

Высокая точность проведенных нами измерений (инструментальная погрешность равна $\pm 0,028 \text{ мкм}^2$) и отсутствие субъективных ошибок при использовании АТАМ позволили на сравнительно небольшом экспериментальном материале (измерена площадь и периметр 1000 ядер) менее трудоемким способом получить данные, статистическая достовер-

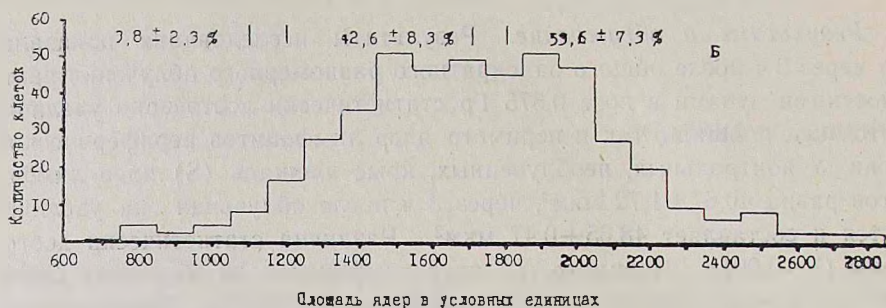
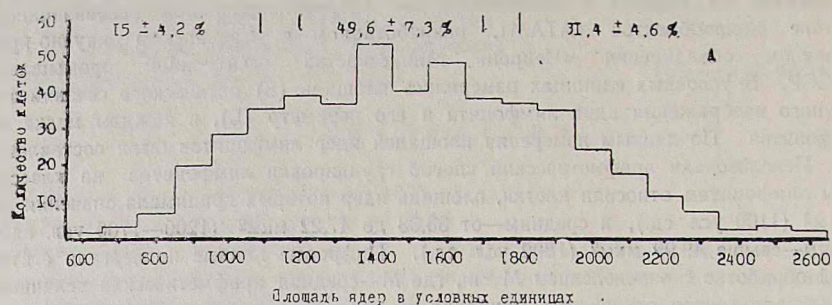


Рис. Кариограмма распределения площадей ядер лимфоцитов периферической крови необлученных (А) и облученных (Б) крыс.

ность которых на порядок выше, чем при применении общепринятого способа карิโอцитометрии. Указанные выше преимущества АТАМа и чувствительность метода анализа телевизионного изображения клеток дали возможность обнаружить изменения некоторых геометрических параметров ядра лимфоцита в ранний срок (через 3 ч) после рентгеновского облучения относительно небольшой дозой (0,875 Гр).

Сектор радиобиологии МЗ Армянской ССР

Поступило 12.IV 1983 г.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 7, 1983

УДК 612.017.1

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УПРОЩЕННАЯ МЕТОДИКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИММУННЫХ ЛИМФОЦИТОВ

А. В. МОВСЕСЯН, Н. П. МЕСРОПЯН, Э. Т. ГАСПАРЯН,
Р. Г. ПОГОСЯН, Ю. Т. АЛЕКСАНИАН

Ключевые слова: иммунные лимфоциты, цитотоксическое действие.

При изучении клеточных факторов иммунитета в условиях *in vitro* большую роль играет предложенный в 1961 г. метод цитотоксического действия иммунных лимфоцитов на культивируемые клетки-мишени [7]. В дальнейшем были разработаны различные модификации этого метода [3--6, 8], однако все они достаточно сложны, и постановка опытов с их использованием требует длительного времени. В литературе имеются также сведения о возможности обнаружения цитотоксического действия (ЦТД) после значительно более короткого периода инкубации лимфоцитов с клетками-мишенями [2].

Задачей настоящей работы являлась разработка упрощенной методики ЦТД иммунных лимфоцитов на клетки-мишени.

