

УДК 612.017.1.014.46:615.357.438—06:612.455

В. Ф. Чеботарев

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТИМОЗИНА НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ У АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

Полученные в течение последних лет данные, характеризующие механизм действия гормонов тимуса, указывают на перспективность их применения в клинике и эксперименте для воздействия на иммунологическую компетентность организма. Обнаружено, что эффект действия препаратов тимуса уменьшается после завершения периода неонатального развития животных, то есть после окончательного формирования периферических лимфоидных органов [11]. В этой связи особого внимания заслуживают методы повышения чувствительности лимфоидной ткани к гормонам тимуса.

Мы предполагаем, что у иммунологически зрелых животных снижение эффекта эндогенного тимозина обусловлено не только насыщением организма эндогенными гормонами тимуса, но и влиянием на лимфоидную клетку гормонов-антагонистов. По отношению к тимозину роль гормонов-антагонистов выполняют глюкокортикоиды [3].

Мы изучали возможности повышения чувствительности лимфоидной ткани к тимозину посредством снижения или полной элиминации глюкокортикоидов.

Методика исследований

Опыты проведены на 260 морских свинках и 564 линейных мышках. Помимо ложнопериоперированных, исследовались адrenaлэктомированные, тимэктомированные и тимадреналэктомированные животные.

Для изучения зависимости динамики иммунологических реакций от уровня глюкокортикоидов адrenaлэктомированным морским свинкам — животным, которые не имеют дополнительных участков ткани, синтезирующих кортикостероиды, вводили заместительные дозы гидрокортизона [1]. Тимозин получали по методике Гольдштейна [7]. Третью фракцию препарата вводили в течение трех суток. Морским свинкам инъекции тимозина делали накануне, в день и на следующие сутки после иммунизации соответственно в дозах 20, 15 и 15 мг. Ежедневная доза для мышей составляла 8 мг на животное. Морских свинок иммунизировали антигенами эритроцитов барана в соответствии с разработанной нами схемой [2].

Количество антителообразующих клеток (АОК) определяли микрометодом в жидкой среде [5]. Для подсчета иммунных *T* и *B* розеткообразующих клеток (*T*-РОК, *B*-РОК) применяли метод Хаскилл [8]. В качестве показателей реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) использовали относительный вес и индекс селезенки [10] на седьмые сутки после введения $5 \cdot 10^6$ лимфоидных клеток селезенки или ядерных клеток костного мозга доноров СВА реципиентам F_1 (СВА $\times$ С57BL).

Показателями клеточного иммунитета у морских свинок была интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и содержание *T* клеток (*T*-РОК), которые реагируют с антигенами эритроцитов барана, использованными для иммунизации. Напряженность ГЗТ *in vivo* определяли по объему инфильтратов реакции кожи, а *in vitro* — с помощью реакции специфического торможения расщепления макрофагов [6].

Результаты исследований

В начальный период раз-
верно повышает показатели
индекса расщепления обра-
Это повышение кратковремен-
ГЗТ у адrenaлэктомированных

На пятые сутки опыта тим-
эктомированных животных по-
также вводили тимозин. Высо-
ных животных после введения
риода исследования. Даже на
затели ГЗТ в этой группе до-
вотных, которым вводили тим-
под влиянием тимозина повы-
специфически реагируют с
ции ($p < 0,05$).

Обусловленные адrenaл-
акций исчезают после вве-
дозах.

Через 16—17 нед после
повышает чувствительность
клеток селезенки адrenaлэк-
РТПХ возрастает (табл. 2).
костного мозга в этой реак-
рует способность к индукции
селезенки.

Влияние тимозина на у-
фично, поскольку препарат
методике, что и тимозин, не
лей РТПХ.

Таким образом, чувств-
к тимозину повышается и у
ткани, синтезирующей кор-
фекта тимозина достаточно
глюкокортикоидов.

На пятые сутки после и-
гемолитины (АОК), под в-
В-РОК, наоборот — увелич-
к розеткообразованию умень-
и появления у них способно-
можно считать предшестве-
них этапах иммунного про-
ренциации предшественник
зирующие антитела, но уже
обходимых для образования

На десятые сутки посл-
вает содержание и В-РОК
влияние тимозина на клет-
лее интенсивно, чем у неоп-
личение числа АОК происх-

В отличие от клеток, о-
клеток, синтезирующих ау-
янно уменьшается. Угнетая
усиливается при удалении

Результаты исследований и их обсуждение

В начальный период развития ГЗТ (табл. 1) адrenaлэктомия достоверно повышает показатели этой реакции *in vitro* и *in vivo* (величина индекса расщепления обратно пропорциональна интенсивности ГЗТ). Это повышение кратковременно, и на десятые сутки опыта показатели ГЗТ у адrenaлэктомизированных животных снижаются ($p < 0,05$).

