

УДК 612.102.94.017.1.014.46:615:276.4

МЕДИЦИНА

А. М. Хзарджян, С. С. Гамбаров, Ի. Վ. Ագասյան, Լ. Դ. Մխչյան,
 Կ. Մ. Մարկոսյան, Ա. Զ. Խանդանյան, Վ. Ա. Շեկոյան

К вопросу о механизме блокирующего действия В-активина на эффекты Т-супрессии

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. Л. Микаеляном 16/III 1988)

В последнее время было показано, что одним из механизмов иммуностимулирующего действия В-активина является ингибция эффектов Т-супрессоров (1-5). Причем ингибирующее влияние В-активина (миелопид) на эффекты Т-супрессоров может происходить на уровне блокирования Т-супрессоров либо осуществляться за счет его протективного действия на клетки мишени супрессии.

Целью данной работы явилось выявление механизмов ингибирующего действия В-активина на эффекты Т-супрессоров.

Эксперименты ставили на лимфоцитах, выделенных из крови доноров-добровольцев, взятой из локтевой вены. Эффекты супрессии и их отмены изучали методом двойной реакции бласттрансформации в модификации С. С. Гамбарова (1). В этой модели тест-культуру и культуру для индукции супрессоров готовили одновременно. Лимфоциты выделяли на одноступенчатом градиенте фикола-верографина. Для культивирования клеток использовали среду RPMI—1640 (Gibco) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Flow), 10 мМ Нерес, 2 мМ глутамина, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина. Клетки культивировали в концентрации 1 млн/мл в 3 мл среды RPMI с вышеуказанными добавками.

В первый флакон добавляли ФГА («Seriva», США) в дозе 10 мкг/мл (получение тест-культуры), во второй—Кон А («Difco») в дозе 40 мкг/мл (индукция супрессоров), в третий митогены не добавляли (контроль спонтанной пролиферации)

Через 48 ч клетки из первого флакона распределяли в 9 флаконов по $3 \cdot 10^5$ клеток в каждый. Лимфоциты из второго флакона (инкубированные с Кон А) отмывали, ресуспендировали в среде RPMI—1640 с указанными выше добавками и инкубировали в течение 40 мин с митомином С (40 мкг/мл). После инкубации клетки дважды отмывали и переносили в 6 из 9 флаконов, содержащих клетки, стимулированные ФГА, в соотношении 1:1, а также в 3 пустых флакона в качестве контроля обработки митомином (по $3 \cdot 10^5$ клеток в каждый). В 3 из этих 6 флаконов добавляли В-активин (50 мкг/мл), а в 3 помещали клетки ($3 \cdot 10^5$) из третьего флакона, инкубированные без митогена (контроль спонтанной пролиферации). Во все флаконы добавляли H^3

тимидин с удельной радиоактивностью 2 мкКи. Результаты учитывали еще через 24 ч. Таким образом, в этой модели эффект супрессии определяли через 72 ч после начала эксперимента. Для выявления механизмов действия В-активина на Кон А индуцированную Т-супрессию предварительно обрабатывали клетки-мишени супрессии (тест-культура) или Кон А индуцированные супрессоры В-активином в течение 45 мин. Обработку клеток В-активином (50 мкг/мл) проводили при 4 или 37°C.

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

В таблице приведены результаты исследования. Кон А индуцированные супрессоры при добавлении в тест-культуру лимфоцитов, стимулированных ФГА, угнетают пролиферативную активность клеток-мишеней примерно на 50%. В-активин при добавлении с Кон А индуцированными супрессорами отменяет эффект последних: пролиферативная активность клеток мишеней не угнетается. Таким образом, В-активин блокирует эффект Кон А индуцированных супрессоров. Предполагалось, что блокирование эффектов Кон А индуцированных Т-супрессоров может происходить за счет блокирования Т-супрессоров или защиты клеток мишеней супрессии от супрессорных воздействий.

Влияние В-активина на Т-супрессию (8 опытов)

Обработка В-активином	Индекс супрессии
Контроль супрессорной системы	58,7(67,7 ÷ 49,7)
Добавление в супрессорную систему	-4,9(-12,5 ÷ 2,7)
Тест-культура (37°C)	-7,0(-17,4 ÷ 3,4)
Тест-культура (4°C)	64,5(70,7 ÷ 58,3)
Супрессоры (37°C)	59,1(65,2 ÷ 53,0)

Для того, чтобы выяснить механизм контрсупрессорного действия В-активина, была поставлена специальная серия экспериментов, в которых с В-активином инкубировали в течение 45 мин либо клетки мишени Т-супрессоров (тест-культура), либо Кон А индуцированные супрессоры. Клетки с В-активином инкубировали при 37 и 4°C. Как видно из таблицы, при добавлении в тест-культуру Кон А индуцированных супрессоров после их предварительной инкубации с В-активином как при 4, так и 37°C эффект супрессии был такой же, как и в обычной супрессорной системе. Иная картина наблюдалась, если с В-активином культивировали клетки-мишени Т-супрессоров, т. е. тест-культуру. Супрессии пролиферативного ответа не наблюдалось, если Кон А индуцированные супрессоры добавляли к клеткам, стимулированным ФГА, после предварительной инкубации последних с В-активином в течение 45 мин при 37°C. Способность миелопида защищать от супрессорных воздействий клетки тест-культуры, как видно из таблицы,

не проявлялась при 4°C. Зависимость протективного действия мнело-пида от температуры говорит о том, что его действие связано с метаболическим процессом, а не просто блокадой мест связывания супрес-сорных факторов.

Ереванский центр Всесоюзного научного центра хирургии

Ա. Մ. ԽՋԱՐՋՅԱՆ, Ս. Ս. ԿԱՄԲԱՐՈՎ, Թ. Վ. ԱՂԱՍԱՐՅԱՆ, Լ. Գ. ՄԿԵՅԱՆ,
Կ. Մ. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ, Ա. Ժ. ԽԱՆՄԱՆՅԱՆ, Վ. Ա. ՇԵԿՈՅԱՆ

**Բ-ակտիվինի կողմից S-սուպրեսորների էֆեկտի
չնզոնացման հարցի շուրջը**

Հայտնաբերված է, որ Բ-ակտիվինի կոնսրասուպրեսորային ազդեցու-թյունը պայմանավորված է սուպրեսիայի թիրախ բջիջների պաշտպանու-թյամբ սուպրեսորային ազդեցություններից:

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ С. С. Гамбаров, А. А. Михайлова, А. М. Хзарджян, в кн.: Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике, М., с. 39, 1983. ² С. С. Гамбаров, А. М. Хзарджян, А. А. Михайлова и др., в кн.: Вопросы молекулярно-клеточной биологии, Изд. АН АрмССР, Ереван, с. 41—42. 1983. ³ С. С. Гамбаров, А. М. Хзарджян, А. А. Михайлова и др., в кн.: Современные методы иммунотерапии, Медицина, М., с. 262, 1984. ⁴ С. С. Гамбаров, А. М. Хзарджян, Ш. В. Адамян и др., Бюл. экспериментальной биологии и медицины, № 5, с. 598—600 (1986). ⁵ А. А. Михайлова, Р. В. Петров, Р. Н. Степаненко, ДАН СССР, т. 229, с. 247—249 (1976).