

УДК 612.6.02.017+617-089.843+611-018-087.894

Т. С. Хачатурова, Б. А. Езданян, Ж. А. Оганисян

О РОСТЕ ХОМЯЧКОВОЙ ЭМБРИО-
НАЛЬНОЙ И ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ
МОНОСЛОЙНЫХ КУЛЬТУР

Первичные культуры хомячковой эмбриональной и почечной ткани характеризуются хорошим первоначальным ростом, быстрым формированием монослоя, однако при субкультивировании число пассажей ограничено. Обычно удавалось провести от 3 до 4 субпассажей.

Метод однослойных клеточных культур нашел широкое применение в разнообразных исследованиях по изучению малигнизации клеток.

Использование армянских хомячков (*Cricetulus migratorius*) как материал для получения клеточных культур начато в 1965 г. Нормальные клеточные культуры армянских хомячков не удавалось поддерживать в течение более 3-4 генераций /3, 4/, в то время как трансформированные культуры удавалось поддерживать в течение 50 и более генераций /5/. Тщательное изучение этой клеточной культуры вышеуказанными авторами и сравнение ее с другими клеточными системами — человеческой, мышинной, крысиной, хомячковой (сирийские и китайские хомячки) — обнаружило особенность, свойственную этой культуре, — стабильность диплоидных комплекментов в течение многих перевиваемых генераций *in vitro* в трансформированных культурах. На основании этого признака армянский хомячок занимает как бы промежуточное положение между сирийским и китайским хомячками.

По данным других авторов, занимавшихся культивированием нормальных фибробластов армянского хомячка /1, 2/, рост их удалось поддержать в течение месяца, после чего клетки дегенерировали. Несмотря на многочисленные попытки, культивировать их в течение более длительного времени не удавалось, тогда как трансформированная культура прошла более 150 пассажей.

Нами предпринята попытка культивирования нормальных фибробластов и почечных клеток армянского хомячка с целью изучения вопросов неопластической трансформации клеток, особенно вирусного канцерогенеза.

Исходным материалом для получения первично трипсинизированных

культур служили эмбрионы хомячков, взятые в последние дни беременности (16–17-й день) и почки новорожденных и взрослых животных. Клеточную взвесь засеивали на питательные среды (среда 199, среда Игла, 0,5%-ный гидролизат лактальбумина) с добавлением бычьей сыворотки 10–15% и антибиотиков: пенициллина (100 ед./мл среды) и стрептомицина (50 мкг/мл среды). Среда меняли каждые 5–6 дней. Пересевы клеток производили в зависимости от интенсивности роста клеток, в среднем один раз в 15–20 дней. Клетки отслаивали от стекла 0,25%-ным трипсином или смесью трипсина с версеном. Материал засеивался в сосуды различной емкости.

Первичные культуры нормальных фибробластов путем пересевов поддерживались в течение 1,5–3 месяцев, культуры же почечных клеток удалось поддержать только в течение одного месяца. В течение 6 месяцев получили 7 первичных культур хомячковой эмбриональной и 3 первичные культуры хомячковой почечной ткани.

Морфологические особенности монослойных культур изучались просматриванием их микроскопически и фотографированием живых культур, а также путем приготовления постоянных препаратов.

После эксплантации хомячковой эмбриональной ткани уже в первые сутки наблюдалось частичное прикрепление клеток к стеклу. На вторые сутки клетки образовывали хорошо видимую крупнопетлистую сеть (рис. 1а). На 3–4-е сутки отмечалось равномерное развитие мо-



Рис. 1 а. Нормальные фибробласты хомячковой эмбриональной ткани на 2-е сутки после засева. Об. 9, ок. 15.

б. Хомячковая эмбриональная ткань на 3–4-е сутки после засева. Сформированный монослой. Об. 9, ок. 12,5.

нослоя, состоящего из продолговатых, ориентированных в одном направлении клеток (рис. 1б). При засеивании клеток в концентрации 300 000 – 500 000 клеток в 1 мл образование монослоя шло быстрее, и уже на 3–4-е сутки мы имели компактный монослой (рис. 2а).

