ков А. Г., Васина И. Г., Шатилова Н. В. С сб.: Иммунодепресс при трансплантации органов. М., 1973, с. 45. 7. *Шекоян В. А.* Ж. микробиол., эпидемиол., иммунобиол., 1977, 1, с. 134. 8. *Macris N. T., Schiavi R. C., Camerino M. S., Stein M.* Am. J. Physiol., 1970, 219, 1205.

УДК 615.372:616—006.6

М. Г. Гаспарян, М. А. Дадурян, Н. Г. Джагацпанян, Л. А. Камалян

О ВЛИЯНИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ α_2-ИНТЕРФЕРОНА И ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ОПУХОЛЕВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Широкий спектр биологических эффектов интерферонов и интерлейкинов общеизвестен. Они выполняют важную роль в реализации иммунологических реакций, пролиферации и дифференциации иммунокомпетентных клеток. В связи с этим актуально изучение изолированного и совместного действия этих иммунокорректоров.

Клинические эффекты природных интерферонов (ИФН) и интерлейкина-2 (ИЛ-2) стимулировали исследования в области генной инженерии, что привело к получению рекомбинантных препаратов. Таким образом, достижения современной биотехнологии позволили начать широкие экспериментальные и клинические исследования особенностей биологического действия рекомбинантных интерферонов и интерлейкинов, в частности ИЛ-2.

Как известно, один из важных противоопухолевых эффектов интерферонов обусловлен их способностью к регуляции клеточного деления, проявлением которой является антипролиферативный эффект в отношении опухолевых клеток, достаточно убедительно показанный в опытах in vitro [1, 4, 5, 9, 14]. По сравнению с интерферонами, биологическое действие ИЛ-2 а также его непосредственное влияние на опухолевые клетки исследовано в меньшей степени. В основном раскрыта роль ИЛ-2, как медиатора клеточных иммунных реакций, стимулятора пролиферации, дифференциации и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, моноцитов и естественных клеток-киллеров [6, 8, 10, 11, 12, 13, 15]. В этом аспекте представляют интерес данные Н. М. Бережной и соавт. [2, 3] о том, что кратковременная обработка ИЛ-2 в дозе 2,5 *ед/мл* биоптатов опухолей человека, культивируемых in vivo в диффуционных камерах, в зависимости от гистоструктуры опухолей и степени их злокачественности может оказывать разнонаправленное, как ингибирующее, так и активирующее, действие на опухолевый рост. По мнению указанных авторов, действие ИЛ-2 может быть объяснено влиянием его на иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие биоптат. При превалировании Т-киллеров и ЕКК препарат, активируя эти клоны, может усиливать противоопухолевую защиту, но в случае превалирования Т-супрессорных клеток их активация способна стимулировать опухолевый процесс.

Однако, на наш взгляд, нельзя исключить возможность непосредственного действия ИЛ-2 на нормальные и трансформированные клетки. Так, ИЛ-2 человека способен стимулировать пролиферацию и диф-

ференциацию гомологичных олигодендроцитов [7]. В этом аспекте целью работы явилось изучение сравнительного влияния рекомбинантных препаратов α_2-ИФН и ИК-2 человека на пролиферацию гомологичных клеток опухолевого происхождения, а также на клетки гетерологичной трансформированной линии мышей.

Материал и методы

Для изучения возможного антипролиферативного действия рекомбинантных ИЛ-2 и α_2-интерферона были использованы гомологичные линии клеток рака поджелудочной железы—СР, карциномы гортани—НЕр-2 и эритромиелолейкозная линия—К-562, а также линия клеток мышиного происхождения—L-929.

Об антипролиферативном действии препаратов судили по абсолютному числу выросших клеток на 3- и 6-й дни с момента посева.

В опытах использовали отечественный рекомбинантный α_2-ИФН человека—реаферон с активностью 1×10^6 МЕ. В клеточные культуры препарат вносили в концентрации 500 и 1000 МЕ/*мл*.

Рекомбинантный ИЛ-2 человека отечественного производства с активностью 1×10^4 МЕ был использован в концентрации 100 и 200 МЕ/*мл*.

Для выяснения возможной продукции ИФН в клетках линии СР под воздействием ИЛ-2 пробы культуральной жидкости, взятой спустя 24 и 48 часов после внесения препарата (100 и 200 МЕ/*мл*), титровали на той же клеточной линии в отношении вируса энцефаломиокардита мышей.

Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным рекомбинантный ИФН оказывал различное по выраженности антипролиферативное действие на клетки изученных линий. Разница в количестве выросших клеток в опыте (обработка ИФН), по сравнению с контролем, отмеченная уже к 3-му дню, была значительно более выражена к 6-му дню с момента внесения. Антипролиферативный (АП) эффект двух концентраций ИФН—500 и 1000 МЕ/*мл* в отношении всех трех культур был приблизительно одинаков. В табл. 1 представлены усредненные данные АП-действия ИФН.

