

УДК 611.616—076.4.616.9—092.6/9.616—006.34.61

МОРФОЛОГИЯ

Л. А. Камалян, Н. Г. Джагацпэнян, К. Р. Манвелян, А. А. Чачоян,
В. О. Грабовска, И. Н. Савенкова

Влияние индуктора интерферона—дсРНК на опухолевый рост
in vitro и *in vivo*

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР Ю. Т. Алексаняном 10/VI 1988)

Широкий спектр биологической активности различных индукторов интерферона (ИФН) включает, помимо противовирусного, иммуномодулирующего, антимуtagenного и радиопротективного, также выраженное противоопухолевое действие. Как известно, к наиболее активным индукторам ИФН относятся РНК-содержащие вирусы, а также природные и синтетические двуспиральные (дс) РНК (1—6).

В настоящей работе приведены результаты изучения противоопухолевой активности природной дсРНК фагового происхождения, полученной в Институте микробиологии им. А. Кирхенштейна АН Латвийской ССР.

В опытах *in vitro* использованы перевиваемые клетки лейкозных линии человека L-41, рака поджелудочной железы (СР) и гепатомы мышей ХХIIа, *in vivo*—белые беспородные мыши, а также мыши линии СВА, СЗНА, С₅₇В1/6 массой 18—20 г. Способность дсРНК к продукции ИФН в клеточных культурах определяли по антивирусной активности культуральных проб на гомологичных клетках культур по степени защиты их от цитопатического действия тест-вируса. Антипролиферативное действие дсРНК определяли в динамике в клетках культур, выращенных на покровных стеклах при посевной дозе 100 тыс. кл/мл. Фиксацию проводили в смеси Карнуа, препараты окрашивали гематоксилин-эозином, дсРНК вносили в концентрации 10 мкг/мл одновременно или спустя 24 ч после посева. Противоопухолевое действие дсРНК определяли по степени подавления роста опухоли. дсРНК вводили внутрибрюшинно в концентрации 50 мкг/мышь в течение 5—6 дней, лечение начинали через 48 и 96 ч после перевивки. Для проведения патогистологических исследований кусочки опухоли фиксировали в жидкости Карнуа, затем заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мк окрашивали гематоксилин-эозином и метилгрюн-пиронином по методу Браше.

Изучено влияние дсРНК в концентрации 10 мкг/мл на митотическую активность клеток линии L-41 при введении препарата одновременно с посевом клеток или спустя 24 ч без замены среды культивирования. Данные о влиянии дсРНК на деление клеток линии L-41 приведены в табл. I. Они показывают, что при использованной посевной дозе пик митотической активности отмечен к 48—72 ч, после чего наблю-

дается резкое снижение числа митозов. При одновременном с посевом введении дсРНК статистически достоверное угнетение пролиферативной активности выявляется спустя 48, 72, и 96 ч (опыт I). При внесении дсРНК спустя 24 ч после посева клеток имеет место более раннее угнетение митотической активности (к 24 ч), которое продолжается до конца наблюдения (опыт II).

Таблица 1

Влияние дсРНК на митотическую активность L-41

Сроки исследования, ч	Митотическая активность, ‰				
	Контроль	Опыт I	p	Опыт II	p
24	10,6±1,8	14,4±1,2	<0,05	—	—
48	22,8±1,2	8,6±0,7	<0,01	9,5±2,5	<0,02
72	21,8±1,9	10,1±3,5	<0,02	7,3±0,15	<0,01
96	9,8±2,0	4,0±1,5	<0,02	2,9±0,2	<0,02

Примечания: опыт I—введение дсРНК одновременно с посевом клеток; опыт II—введение дсРНК спустя 24 ч после посева

Несколько иные данные получены при замене среды культивирования, т. е. при удалении дсРНК после 24-часовой экспозиции с клетками. Согласно результатам, замена среды уменьшает (независимо от срока внесения дсРНК) продолжительность ингибирующего эффекта препарата до 72 ч. Спустя 96 ч митотическая активность клеток в опыте не только не снижается, но и достоверно превышает таковую в контроле.