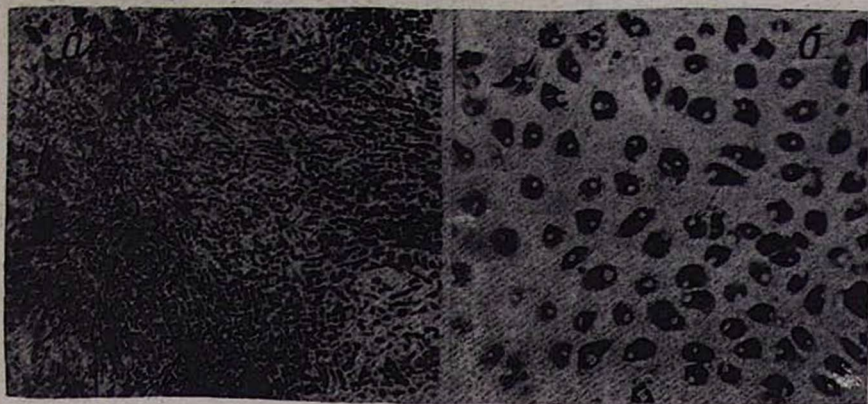


Рис. 2а. Хомячковая эмбриональная ткань,
Компактный монослой. Об. 2, ок. 12,5.
б. Клетки хомячковой почечной ткани. Об. 9,
ок. 15.

При засеве клеток в сравнительно низких концентрациях 150 000 – 200 000 клеток в 1 мл наблюдалось более позднее образование компактного монослоя (5–8-е сутки).

В клеточном составе, образующем сплошной монослой хомячковой эмбриональной ткани, преобладали фибробластные клетки, но редко встречались также отдельно лежащие крупные клетки округлой формы с крупным ядром и зернистой протоплазмой. Иногда встречались мелкие полигональные клетки. Ядра фибробластов имели круглую или овальную форму с одним или несколькими ядрышками. Границы клеток выявлялись нечетко.

После засева хомячковой почечной ткани в первые двое суток (24–48 часов) преобладал рост фибробластных клеток, однако фибробласты скоро начали вытесняться эпителиоидными клетками, образующими отдельные участки роста, клеточные скопления, которыми быстро зарастала поверхность сосуда. После пересева наблюдался эпителиоподобный тип роста. Клеточные скопления состояли из полигональных, вытянутых клеток, среди которых наблюдались клетки веретенообразной, серповидной формы с темной зернистой протоплазмой и большим круглым ядром с хорошо видимым ядрышком (рис. 2б).

После нескольких пересевов (3–4) клетки начинали дегенерировать: большая часть клеток отслаивалась от стекла, клеточные пласты распадались, клетки подвергались дистрофическим изменениям и погибали путем зернистого распада.

Первичные культуры нормальных фибробластов и почечных клеток армянского хомячка характеризуются ограниченным сроком роста в условиях монослойных культур, и нам пока не удалось получить длительно пассируемые нормальные культуры.

ՀԱՄԱՍՏԵՐԻԿԻ ՍԱՎՄԱՅԻՆ ԵՎ ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԱՃԸ,
ՄՈՆՈՇԵՐՏԱՅԻՆ ԿՈՒՆՏՈՒՐԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Տարբեր կանցքերով գործոնների ազդեցության ներքո, հայկական գորշ համատերիկի բջիջների կուլտուրայի տրանսֆորմացիան ուսումնասիրելու նպատակով հեղինակները ընձեռնել են համատերիկի սաղմնային և երիկամային հյուսվածքի կուլտիվացիա մոնոշերտային կուլտուրայի պայմաններում: Վեց ամսվա ընթացքում ստացվել է համատերիկի յոթ առաջնային սաղմնային կուլտուրա և երեք առաջնային երիկամային հյուսվածքի կուլտուրա:

Հայկական համատերիկի նորմալ ֆիբրոբլաստների և երիկամային բջիջների առաջնային կուլտուրաները աչքի են ընկնում բջիջների լավ աճով և մոնոշերտի արագ առաջացումով, սակայն նրանք բնորոշվում են աճի սահմանափակ ժամկետով (կարճատև ժամկետային կուլտուրաներ) և երկարատև կայուն կուլտիվացվող բջիջային գծերի ստացման դժվարությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мартиросян Д.М., Наджарян Н.У. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1971, XX1, 5, стр.95.
2. Мартиросян Д.М., Наджарян Н.У. Материалы III научн конф. Института экспериментальной биологии АН Арм.ССР, Ереван, 1970, стр.167.
3. Yerganian G. and Papoyan S. : Hereditas, 52, 1965,
4. Yerganian G. Recent Results in Cancer Res., Springer-verlag, New-York, 1966, 112.
5. Yerganian G., Cho S., Ho T. and Nell M. Genetic variation in somatic cells., Academia, Prague, 1966, 349.