

## ИНДУКЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ НОРМАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЫШИНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ ЛИНИИ L929, УСТОЙЧИВЫХ К БРОМИСТОМУ ЭТИДИУ

Т. К. ДАВТЯН\*, Г. И. БЛИНОВА\*\*, Ю. Т. АЛЕКСАНИАН\*, Т. Н. ИГНАТОВА\*\*

НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. А. Б. Алексаняна  
Минздрава Республики Армения, Ереван\*; Институт цитологии  
АН СССР, Ленинград\*\*

*Пролиферация лимфоцитов—мышинные фибробласты—межвидовые гибриды.*

Проблема получения гибридом, продуцирующих человеческие моноклональные антитела, является одной из важнейших в современной иммунологии и клеточной биологии [5, 10]. В настоящее время для получения таких гибридом используются клоны антигенспецифических лимфобластоидных клеток человека, трансформированных ВЭБ [6, 8]. ВЭБ—трансформация дает возможность из общей популяции лимфоидных клеток отселектировать В-лимфоциты, обладающие способностью к высокой и неограниченной пролиферативной активности в культуре и продукции специфических антител. Однако следует отметить также определенные недостатки, присущие данному подходу: не все В-лимфоциты, предшественники антителопродуцентов, трансформируются в лимфобластоидные клетки, характеризующиеся потенцией высокой и неограниченной пролиферации; при трансформации ВЭБ могут активироваться аутореактивные В-лимфоциты; продукция иммуноглобулинов человека лимфобластоидными клетками нестабильна и находится на довольно низком уровне [9—11]. Поэтому весьма важной задачей является выяснение возможности использования для получения гибридом таких клонов иммунокомпетентных клеток человека, которые образовались не в результате вирусной трансформации. В этом аспекте представляют значительный интерес данные о том, что кондиционированные среды клеточных линий фибробластов грызунов, отселектированных по росту в безсывороточных средах и (или) по устойчивости к некоторым ядам, стимулируют рост клеток костного мозга и гибридом [2, 4].

Задачей настоящей работы явилось изучение возможности индукции кратковременной (1,5—2 месяца) пролиферации нормальных ЛПКЧ в условиях совместного культивирования (кокультивирования) с клетками линии L929, устойчивыми к бромистому этидию.

*Материал и методика.* При проведении исследований использовали трансформированные мышинные фибробласты линии L929 и устойчивые к различным концентрациям бромистого этидия клоны этой культуры [3]. Клеточные культуры были любезно предоставлены канд. биол. наук К. В. Сальниковым (Институт цитологии АН

Сокращения: ВЭБ—вирус Эпштейн-Барр, МЛ—митоген лаконоса, ЛПКЧ—лимфоциты периферической крови человека.

СССР). ЛПКЧ получали из крови здоровых доноров центрифугированием в градиенте плотности Ficoll-раque (Uppsala, Sweden). Клетки в концентрации  $3,5 \cdot 10^6/\text{мл}$  культивировали в среде RPMI-1640, содержащей  $50 \mu\text{M}$  2-меркаптоэтанола и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Стимулированные МЛ и нестимулированные ЛПКЧ использовали в экспериментах по кокультивированию с клеточными культурами L929. Гибридизацию соматических клеток в культуре проводили по описанной в литературе методике [7]. В качестве одного из партнеров использовали полученную в лаборатории генетических механизмов дифференцировки и малигнизации клеток Ин-та цитологии АН СССР линию клеток SPEBR-5 [1]. Цитотоксическую активность лимфоцитов человека определяли с помощью калориметрического метода. Для обнаружения продукции иммуноглобулинов человека был использован иммуноферментный анализ.

*Результаты и обсуждение.* Как показали результаты проведенных исследований, при кокультивировании ЛПКЧ, стимулированными МЛ, как с клетками L929, так и с его клоном, устойчивым к  $50 \text{ мкг/мл}$  бромистого этидия, наблюдалась пролиферация лимфоцитов человека. Наиболее продолжительная пролиферация ЛПКЧ (до 2 месяцев) наблюдалась при кокультивировании лимфоцитов человека с клоновой культурой, устойчивой к бромистому этидию. Кокультивирование ЛПКЧ, не стимулированных МЛ, с обеими линиями мышинных фибробластов не сопровождалось пролиферацией лимфоцитов человека.