Было исследовано также влияние дсРНК на пролиферативную активность клеток опухолевой линии рака поджелудочной железы. ДсРНК вносили одновременно с посевом клеток в концентрации 10 мкг/мл без замены среды культивирования в течение 4 дней. Клетки культуры СР (контроль) достигали пика митотической активности к 48 ч, после чего имело место снижение пролиферативной активности. дсРНК вызывал статистически достоверное угнетение митотической активности лишь спустя 24 и 48 ч, в более поздние сроки отмечена достоверная стимуляция митотической активности, что, по-видимому, связано с началом деления ранее покоящихся в культуре клеток (табл. 2).

Перевиваемая линия МГХХIIа оказалась нечувствительной к антипролиферативному действию дсРНК, о чем свидетельствует прибли-

Таблица 2

Влияние дсРНК на митотическую активность перевиваемой линии рака поджелудочной железы

Сроки исследования, ч	Митотическая активность, ‰		
	Контроль	Опыт	p
24	41,1±2,0	29,1±2,6	<0,01
48	46,4±1,27	39,3±1,37	<0,01
72	30,0±1,0	34,1±0,8	<0,02
96	20,8±1,9	28,3±1,0	<0,02

зительно одинаковая митотическая активность клеток в опыте и контроле. Нами выяснялась возможная связь антимитотического действия дсРНК с продукцией интерферона в клетках L-41 и СР. Однако в исследуемых линиях дсРНК не индуцировала ощутимых количеств ИФН (титр был менее 20 ед/мл), что позволяет исключить опосредованное действие препарата на клетки.

Изучалось противоопухолевое действие дсРНК в опытах на мышах. Согласно полученным результатам, дсРНК вызывала достоверное подавление роста рака молочной железы (РМЖ), карциномы Льюиса (3^{LL}), саркомы Крокера (С—180), саркомы 37 (С—37) и обуславливала четкую тенденцию к угнетению роста гепатомы, но не влияла на развитие аденокарциномы Эрлиха. Степень подавления роста опухоли была неодинаковой и колебалась от 36 до 67% (табл. 3).

Таблица 3

Противоопухолевое действие дсРНК в отношении перевиваемых опухолей мышей

Штамм опухоли	Средний вес, г, или объем, мм ³		p	Индекс торможения, %
	Контроль	Опыт		
РМЖ	2.5±0.6	0.87±0.27	<0.01	67
3 ^{LL}	1070±240	350±160	0.05	67
С—180	2.5±0.23	1.21±0.3	<0.01	54
С—37	0.8±0.2	0.5±0.2	<0.05	36
МГХХIIa	2.62±0.73	1.57±0.5	>0.05	40

Подавление роста вышеуказанных опухолей было временным: после окончания лечения разница в весе опухолей у животных контрольной и опытной групп постепенно уменьшалась. Так, у мышей с карциномой Льюиса индекс торможения в течение 5 дней снизился с 67 до 58%.

В связи со способностью аденокарциномы Льюиса метастазировать в легкие было изучено влияние дсРНК на количество и объем метастазов как при наличии первичной опухоли (опыт I), которая, как известно, тормозит метастазирование (конкмитантный иммунитет), так и при хирургическом удалении ее (опыт II). В первом опыте лечение дсРНК сокращало количество и объем метастазов, соответственно, на 65 и 69% по сравнению с контролем. Во втором опыте, где дсРНК вводили спустя день после операции, также отмечено ингибирующее действие препарата на процесс метастазирования: объем метастазов у леченых мышей уменьшается на 76% по сравнению с контролем. Итак, лечение дсРНК тормозит развитие метастазов в легких не только при наличии первичной опухоли, но и при удалении ее, т. е. в условиях отсутствия конкмитантного иммунитета.

