

и селезенки достигают в условиях антигенной стимуляции максимальной активности всех своих основных морфофункциональных признаков, проявляющихся также в контактах с окружающими клеточными элементами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов В. В., Воробьева Н. Ф. Тучные клетки. М., 1973.
2. Хэм А., Кормак Д. Гистология, 2, 88—97, 1983.
3. Romesch K., Pincus S. H., Rockin R. E. Cell. Immunol., 92, 2, 366—375, 1985.
4. Scata G., Oppenheim I. Immunobiology 163, 2—1, 125, 1982

Поступило 10.III 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 576.321.24

НАЧАЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КАК ФАКТОР, КОНТРОЛИРУЮЩИЙ ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК

Г. Г. ГАСПАРЯН, Р. М. ГРИГОРЯН

Институт зоологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что исходное число клеток в культурах является одним из факторов, определяющих течение процесса ее перехода в стационарную фазу роста. Полученные результаты не согласуются с общепринятой концепцией «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток».

Վայց է արվել, որ մշակութային բջիջների էրկոնային փոքր հանդիսացել է աճման ստացրեալ փուլի անցման պրոցեսի տեղգոթյունը որոշող գործոններից մեկը: Ստացված արդյունքները չեն համապատասխանում ընդունված կոնցեպցիային, որի համաձայն բջիջների պրոլիֆերացիայի ճնշումը կախված է նրանց խտությունից:

The initial cell number is one of the factors controlling the process of the transition of cultures into the stationary phase of growth. The results do not agree with the conventional conception of "density dependent inhibition of cell proliferation".

Клеточная культура—плотность—пролиферация.

Общепринятая концепция «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток» [10] прямо связывает падение скорости размножения клеток в процессе роста монослойной культуры и переход ее в стационарную фазу с нарастанием числа клеток. В рамках этой теории предполагается существование критического порога плотности клеточного слоя, так называемой плотности насыщения, по достижении которой в культуре прекращается накопление клеток и падает до минимальных значений скорость их размножения [11]. Сейчас этот термин употребляют скорее как рабочий и методический, чем в первоначальном концептуальном смысле, хотя бы потому, что плотность насыщения—величина переменная и зависит от происхождения клеток, применяемого субстрата, содержания сыворотки или факторов роста в среде и других условий. Имеются свидетельства недостаточной корректности приведенной дифференции термина. Так, неясны временная последователь-

ность событий, ведущих к стабилизации клеточных популяций, равно как их причинно-следственная связь; описаны процессы иные, чем клеточная пролиферация и ее блокирование, также участвующие в установлении плотности насыщения культуры. В целом рост культуры до плотности насыщения представляется ныне процессом более сложным, чем постулировалось в рассматриваемой концепции.

В настоящей работе проанализирована кинетика роста культур клеток куриного эмбриона, различающихся между собой по начальной концентрации клеток, с целью определить характер связи между темпом пролиферации клеток и изменениями плотности клеточной популяции.

Материал и методика. Первичную культуру клеток 10-дневного куриного эмбриона содержали в среде ВМЕ с гентамином (Sigma), 10% сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиками. Через 3 сут после посева культуру трипсинозировали и пересеивали в среде того же состава в ленинградские флаконы с кусочками порового стекла на дне. Для посева использовали различные концентрации клеток, от $1,0 \times 10^6$ до $0,12 \times 10^6$ на флакон. Клетки метили ^3H -тимидином каждые сутки на всем протяжении опыта (до 6 сут, $0,1$ мКи/мл) либо каждые 4 ч в течение 2—3 суток роста культуры ($1,0$ мКи/мл). Готовили радиоавтографические препараты (по 4—5 на срок), которые окрашивали красителем Гимза, определяли индекс меченых клеток (из 1000 клеток) и плотность клеточного слоя по числу клеток в поле зрения микроскопа (среднее из 50 полей на срок, площадь поля зрения $0,015$ мм²).