В экспериментах по изучению цитотоксической активности ЛПКЧ были использованы как клетки линии L929, так и ее мутантные клоны, соответственно устойчивые к 3 и  $50 \text{ мкг/мл}$  бромистого этидия. Цитотоксический эффект ЛПКЧ, стимулированных МЛ, в отношении всех использованных клеток-мишеней характеризовался весьма выраженной интенсивностью.

В экспериментах по клонированию пролиферирующих ЛПКЧ, продуцирующих иммуноглобулины человека и факторы, сходные с факторами некроза опухолей, использовали систему кокультивирования лимфоцитов с клоновой культурой L929, устойчивой к  $50 \text{ мкг/мл}$  бромистого этидия. Выделенные клоны пролиферирующих ЛПКЧ были использованы в экспериментах по получению межвидовых гибридов соматических клеток в культуре с применением в качестве одного из партнеров клеток мышинной меломы линии SPEBR-5. Для выделения гибридов использовали селективную среду ГАТ, содержащую  $1 \text{ мкг/мл}$  бромистого этидия. Нами были получены 20 межвидовых гибридных клонов, среди которых 5 клонов идентифицированы как продуценты иммуноглобулинов G человека. В настоящее время нами проводится работа по изучению хромосомного состава гибридных клонов и продукции ими факторов некроза опухолей.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать заключение о возможности индукции кратковременной (1,5—2 месяца) пролиферации нормальных лимфоцитов человека при культивировании с мышинными фибробластами, устойчивыми к бромистому этидию. Следовательно, для получения гибридом, продуцирующих иммуноглобулины человека, можно использовать клоны иммунокомпетентных клеток, образовавшиеся не в результате вирусной трансформации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Березкина Е. Б. Автореф. канд. дисс., 1990.
2. Кожухарова И. В. и др. Цитология, 29, 9, 1106—1107, 1987.
3. Салоников К. В., Пашкина Ю. В. Цитология, 31, 11, 1369—1376, 1989.
4. Гарунца М. В. и др. Цитология, 29, 9, 1087, 1987.
5. Voggebaeck C. A. J. Immunol. Today, 9, 11, 355—359, 1988.
6. Sampling B. G., Cole S. P. C., Kozbor D. et al. Monoclon. Antibody Prod Techn. and Appl., New York, Basel, 3, 1987.
7. Jhan S., Granov R. et al. J. Immunol. Meth., 106, 257—265, 1988.
8. Kozbor D., Roder J. C. Eur. J. Immunol., 14, 23, 1984.
9. Kozbor D., Trippitt P., Roder J. C. J. Immunol., 133, 3001, 1984.
10. Thompson K. M. Immunol. Today, 9, 113, 1988.
11. Thompson K. M., Melamed H. D., Eagle K. et al. Immunol., 58, 157, 1986.

Биолог. журн. Армени, № 2 (44), 1991

УДК 611.018.36

### СОСТОЯНИЕ СОСУДИСТОГО РУСЛА ПЛЕВРЫ ПРИ ПНЕВМОНИИ

Л. А. МАНУКЯН, Л. А. ПЕТРОСЯН, Г. П. КЯЛЯН

Ереванский медицинский институт, кафедра анатомии

*Плевра—сосудистое русло—пневмония.*

В последнее время в развитых странах значительно возросло число неспецифических заболеваний легких. Наряду с резким снижением больных туберкулезом наблюдается повышение процента заболеваемости органов дыхания. Выраженное снижение иммунологической реактивности организма привело к учащению плевритов. Причем Лигт с соавт. [9], проанализировав случаи заболевания плевритом, отмечает, что наибольший процент поражения плевры связан с наличием опухоли; особенно велика роль аллергического фактора [1, 3, 6, 7]. В большинстве случаев воспаление плевры связывается с поражением различных органов и систем и чаще органов средостения [2, 4, 5, 8, 9].

Целью исследования являлось изучение изменений, возникающих в микроциркуляторном русле плевры при пневмонии. Тщательный просмотр литературы по данному вопросу не дал нам четкого представления о состоянии внутриорганного сосудистого русла плевры при этом заболевании.

Методом безыглекционного выявления сосудов по Куприянову [2] нами были изучены сосуды плевры, фрагменты которой были взяты от 14 трупов людей, умерших от пневмонии.

Выявлена гиперергическая реакция плевры (в плевральной полости находился экссудат). Первые явления при воспалении плевры—гиперемия сосудов, изменение их проницаемости. Наблюдается образование толстых фибриноидных отложений. Мезотелий слущивается, иногда имеет место его десквамация.