В связи с заметным подавляющим действием дсРНК на рост ряда перевиваемых опухолей мышей представлялось целесообразным изучить возможные морфологические сдвиги, обусловленные введением препарата. Для этой цели была использована одна из наиболее чувствительных к дсРНК опухолей—сравнительно новая линия рака молочной железы, выведенная в ОИЦ Армянской ССР (7). Опухоли у ко-

трольных мышц имели железистое строение, в соединительнотканной строме встречались участки лимфоцитарной инфильтрации, расположенные в основном по ходу сосудов. Очаги деструкции опухолевых клеток наблюдались крайне редко. В опухолевой ткани определялось большое число делящихся клеток.

В опухолях у подопытных животных, получивших дсРНК, отмечено наличие более обширных участков лимфоцитарной инфильтрации, при этом не только по ходу сосудов и в строме, но и в самой опухоли (рис. 1). Гораздо чаще, чем у контрольных животных, наблюдались участки с деструкцией опухолевых клеток, расположенные, главным образом, в центре опухолевых тяжей, содержащие обрывки цито-

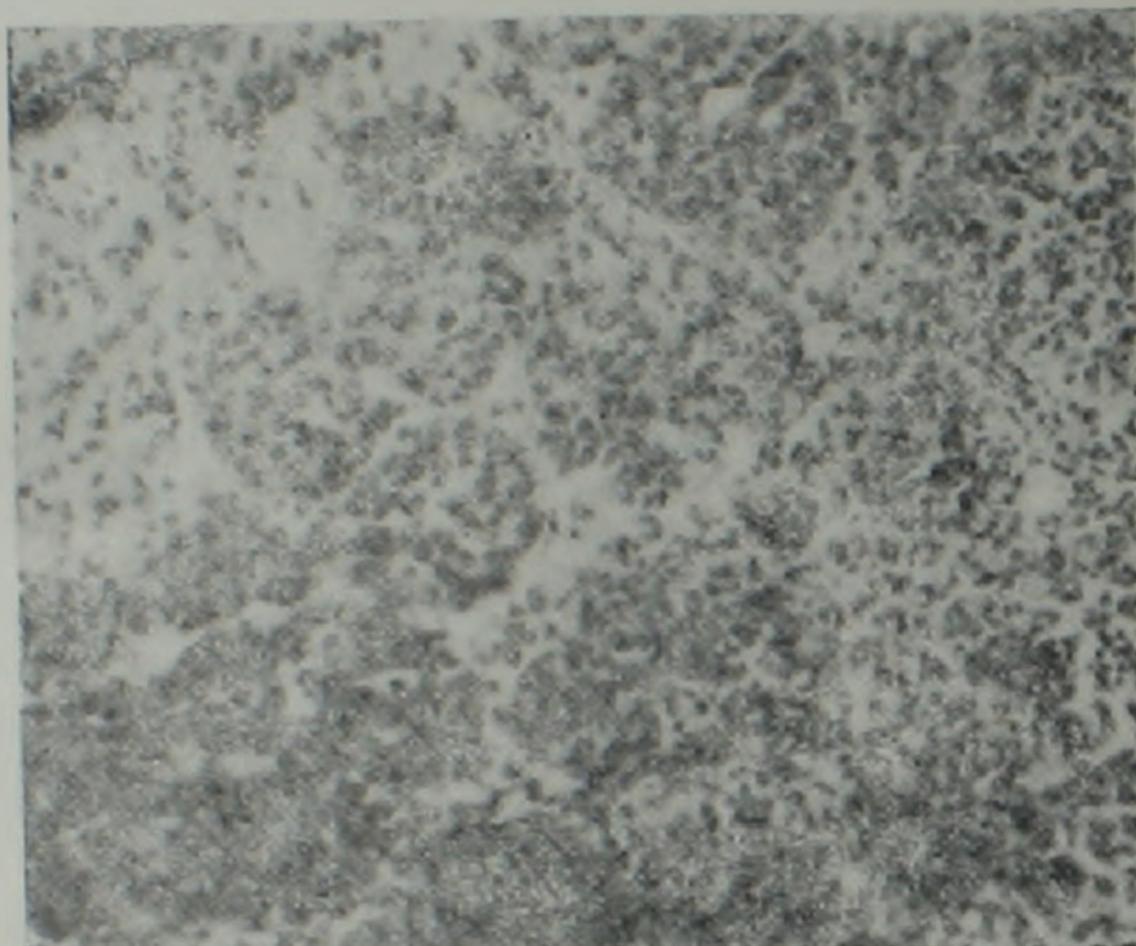


Рис. 1. Лимфоцитарная инфильтрация опухоли. Увел. $\times 200$

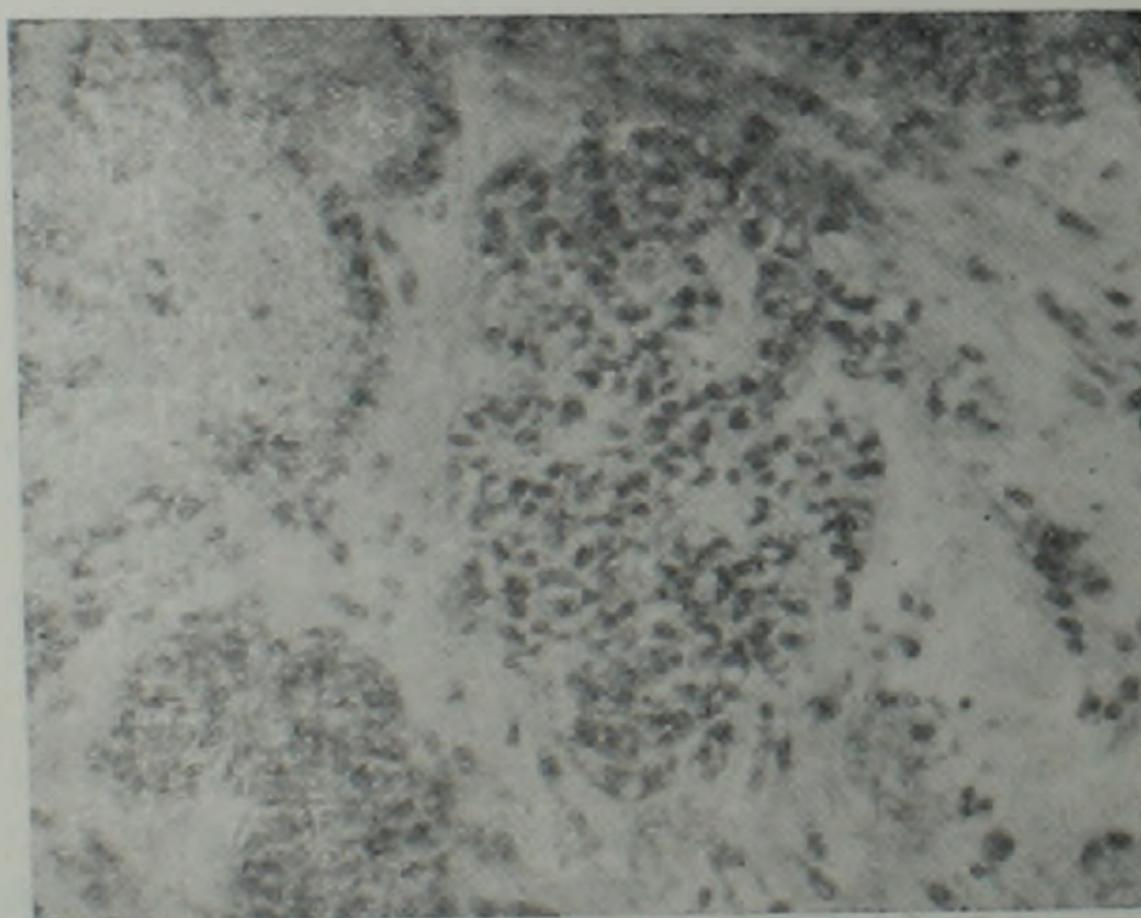


Рис. 2. Вакуолизация и деструкция опухолевых клеток. Увел. $\times 250$