Результаты и обсуждение. Число клеток, синтезирующих ДНК, велико в 1—2 сутки культуры во всех вариантах опыта (рис. 1) независимо от величины инокулы и плотности клеточного слоя в первые сутки (рис. 2). Аналогичное наблюдение было сделано в работе [9]. В ней автор рассматривал активное размножение клеток C_6 глиомы крысы, происходящее в ранние сроки культивирования клеток независимо от их посевной плотности, как осуществление заданной программы клеточного размножения, не чувствительной к действию регуляторных механизмов. Не входя в обсуждение этой гипотезы, скажем, что в нашем случае активацию синтеза ДНК в пересеянных клетках можно объяснить стимулирующим действием трипсина [4, 8]. В дальнейшем происходит многократно описанное близкое к монотонному падению индекса меченых клеток, особенно выраженное в культуре с наибольшей необходимой плотностью (рис. 1 и 3). Спустя 6 сут после посева снижение числа синтезирующих ДНК клеток до уровня, характерного для стационарной культуры, обнаруживается только в культуре с максимальной плотностью посева, тогда как в остальных случаях пролиферативная активность клеток все еще довольно высока.

В культурах с разной начальной плотностью возрастание числа клеток происходит по-разному. При максимальной величине инокулы (рис. 2 А) плотность клеточного слоя сохраняется постоянной с 1 по 4 сут и увеличивается только на 6 сут примерно на 50%. В вариантах с промежуточными концентрациями посеянных клеток (рис. 2 Б и В) их число возрастает к 4 сут (соответственно на 50 и 100%) и более не увеличивается. При редком посеве (рис. 2 Г) не происходит прироста плотности клеточного слоя, что согласуется с литературными след-

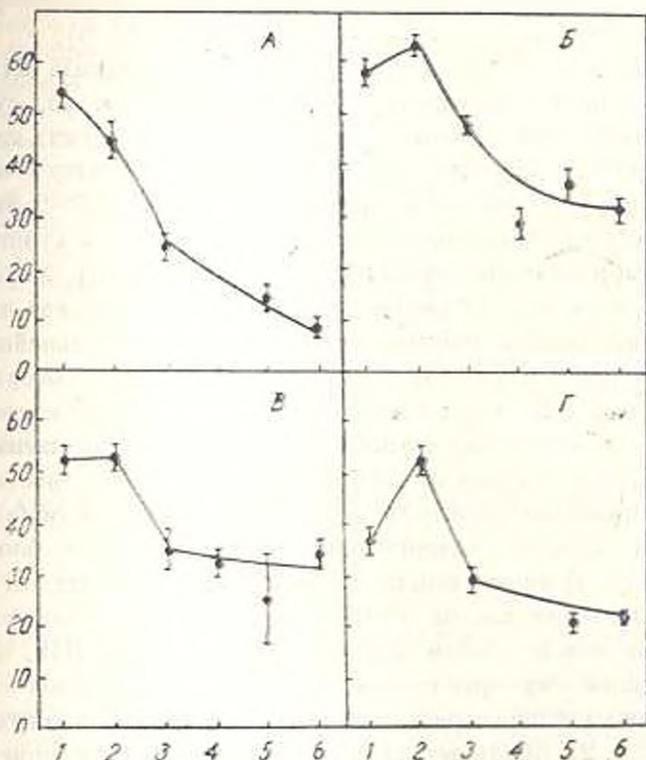


Рис. 1. Динамика числа клеток, снижающих ДНК, в процессе роста культур, посеянных с различной плотностью (А— $1,0 \times 10^6$; Б— $0,5 \times 10^6$; В— $0,25 \times 10^6$ и Г— $0,12 \times 10^6$ клеток на флакон). По оси абсцисс—время после посева клеток, сут; по оси ординат—индекс меченых клеток в условиях 1-суточной инкубации клеток с ^3H -тимидином, %.

