

УДК 612.102.94.017.1.014.46:615:276.4.

МЕДИЦИНА

А. М. Хзарджян, С. С. Гамбаров, Т. В. Агасарян, Л. Д. Мхеян,
 К. М. Маркосян, А. Ж. Ханданян, В. А. Шекоян

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 (4). 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 («Serva», 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 митомицином 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 митомицином (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 миелогида защищать от супрессорных воздействий клетки тест-культуры, как видно из таблицы,

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

Ереванский центр Всесоюзного научного центра хирургии

Ա. Մ. ԽԶԱՐԶՅԱՆ, Ս. Ս. ԳԱՄԲԱՐՈՎ, Բ. Վ. ԱՂԱՍԱՐՅԱՆ, Լ. Գ. ՄԽԵՅԱՆ,
Կ. Մ. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ, Ա. Ժ. ԽԱՆԴԱՆՅԱՆ, Վ. Ա. ՇԵԿՈՅԱՆ

Բ-ակտիվիների կողմից S-սուպրեսորների էֆեկտի չեզոքացման հարցի շուրջը

Հայտնաբերված է, որ բ-ակտիվիների կոնտրասուպրեսորային ազդեցութիւնը պայմանավորված է սուպրեսիայի թիրախ բջիջների պաշտպանութիւնը սուպրեսորային ազդեցութիւններից:

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, Н. 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).