плазмы, фрагменты ядер и дистрофически измененные вакуолизированные клетки (рис. 2). В отдельных срезах, наряду с железнатыми структурами, обнаруживались участки солидизированной опухолевой ткани. Реже, чем в контроле, встречались клетки в стадии деления. Гистологические данные свидетельствуют о том, что дсРНК способна интенсифицировать иммунные клеточные реакции, подавлять митотическую активность и оказывать деструктивное действие на опухолевые клетки.

Таким образом, выявлено антипролиферативное действие дсРНК *in vitro* и *in vivo*, что, наряду с данными о клиническом применении препарата (8), обосновывает целесообразность использования его в комплексной терапии злокачественных новообразований.

Онкологический научный центр им. В. А. Фанарджяна
Министерства здравоохранения Армянской ССР

Լ. Ա. ՔԱՄԱԼՅԱՆ, Ն. Կ. ԶԱՂԱՅՊԱՆՅԱՆ, Կ. Ի. ՄԱՆԼԻԼՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱԶՈՅԱՆ,
Վ. Օ. ԿՐԱՐՈՎՍԿԱ, Ի. Ն. ՍԱՎԵՆՆՈՎԱ

Ինտերֆերոնի ինդուկտոր երկշղթա ռիբոնուկլեինային թթվի ազդեցությունը ուռուցքային անի վրա

Աշխատանքում ներկայացված են երկշղթա ռիբոնուկլեինային թթվի հակաուռուցքային ազդեցության արդյունքները: Մարդու ուռուցքային ծագում ունեցող բջջային կուլտուրաներում պրեպարատը ճնշում է բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը: Պրեպարատի ներգործությունը կախում չունի ինտերֆերոնի ազդեցությունից:

Մկների բուծումը 5—6 օրվա ընթացքում (2,5 մգ/կգ միանվագ դոզաբաժնով) պայմանավորել է մի շարք պատվաստվող ուռուցքների ճնշումը: Պրեպարատի հակաուռուցքային ներգործությունը իրագործվում է ինտերֆերոնի արտահայտման, իմունիտետի բջջային ռեակցիաների ուժեղացման միջոցով և ուռուցքային բջիջների վրա նրա անմիջական ազդեցության հետևանքով:

ЛИТЕРАТУРА—ԿՐԱՎԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Л. М. Брувер, Я. Фелдмане, в кн: Индукторы интерферона, Зинатне, Рига, с. 47—51, 1981. 2. Л. М. Вильнер, Н. С. Лошкевич, Н. С. Тихомирова-Сидорова и др., Вопросы вирусологии, № 3, с. 334—337, 1984. 3. Н. Г. Джагацянчн, Л. А. Камалян, в кн: IV Всесоюзный съезд онкологов. Тезисы докл., Л., с. 252, 1986. 4. Ф. Н. Ершов, А. С. Новохатский, в кн: Интерферон и его индукторы. Наука, М., 1980. 5. Л. А. Лаарухина, Ф. Н. Ершов, Вопросы вирусологии, № 4, с. 446—449, 1985. 6. Н. Н. Носик, Ф. Н. Ершов, О. В. Николаева и др., Вопросы вирусологии, № 6, с. 718—720, 1984. 7. К. Р. Манвелян, Б. А. Изданян, Т. С. Лачагурова, Журн. экспериментальной и клинической медицины АН АрмССР, т. 19, № 5, с. 67—70 (1979). 8. Л. А. Камалян, Г. Я. Фелдмане, Л. Н. Мкртчян и др., в кн: Неспецифические стимуляторы в иммунотерапии опухолей, Зинатне Рига, с. 199—204, 1985.