На пятые сутки опыта тимозин повышает показатели ГЗТ у адrenaлэктомизированных животных по сравнению с неоперированными, которым также вводили тимозин. Высокие показатели ГЗТ у адrenaлэктомизированных животных после введения тимозина сохраняются в течение всего периода исследования. Даже на 18 сут после первичной иммунизации показатели ГЗТ в этой группе достоверно выше, чем у неоперированных животных, которым вводили тимозин. У адrenaлэктомизированных животных под влиянием тимозина повышается также количество *T* клеток, которые специфически реагируют с антигеном, использованным для иммунизации ($p < 0,05$).

Обусловленные адrenaлэктомией изменения иммунологических реакций исчезают после введения гидрокортизона в заместительных дозах.

Через 16—17 нед после тимэктомии удаление надпочечников также повышает чувствительность морских свинок к тимозину. Способность клеток селезенки адrenaлэктомизированных мышей СВА участвовать в РТПХ возрастает (табл. 2). В то же время активность ядерных клеток костного мозга в этой реакции снижается. Введение тимозина стимулирует способность к индукции РТПХ у лимфоцитов костного мозга и селезенки.

Влияние тимозина на участие лимфоидных клеток в РТПХ специфично, поскольку препараты печени и селезенки, полученные по той же методике, что и тимозин, не вызывали достоверных изменений показателей РТПХ.

Таким образом, чувствительность реакций клеточного иммунитета к тимозину повышается и у мышей, имеющих дополнительные участки ткани, синтезирующей кортикостероиды. Очевидно, для увеличения эффекта тимозина достаточно кратковременного снижения содержания глюкокортикоидов.

На пятые сутки после иммунизации количество клеток, образующих гемолизины (АОК), под влиянием тимозина уменьшается, количество В-РОК, наоборот — увеличивается (табл. 3). Известно, что способность к розеткообразованию уменьшается в процессе созревания *B* лимфоцитов и появления у них способности к выделению антител [9]. Поэтому В-РОК можно считать предшественниками АОК. Возможно, тимозин на ранних этапах иммунного процесса временно уменьшает скорость дифференциации предшественников в плазматические клетки, активно синтезирующие антитела, но уже не имеющие поверхностных рецепторов, необходимых для образования розеток.

На десятые сутки после иммунизации тимозин достоверно увеличивает содержание и В-РОК и АОК. У адrenaлэктомизированных животных влияние тимозина на клетки, синтезирующие антитела, проявляется более интенсивно, чем у неоперированных (табл. 3). В данном случае увеличение числа АОК происходит значительно раньше.

В отличие от клеток, образующих «иммунные» антитела, количество клеток, синтезирующих аутогемолизины, под влиянием тимозина постоянно уменьшается. Угнетающее действие тимозина на этот показатель усиливается при удалении надпочечников.

Таблица 1
Показатели клеточного иммунитета у морских свинок ($M \pm m$)

Группы животных	5 сут опыта			10 сут опыта		
	Реакция кожи (мм ²)	Индекс расщепления	Т-РОК на 10 ⁶ лимфоцитов селезенки	Реакция кожи (мм ²)	Индекс расщепления	Т-РОК на 10 ⁶ лимфоцитов селезенки
Неоперированные (физиологический раствор)	421 ± 38,5	87,4 ± 2,2	174 ± 19,6	968 ± 69,2	72,4 ± 2,4	214 ± 28,4
Неоперированные + тимозин	680 ± 57,4	70,3 ± 1,9	230 ± 24,6	1200 ± 97,6	70,5 ± 2,1	290 ± 32,4
Адреналэктомированные (физиологический раствор)	880 ± 60,2	65,2 ± 1,9	320 ± 28,3	462 ± 54,3	95,7 ± 1,9	90 ± 11,2
Адреналэктомированные + гидрокортизон	460 ± 36,3	80,5 ± 2,4	216 ± 39,6	1010 ± 91,4	74,6 ± 2,1	302 ± 56,3
Адреналэктомированные + тимозин	1158 ± 114,4	54,4 ± 2,1	930 ± 86,4	1253 ± 84,1	70,3 ± 1,9	990 ± 83,3
Адреналэктомированные + тимозин + гидрокортизон	500 ± 61,1	72,5 ± 1,6	690 ± 82,6	910 ± 96,6	74,4 ± 2,1	483 ± 67,8
Тимэктомированные (физиологический раствор)	287 ± 41,4	79,3 ± 1,8	166 ± 14,2	680 ± 84,2	83,6 ± 1,9	52 ± 9,3
Тимэктомированные + тимозин	316 ± 38,1	75,2 ± 2,1	26 ± 8,4	720 ± 89,6	78,3 ± 2,4	33 ± 4,1
Тимадреналэктомированные (физиологический раствор)	231 ± 24,2	92,6 ± 2,7	36 ± 9,7	289 ± 31,2	98,6 ± 2,8	29 ± 3,6
Тимадреналэктомированные + тимозин	402 ± 36,5	78,1 ± 2,1	184 ± 16,2	871 ± 74,5	84,2 ± 1,9	42,4 ± 7,3