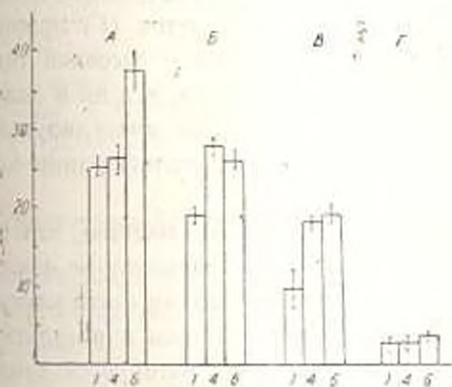


Рис. 2.

Изменяется плотности клеточного слоя в процессе роста культур, посеянных с различной плотностью (обозначения вариантов опыта те же, что на рис. 1). По оси абсцисс—время после посева клеток, сут; по оси ординат—число клеток в поле зрения микроскопа.

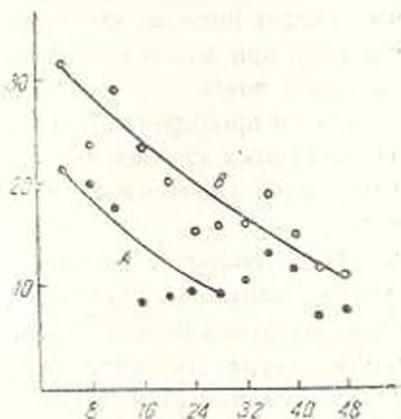


Рис. 3.

Снижение пролиферативной активности клеток в процессе роста культур на 2—3 сут после посева с различной плотностью (обозначения вариантов опыта те же, что на рис. 1). По оси абсцисс—время роста культуры начиная со вторых сут, ч; по оси ординат—индекс меченых клеток после 4-часовой инкубации клеток с ^3H -тимидином, %.

ниями о неспособности диплоидных клеток расти в сильно разреженной культуре в обычных условиях культивирования [3, 6].

Если бы все клетки, вступившие в период синтеза ДНК за время опыта, разделились и сохранились в клеточном слое, то, судя по числу клеток, включивших меченый предшественник, плотность слоя возросла бы многократно. На самом деле этого не происходит, и число клеток, как было сказано, увеличивается не более чем в 1,5—2 раза. Аналогичное явление наблюдали ранее в культурах клеток куриного эмбриона [7] и эмбриональных фибробластов человека [5]. Указанное несоответствие, возможно, объясняется тем, что значительная часть клеток, в которых произошла инициация синтеза ДНК, в дальнейшем отторгается от субстрата и погибает. В пользу сказанного говорят результаты работ [1, 2, 12], в которых показана роль гибели клеток в регуляции плотности клеточных культур. В работах [1, 2], выполненных на культуре клеток куриного эмбриона, было в частности обнаружено, что разрежение культуры происходит главным образом за счет элиминации клеток, завершивших синтез ДНК и блокированных в периоде G_2 . В нашем опыте, по-видимому, протекает тот же процесс селективной гибели клеток в G_2 -периоде, на что косвенно указывает расхождение между числом клеток, синтезирующих ДНК, и значительно уступающим ему прибавлением общего числа клеток в культуре.

При сопоставлении результатов, полученных в разных вариантах опыта (рис. 1, 2), обращает на себя внимание несоответствие хронологической последовательности основных событий, ведущих к вступлению культуры в стационарную фазу роста. Действительно, при максимальной плотности посева (вариант А) падение пролиферативной активности клеток предшествует увеличению их числа; при промежуточных величинах инокулы (Б и В) стабилизация плотности клеточного слоя происходит прежде, чем прекращается активная пролиферация клеток; наконец, при минимальной посевной концентрации клеток (Г) прирост их числа вовсе не имеет места, несмотря на довольно высокий темп клеточной пролиферации в этой культуре. Подчеркнем, что ни в одном из описанных случаев не выявляются закономерности, постулируемые концепцией «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток».