Таблица 1

Антипролиферативный эффект рекомбинантного ИФН в клетках перевиваемых линий человека опухолевого происхождения

Культура клеток	Степень пролифер. (абсолютное число клеток в *млн/мл*)		t	P
	контроль	опыт		
К-562	1,125±0,025	0,55±0,029*)	26	<0,01
СР	0,68 ±0,04	0,32±0,05*)	14,4	<0,01
НЕр-2	0,37 ±0,09	0,21±0,05	0,8	>0,05

*—разница между опытом и контролем достоверна.

Как видно из табл. 1, к 6-му дню с момента посева ИФН вызывал достоверное угнетение клеточного деления в линиях культур К-562 и СР. Наименее чувствительной к АП эффекту ИФН оказалась клеточная культура НЕр-2, где ИФН не оказывал существенного действия на размножение клеток.

Возможное АП действие рекомбинантного ИЛ-2 было испытано в тех же культурах клеток при внесении 100 и 200 МЕ/*мл* как одновременно с посевом клеток, так и спустя 24 часа. АП эффект ИЛ-2 в обеих концентрациях был почти одинаков. Степень подавления клеточной пролиферации при внесении ИЛ-2 в момент посева или спустя 24 часа также была приблизительно равной. Определенный ингибирующий эффект ИЛ-2 был отмечен уже на 3-й день, но усиливался к 6-му дню.

Таблица 2

Влияние рекомбинантного ИЛ-2 на пролиферацию клеток 3 линий опухолевого происхождения

Культура клеток	Абсолют. число клеток в *млн/мл*		t	P
	контроль	опыт		
К-562	1,125±0,025	0,625±0,075*)	25	<0,01
СР	0,88 ±0,04	0,71 ±0,1	1,4	>0,05
НЕр-2	0,37 ±0,09	0,21 ±0,06	1,4	>0,05

* —разница между контролем и опытом статистически достоверна.

Данные о влиянии ИЛ-2 на пролиферацию клеток исследованных культур представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, степень ингибиции клеточного деления под действием ИЛ-2, по сравнению с ИФН, была значительно меньшей. Наибольший АП эффект ИЛ-2 выявлен в клетках культуры К-562, где разница между числом клеток в опыте и контроле была статистически достоверна, на клетках двух других культур ингибирующий эффект ИЛ-2 был менее существенен.

При комбинированном действии двух препаратов, внесенных в момент посева, нами отмечено достоверное угнетение пролиферации клеток всех трех испытанных культур (табл. 3).

Статистически достоверный АП эффект в клетках культуры НЕр-2, где ни ИФН, ни ИЛ-2 в отдельности не вызывали достоверного угнетения размножения этих клеток, свидетельствует об усилении действия препаратов при совместном их действии.

Таблица 3

Комбинированный АП эффект ИФН и ИЛ-2 на клетки перевиваемых опухолевых линий человека

Культура клеток	Абсолют. число клеток в *млн/мл*		t	P
	контроль	опыт		
К-562	1,125±0,025	0,5 ±0,1 *)	5,0	<0,01
СР	0,88 ±0,04	0,21±0,007*)	4,2	<0,02
НЕр-2	0,37 ±0,09	0,13±0,017*)	2,8	<0,05

* —разница между опытом и контролем достоверна.

Для выяснения возможной роли индуцированного ИЛ-2 интерферона пробы культуральной среды с СР титровали на наличие ИФН. Однако в клетках культуры СР обе испытанные концентрации ИЛ-2 не вызывали индукции ИФН, титр которого в пробах культуральной жидкости был ниже 10 *ед/мл*.

В отношении двух других культур, более чувствительных к АП эффекту изучаемых в отдельности препаратов, при комбинированном применении выявлено сохранение, но не усиление их ингибирующего действия.

Таким образом, на моделях использованных клеточных линий выявлены следующие закономерности действия рекомбинантных α_2-ИФН и ИЛ-2 человека на пролиферацию опухолевых клеток: α_2-ИФН оказывает более выраженный, по сравнению с ИЛ-2, АП эффект на клетки культур К-562, СР и НЕр-2.

Ингибирующий эффект ИФН и ИЛ-2 наиболее выражен в отношении культуры К-562 и наименее—в отношении клеток линии НЕр-2. При одновременном внесении ИФН и ИЛ-2 в клетки опухолевых линий усиливается АП действие на клетки наименее чувствительной к препаратам культуры НЕр-2, но не изменяется степень воздействия на пролиферацию клеток культур К-562 и СР. Обращает на себя внимание высокая чувствительность к препаратам клеток эритромиелолейкозной линии К-562, механизм которой нуждается в дальнейшем изучении. Полное отсутствие АП действия ИФН и ИЛ-2 на клетки гетерологичной культуры L-929 при изолированном и совместном применении этих препаратов свидетельствует об определенной видоспецифичности обоих лимфокинов.