Показатели РТПХ после введения $5 \cdot 10^6$ клеток реципиентам F

Введенный препарат	Операция доноров
Физиологический раствор	адреналэктомированные
	неоперированные
Тимозин	адреналэктомированные
	неоперированные
Препарат печени	адреналэктомированные
	неоперированные
Препарат селезенки	адреналэктомированные
	неоперированные

Повышение интенсивности выделенного времени обеспечивает в дальнейшем, возможно в результате снижения уровня иммунологических реакций. Инъекции тимозина и гормонов способствуют для точного иммунитета у адреналэктомированных.

Это предположение подтверждается данными, согласно которым у адреналэктомированных животных чувствительность к чувствительности тимозину антитимозинного иммуноглобулина адреналэктомированных животных в горькие присоединяют четыре — семь Хаскилл [8], принадлежат к клеткам.

Известно, что клетки T_1 являются гелевой дифференциации они требуют.

Кроме увеличения потока T к адреналэктомированию, очевидно, вызывает перераспределение может осуществиться, но посредством блокады поступления.

Приведенные материалы позволяют сформулировать гипотезу о механизме сдвигов иммунологических реакций у адреналэктомированных животных. Они также позволяют понять причины повышения чувствительности зависимых от тимуса проявлений иммунитета к действию эндогенного тимозина у животных с удаленными надпочечниками. Мы полагаем, что, вследствие уменьшения содержания глюкокортикоидов снижается лимитирующее влияние этих гормонов на выход предшественников иммунокомпетентных клеток из тимуса.

Таблица 2

Показатели РТПХ после введения $5 \cdot 10^6$ клеток селезенки и костного мозга мышей СВА реципиентам F_1 ($CBA \times C_{57}BL$)

Введенный препарат	Операция доноров	5·10 ⁶ клеток селезенки		5·10 ⁶ клеток костного мозга	
		Относительный вес селезенки	Индекс селезенки	Относительный вес селезенки	Индекс селезенки
Физиологический раствор	адреналэктомированные	$3,1 \pm 0,15$ $p > 0,05$	2,61	$1,21 \pm 0,09$	1,06
	неоперированные	$2,18 \pm 0,26$	1,72	$1,59 \pm 0,19$	1,45
Тимозин	адреналэктомированные	$4,3 \pm 0,24$ $p < 0,05$	3,5	$1,89 \pm 0,14$	1,62
	неоперированные	$2,84 \pm 0,25$	2,1	$2,07 \pm 0,22$	1,8
Препарат печени	адреналэктомированные	$2,97 \pm 0,21$ $p > 0,05$	2,48	$1,27 \pm 0,11$	1,12
	неоперированные	$2,1 \pm 0,19$	1,74	$1,4 \pm 0,1$	1,35
Препарат селезенки	адреналэктомированные	$3,28 \pm 0,27$ $p > 0,05$	2,74	$1,45 \pm 0,13$	1,24
	неоперированные	$2,4 \pm 0,23$	1,85	$1,69 \pm 0,11$	1,5

Повышение интенсивности выхода клеток из тимуса в течение определенного времени обеспечивает усиление клеточного иммунитета. В дальнейшем, возможно в результате истощающей дифференциации, уровень иммунологических реакций у адреналэктомированных животных снижается. Инъекции тимозина препятствуют истощению пула предшественников и обеспечивают длительное сохранение проявлений клеточного иммунитета у адреналэктомированных животных на высоком уровне.

