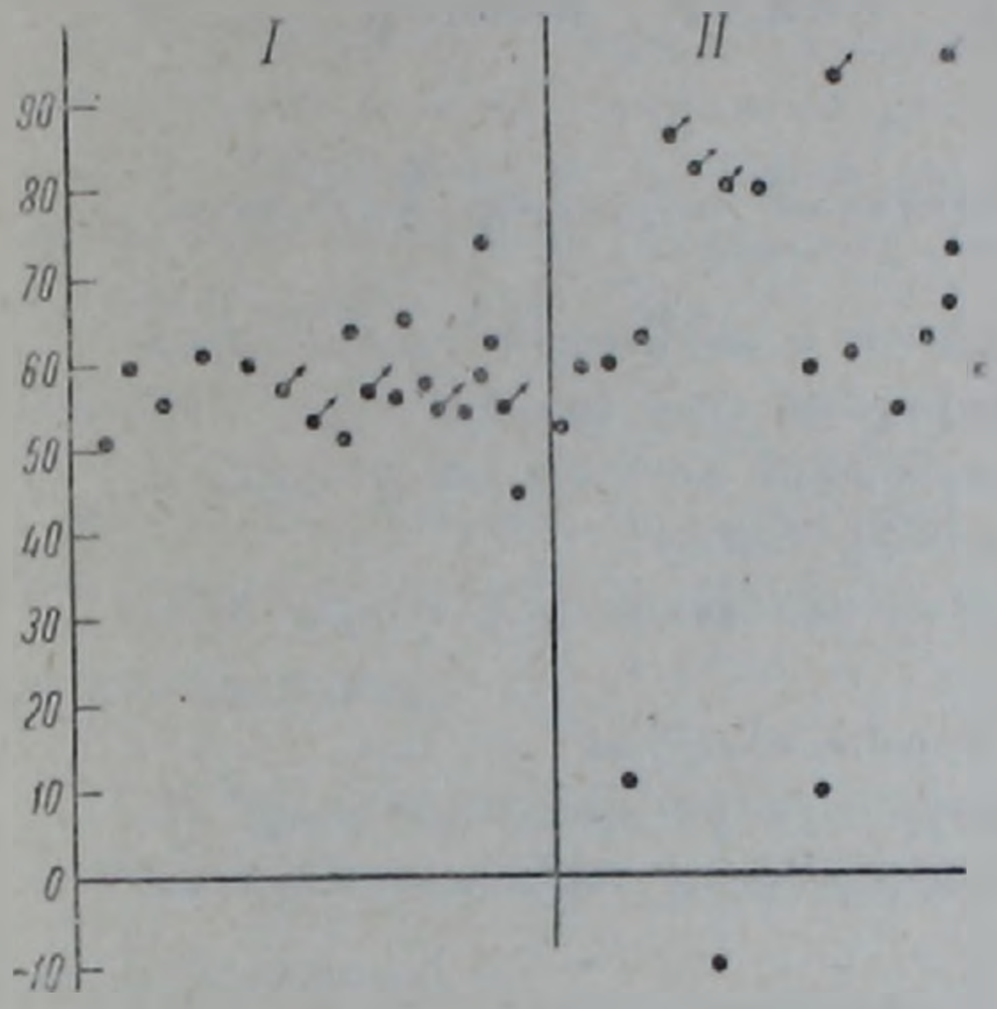

Рис. 2. Нарушение эффектов контрасупрессии в процессе опухолевого роста. *I, II*—то же, что на рис. 1