ОНЦ им. В. А. Фанарджяна

Поступила 26/X 1989 г

Մ. Հ. Գասպարյան, Մ. Ա. Դադուրյան, Ն. Գ. Ջաղացպանյան, Լ. Ա. Քամալյան

ՌԵԿՈՄԲԻՆԱՆՏ L_2-ԻՆՏԵՐՖԵՐՈՆԻ ԵՎ ԻՆՏԵՐԼԵՅԿԻՆ—2 ԴԵՂԱՄԻՋՈՑՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԾԱԳՄԱՆ ԲՋՋԱՅԻՆ ԳԾԵՐԻ ՊՐՈԼԻՖԵՐԱՑԻԱՅԻ ՎՐԱ

Ուսումնասիրվել է հայրենական դեղամիջոցների ռեկոմբինանտ L$_2$*-ինտերֆերոնի և ինտերլեյկին-2-ի ազդեցությունը մարդու ուռուցքային գծերի բջիջների (*K—562, CP *և* IL—2*) պրոլիֆերացիայի վրա։ Դեղամիջոցների հակապրոլիֆերատիվ ազդեցությունը ավելի ցայտուն արտահայտվում է* K-562 *կուլտուրայի և ամենանվազագույն չափով* IL—2 *կուլտուրայի նկատմամբ։ Ինտերֆերոնի և ինտերլեյկինի միաժամանակյա ավելացումը ուժեղացնում է հակապրոլիֆերատիվ ազդեցությունը միայն* IL—2 *կուլտուրայի բջիջների նկատմամբ։*

L—929 *մկան բջջային կուլտուրայի նկատմամբ հակապրոլիֆերատիվ ազդեցության բացակայությունը վկայում է ինչպես ինտերֆերոնի, այնպես էլ ինտերլեյկինի տեսակային սպեցիֆիկության մասին։*

M. H. Gasparian, M. A. Dadourian, N. G. Djaghatspan'an, L. A. Kamalian

The Influence of Recombinant Preparations of α-Interferone and Interleukine-2 of Proliferation of Cell Lines of Tumoral Origin

The antiproliferative (AP) effect of interferone (IFN) and interleukine-2 (IL—2) on three tumor cell lines (K-562, CP-cancer pancreas, HEp-2) was studied.

The AP effect of IFN was found out to be statistically significant in respect to all three cell cultures. IL—2 inhibited significantly the growth of cell line K—562, but the degree of its action on the cell line CP and HEp—2 was relativiely low.

Combined treatment of cell line by IFN and IL-2 increased AP-action on the cell line HEp-2, but didn't influence the sensitivity of cell lines A652 and CP.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Амченкова А. М., Наровлянский А. Н., Покидышева Л. Н., Воронина Ф. В.* Вопр. вирусол., 1988, 2, с. 247. 2. *Бережная Н. М., Яхимович Л. В., Семенова-Кобзарь Р. И.* и др. Экспер. онкол., 1986, 8, 4, с. 51. 3. *Бережная Н. М., Горецкий Б. А., Яхимович Л. В.* и др. Иммунол., 1987, 6, с. 66. 4. *Воронина Ф. В., Шапошникова Г. М., Кузнецов В. П.* Вопр. вирусол., 1987, 3, с. 329. 5. *Сенюк О. Ф.* Автореф. канд. дис. М., 1989. 6. *Baccarini M., Lommann—Matthes M. L.* Immunobiology, 1986, 173, 2—5, 380. 7. *Benveniste E. N., Merill J. E.* Nature, 1986, 321, 6070, 610. 8. *Bhagyam R. C., Jarrett-Zacreh D., Terguson Z. G.* Immunology, 1988, 64, 4, 607. 9. *Fish E., Goldstein L., Alton K. e. a.* Antiviral Res., 1983, Abstr., 12, 59. 10. *Flad H. D., Pryina J., Ernst M. e. a.* Allergologia, 1988, 11, 9, 334. 11. *Jelinek D. F., Splawski J. B., Lipsky P. E.* Eur. J. Immunol., 1986, 16, 8, 925. 12. *Malkosky M., Loveland B., North M.* Nature, 1987, 325, 6101, 262. 13. *Wakagawa T., Nokagawa N., Ambrus J. L., Fauci A. S.* J. Immunol., 1988, 140, 2, 465—469. 14. *Yaar M., Karassik K., Schnipper L. E. e. a.* J Invest. Dermatol., 1985, 85, 1, 7[illegible]. 15. *Yamasaki T., Kikuchi H., Yamashita J. e. a.* Cancer. Res., 1988 48, 11, 2981.

УДК 616.33—002.44:616.831.41

А. Т. Татевосян, Т. А. Оганесян

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА И ГИПОТАЛАМУСЕ В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

В настоящее время установлено, что гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) обладает противоязвенным действием [2, 3, 4]. При этом ГАМК улучшает кровообращение и поглощение кислорода тканями стенок желудка, усиливает скорость включения радиоактивного лейцина в белки гипоталамуса и слизистой желудка, а также способствует уменьшению в них содержания свободной фракции гистамина [5, 6, 7]. Показано, что ГАМК в дозе 40—50 *мг/кг* путем воздействия на ЦНС через адренергические, холинергические, серотонинергические механизмы ингибирует возникновение экспериментальных язв желуд-