Это предположение подтверждается недавно полученными нами данными, согласно которым у адреналэктомированных животных значительно повышается чувствительность клеток селезенки, которая приближается к чувствительности тимоцитов, к агглютинирующему действию антитимозинного иммуноглобулина. Одновременно в селезенке адреналэктомированных животных увеличивается количество Т-РОК, которые присоединяют четыре — семь эритроцитов и, по классификации Хаскилл [8], принадлежат к клеткам T_1 .

Известно, что клетки T_1 являются незрелыми. Для своей окончательной дифференциации они требуют влияния тимозина [4].

Кроме увеличения потока T клеток, которые покидают тимус, адреналэктомия, очевидно, вызывает перераспределение T лимфоцитов. Перераспределение может осуществляться путем усиления эмиграции, либо посредством блокады поступления T клеток в костный мозг. Одним

из последствий этого является уменьшение активности клеток костного мозга в РТПХ.

Стимулирующий эффект тимозина на иммунологические реакции у адrenaлэктомированных животных может быть обусловлен повышением индивидуальной способности потенциально иммунокомпетентных клеток реагировать на этот препарат в условиях тотальной или частичной элиминации глюкокортикоидов.

Таблица 3

Клетки, принимающие непосредственное участие в образовании антител (на 10^5 лимфоидных клеток селезенки морских свинок, $M \pm m$)

Группа животных	5 сут опыта			10 сут опыта		
	В-РОК	АОК	Ауто АОК	В-РОК	АОК	Ауто АОК
Неоперированные (физраствор)	160 $\pm$ 20,2	180 $\pm$ 16,3	31 $\pm$ 3,6	210 $\pm$ 41,2	77 $\pm$ 14,9	39 $\pm$ 4,3
Неоперированные+тимозин	190 $\pm$ 23,7	12 $\pm$ 1,7	22 $\pm$ 2,3	440 $\pm$ 39,1	296 $\pm$ 32,3	20 $\pm$ 3,9
Адреналэктомированные (физраствор)	96 $\pm$ 12,4	4 $\pm$ 0,3	29 $\pm$ 4,2	57 $\pm$ 7,4	0,6 $\pm$ 0,09	32 $\pm$ 5,1
Адреналэктомированные+гидрокортизон	89 $\pm$ 9,7	112 $\pm$ 27,6	28 $\pm$ 9,6	154 $\pm$ 18,7	48 $\pm$ 7,6	22 $\pm$ 3,8
Адреналэктомированные+тимозин	186 $\pm$ 16,1	258 $\pm$ 11,4	11 $\pm$ 1,9	38 $\pm$ 4,2	782 $\pm$ 45,7	10 $\pm$ 2,8
Адреналэктомированные+тимозин+гидрокортизон	183 $\pm$ 21,6	35 $\pm$ 5,2	18 $\pm$ 2,1	214 $\pm$ 38,1	226 $\pm$ 18,4	24 $\pm$ 3,6
Тимэктомированные (физраствор)	352 $\pm$ 38,4	395 $\pm$ 32,1	130 $\pm$ 16,4	156 $\pm$ 24,2	114 $\pm$ 28,7	56 $\pm$ 8,3
Тимэктомированные+тимозин	53 $\pm$ 12,2	200 $\pm$ 22,6	96 $\pm$ 15,2	25 $\pm$ 6,4	89 $\pm$ 17,6	53 $\pm$ 12,6
Тимадреналэктомированные (физраствор)	82 $\pm$ 9,9	34 $\pm$ 3,2	26 $\pm$ 4,2	26 $\pm$ 3,6	11 $\pm$ 1,02	27 $\pm$ 6,1
Тимадреналэктомированные+тимозин	186 $\pm$ 15,3	250 $\pm$ 22,4	12 $\pm$ 0,9	164 $\pm$ 12,5	120 $\pm$ 17,1	10 $\pm$ 1,3

Как показывают данные, полученные на тимадреналэктомированных животных, при снижении уровня глюкокортикоидов повышается реакция на тимозин у лимфоидных клеток, которые уже в течение длительного времени находятся вне сферы влияния тимуса. Это совпадает с представлениями о лимфоидной ткани как общей мишени гормонов-антагонистов — тимозина и глюкокортикоидов.

Полученные нами данные дополняют представления о механизме действия гормонов тимуса и позволяют считать, что глюкокортикоиды играют важную роль в развитии резистентности к тимозину на уровне всей популяции лимфоидных клеток.

Для обеспечения эффективности действия экзогенного тимозина во взрослом организме мы считаем перспективным введение препарата в комплексе с ингибиторами коры надпочечников.