Полученные результаты позволяют прийти к заключению, что регуляция плотности клеточных популяций *in vitro* происходит не исключительно путем изменения темпа клеточной пролиферации и что клеточная культура достигает плотности насыщения не только в результате размножения клеток. Процесс роста культуры контролируется также рядом других факторов, в том числе такими, как гибель клеток, возможно, после их задержки в G_2 -периоде, и начальная плотность клеточной популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаспарян Г. Г., Закарян Г. Г., Терских В. В., Масляк Ю. А. Цитология, 23, 654—659, 1981.
2. Закарян Г. Г., Гаспарян Г. Г., Масляк Ю. А. Цитология, 25, 47—52, 1983.

3. Beng H., Graf T. *Exper. Cell Res.*, 167, 417—428, 1977.
4. Carney D. H., Glona K. C., Cunningham D. D. J. *Cell. Physiol.*, 95, 13—22, 1978.
5. Mucleiru-Coelho A. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 127, 745—552, 1967.
6. Rein A., Rubin H. *Exper. Cell Res.*, 49, 666—678, 1968.
7. Rubin H. *Ciba Found. Symp. on Growth Control in Cell Cultures*. Churchill Livingstone, London, 127—149, 1971.
8. Sefton B. M., Pibin H. *Nature*, 227, 543—544, 1970.
9. Skehan P. *Exper. Cell Res.*, 97, 184—192, 1976.
10. Stocker M. G. P., Rubin H. *Nature*, 215, 171—172, 1977.
11. Thrash C. R., Cunningham D. D. J. *Cell. Physiol.*, 86, 301—310, 1975.
12. van der Bosch J. *Exper. Cell Res.*, 117, 111—119, 1978.

Получено 24.11.1987 г.

АРХИТЕКТОНИКА КАМЫША ОЗЕРНОГО *SCIRPUS LACUSTRIS* L.

Г. М. САРКИСЯН, И. И. ХУРШУДЯН

Армянский сельскохозяйственный институт, кафедра ботаники, Ереван

Камыш озерный рассматривается как инженерная конструкция, в частности как сосуд, поддерживающий свою устойчивость за счет гидростатического (тургорного) давления. Сделана попытка определить тургорное давление косвенным путем. Результаты проведенных исследований могут быть полезны при проектировании пневматических конструкций.

Անյին ճյուղաբույսի կամ քիչ քանակությամբ կոնստրուկցիա, մասնավորապես որպես իր կառուցվածքը պահպանող սնուցիչ խիզորոտարիկ (տուրգորային) ճնշման ֆորմ է կատարված անուղղակիորեն որպես տուրգորային ճնշումը: Անցկապված հետազոտությունների արդյունքները կարող են օգտակար լինել պնեմատիկ կոնստրուկցիաների ներդրման համար:

The lake reed is examined as an engineering construction, in particular as a vessel, supporting its stability due to hydrostatical (turgorial) pressure. It has been tried to define the turgorial pressure in an indirect way. The results of carried researches can be useful for projecting of pneumatic constructions.

Камыш озерный—архитектоника—тургорное давление.

В последние годы возрос интерес к изучению строения растений как инженерных конструкций, поскольку благодаря длительной эволюции они представляют собой весьма рациональные «конструкции». Ряд биологических исследований [1, 2, 4], посвященных изучению архитектоники растений, позволяет использовать некоторые принципы их строения при решении конкретных инженерных задач. Изучением анатомо-морфологических особенностей растений с точки зрения строительной механики занимался выдающийся советский ботаник Раздорский [3].

В настоящем исследовании представлены результаты изучения строительно-механических принципов в строении стебля камыша озерного, обеспечивающих его устойчивость и прочность под механическими нагрузками внешней среды (ветер, атмосферные осадки) и собствен-