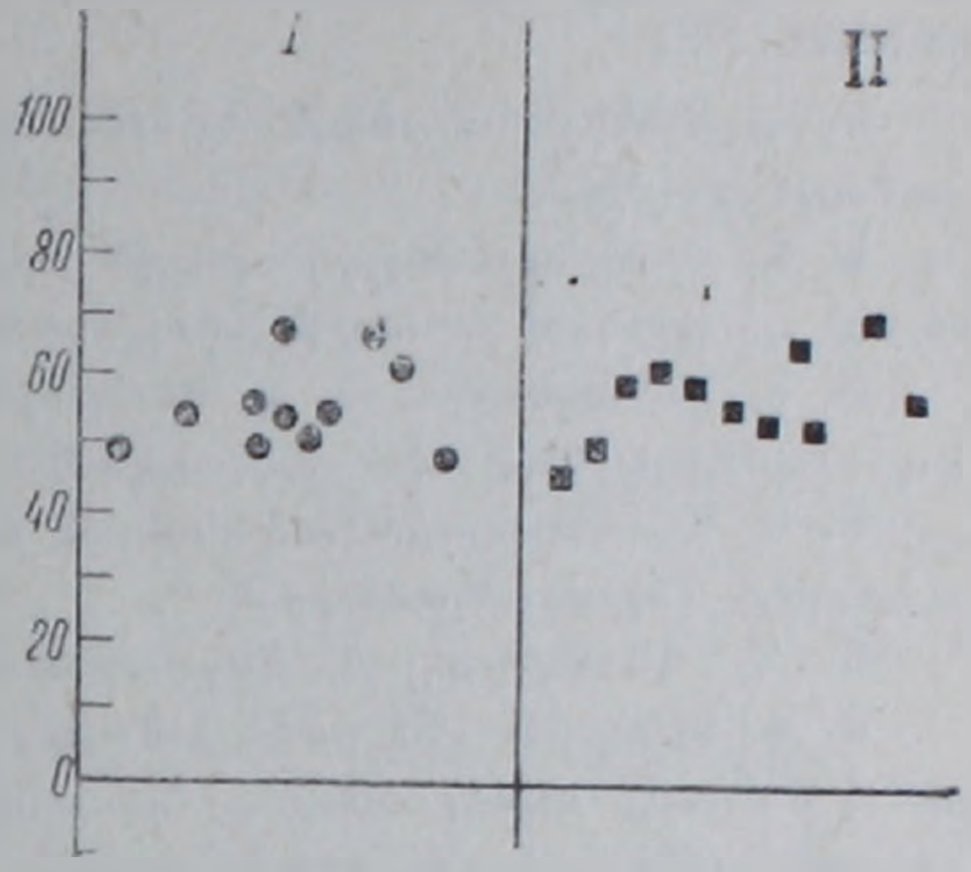

Рис. 3. Нарушение эффектов контрасупрессии после оперативных вмешательств. *I, II*—то же, что на рис. 1

клетки, обладающие контрасупрессорной активностью и, вероятно, играющие большую роль в иммунологическом гомеостазе. В работе показано нарушение взаимодействия супрессор-контрасупрессор при опухолевом росте и после оперативных вмешательств.

Методика определения контрасупрессии у человека, описываемая в данной работе, относительно проста и может быть широко использована при оценке контрасупрессии при тех или иных состояниях.

Ереванский филиал ВНЦХ Академии медицинских наук СССР

Ս. Ս. ԳԱՄԲԱՐՈՎ, Ն. Վ. ԱՓԱՄՅԱՆ, Տ. Վ. ԱՂԱՍԱՐՅԱՆ, Լ. Դ. ՄԽԵՅԱՆ,
Վ. Ա. ՇԵԿՈՅԱՆ, Ա. Մ. ԽՂԱՐՋՅԱՆ, Ռ. Տ. ԱԴԱՄՅԱՆ

Կոնտրասուպրեսորային էֆեկտները մարդկային օրգանիզմում

Ցուցադրված է մարդկային օրգանիզմում կոնտրասուպրեսորային էֆեկտների հայտնաբերման և գնահատման հնարավորությունը:

Հայտնաբերված է կոնտրասուպրեսորային էֆեկտների խախտվածությունը ուռուցքների աճման պրոցեսում և վիրաբուժական միջամտություններից հետո:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *С. С. Гамбаров*, Автореф. докт. дис. М., 1980. [2] *R. K. Gershon, D. D. Eardley, S. Durum* e. a., J. Exp. Med., v. 153, p. 1533 (1981). [3] *T. Lehner, T. Joner*, Immunol., v. 53, p. 215 (1984). [4] *С. С. Гамбаров, А. М. Хзарджян, Н. В. Адамян* и др., Бюл. экпер. биол., № 5, с. 598 (1986).