Материал и методика. При постановке опытов в качестве клеток-мишеней были использованы клетки линии МГ XXIIa [1], полученной из перевиваемой мышинной гепатомы XXIIa. Клетки выращивали на среде Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Для получения иммунных лимфоцитов крыс четырехкратно с недельным интервалом иммунизировали 50%-ной суспензией ткани печени мышей в растворе Хенкса. Суспензию вводили подкожно в каждую конечность по 0,5 мл. Лимфоциты от иммунизированных животных получали гомогенизацией селезенки на шестой день после последней инъекции. В качестве контроля использовали суспензию клеток селезенки интактных животных. Используемые в опытах лимфоциты и клетки-мишени трижды отмывали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 5 минут. При отмывании клеток и постановке опытов использовалась среда Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Соотношение клеток-мишеней и лимфоцитов составляло 1:50. В пробирки вносили по 0,1 мл клеток-мишеней (4×10^4 клеток), добавляя по 0,1 мл суспензии лимфоцитов подопытных или интактных животных (2×10^6 клеток). Общий объем реагирующей смеси—0,2 мл. В качестве технического контроля в том же объеме среды инкубировались клетки-мишени, а также лимфоциты. С целью улучшения контакта клеток пробирки центрифугировали при 500 об/мин в течение 5 мин, затем инкубировали при 37° в течение 4 часов. Жизнеспособность клеток определяли с помощью трипанового синего. После добавления красителя и тщательного пипетирования клеточного осадка производили подсчет живых и мертвых клеток в камере Горяева. ЦТД считается положительным при наличии не менее 50% мертвых клеток-мишеней.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты экспериментов, при инкубации клеток селезенки иммунизированных животных с клетками-мишенями количество мертвых клеток варьировало в пределах 65—84%, что свидетельствует о выраженном ЦТД иммунных лимфоцитов. В то же время лимфоциты интактных животных не действовали цитотоксически на клетки-мишени. Следовательно, для проявления цитотоксического эффекта иммунных лимфоцитов с регистрацией результатов с помощью подсчета живых и мертвых клеток оказалась достаточной их инкубация с клетками-мишенями в течение 4 часов. Полученные данные свидетельствуют также о том, что для изучения цитотоксического эффекта иммунных лимфоцитов, образующихся к ксено-трансплантату, в качестве клеток-мишеней могут быть использованы длительно культивируемые опухолевые клетки. Обнаружение ЦТД Т-киллеров в ксеногенной системе дает определенные основания для выяснения возможностей применения описанного способа регистрации киллерной активности лимфоцитов и при исследований иммунного ответа в аллогенной и сингенной системах. Поскольку при изучении ЦТД

лимфоцитов по упрощенной методике нет необходимости в применении радиоактивной метки и специального оборудования, а регистрация результатов проводится с помощью подсчета клеток, указанный способ целесообразно использовать при проведении экспериментов с небольшим числом проб.

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР

Поступило 29.X 1982 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Ю. Т., Басмаджян М. Б., Мовсисян К. С. и др. Бюлл. exper. биол., 5, 94, 1972.
2. Дризлих Т. И., Андреев А. В., Котомина И. Ф., Брондз Б. Д. Бюлл. exper. биол., 81, 3, 340, 1976.
3. Brondz B. D. Folia biol., 10, 164, 1964.
4. Haskill I. S. J. Nat. cancer inst., 51, 1581, 1973.
5. Hellström I., Hellström K. E., Bill A. H., Pierce G. E. Inter. j. cancer, 6, 172 1970.
6. Henney C. S. J. Immunol., 110, 73, 1973.
7. Rosenau W., Moon H. D. J. Nat. cancer inst., 27, 471, 1961.
8. Takasugi M., Klein E. Transplantation, 9, 219, 1970.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 7, 1983

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.017.1

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У МЫШЕЙ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

К. А. КАЗАРЯН, М. В. ТАТЬЯН, Н. Г. АКОПЯН, С. А. СИМОНЯН,
Ю. Т. АЛЕКСАНИЯН, Э. Т. ГАСПАРЯН

Ключевые слова: животные—опухоленосители, антителообразующие клетки, иммунологическая память, первичный иммунный ответ.

Изучение иммунореактивности у животных-опухоленосителей представляет значительный интерес. Однако имеющиеся в литературе данные, касающиеся этого вопроса, довольно противоречивы [2, 4, 7, 10, 11]

Задачей настоящей работы явилось изучение формирования первичного иммунного ответа, иммунологической памяти и розеткообразующих клеток у мышей-опухоленосителей в разные сроки роста опухоли.

Материал и методика. Опыты были проведены на 145-ти мышях-самцах линии СЗНА массой 23—25 г. Использовалась опухоль МГХХIIa, образовавшаяся у мышей