Необходимость в реализации терапевтического эффекта тимозина (восстановление и усиление клеточного иммунитета) возникает при злокачественных новообразованиях, аутоиммунных процессах и других заболеваниях, существенным условием успешного лечения которых является стимуляция иммунных процессов, зависящих от тимуса.

1. Микоша А. С., Сутковой Д. А. Кортикостероидов и диуреза у ... с. 90—93.
2. Чеботарев В. Ф., Антоненко А. показатели иммуногенеза у ... свинок.—Журн. микробиол., 197
3. Bach J. F. e. a. Isolation, bio... circulating thymic hormone in ... 1975, 249, p. 186—210.
4. Cohen C. H., Hooper J. A., Gold thymocytes in allogeneic mixed ... 249, p. 145—153.
5. Cunningham A. J. e. a. Antib... efferent lymph of sheep.—J. Exp
6. Fauve R. M., Dekaris D. Macr... ty.—Science, 1968, 160, p. 795—7
7. Goldstein A. C. e. a. Purificati... the thymus gland.—Proc. Nat.
8. Haskill G. S. e. a. Classification... by demonstration of their anti... p. 1410—1415.
9. Paraskevas F., Israels L. G. Re... tion of surface-associated γ -gl... N 1, p. 1—17.
10. Simonsen N. Graft-versus-host... tools of research.—Progress in
11. Trainin N., e. a. Recent studies... poiesis and immune differential ... 218.

Лаборатория иммунохимии горм... Киевского института эндокринол... и обмена веществ

PECULIAR ON IMMUNE REACTI

Thymus-dependent immune ... mice at early period after antigen... with nonoperated animals. The in... these reactions. In adrenalectomiz... to the thymus hormone effect. Gl... of thymusdependent reactions and... ward on the mechanism evoking... development and on reasons of th... coid hormones. Basing on this I... immunity by means of thymosin... corticoid function of a renal cortex

Laboratory of Immunochemistry o... Institute of Endocrinology and Me

Л и т е р а т у р а

1. Микоша А. С., Сутковой Д. А. Изучение коррелятивной связи экскреции 17-оксикортикостероидов и диуреза у морских свинок.— Пробл. эндокринолог., 1970, 16, № 5, с. 90—93.
2. Чеботарев В. Ф., Антоненко А. В., Валуева Т. К. Влияние тимозина на некоторые показатели иммуногенеза у неоперированных и адреналэктомированных морских свинок.— Журн. микробиол., 1975, № 4, с. 62—66.
3. Bach J. F. e. a. Isolation, biochemical characteristics, and biological activity of a circulating thymic hormone in the mouse and in the human. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 186—210.
4. Cohen C. H., Hooper J. A., Goldstein A. L. Thymosin-induced differentiation of murine thymocytes in allogeneic mixed lymphocyte cultures.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 145—153.
5. Cunningham A. J. e. a. Antibody formation by single cells from lymph nodes and efferent lymph of sheep.— J. Exp. Med., 1966, 124, p. 701—708.
6. Fauve R. M., Dekaris D. Macrophage spreading: inhibition in delayed hypersensitivity.— Science, 1968, 160, p. 795—796.
7. Goldstein A. C. e. a. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland.— Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1972, v. 69, 7, p. 1800—1803.
8. Haskill G. S. e. a. Classification of thymus—derived and marrow—derived lymphocytes by demonstration of their antigen-binding characteristics.— J. Exp. Med., 1972, 135, p. 1410—1415.
9. Paraskevas F., Israels L. G. Reverse immune cytoadherence. A technique for the detection of surface—associated γ -globulins on lymphoid cells.— J. Immunol. Methods, 1971, N 1, p. 1—17.
10. Simonsen N. Graft-versus-host reactions. Their natural history and applicability as tools of research.— Progress in Allergy, 1962, 6, p. 349—367.
11. Trainin N., e. a. Recent studies on the role of the thymus in early stages of lymphopoiesis and immune differentiation.— Boll. Ist. Steroter. Milanese, 1975, 54, 3, p. 211—218.

Лаборатория иммунохимии гормонов
Киевского института эндокринологии
и обмена веществ

Поступила в редакцию
9.III 1977 г.

V. F. Chebotarev

PECULIARITIES OF THYMOSIN EFFECT ON IMMUNE REACTIONS IN ADRENALECTOMIZED ANIMALS

Summary

Thymus-dependent immune reactions in adrenalectomized guinea pigs and linear mice at early period after antigen administration proceed more intensely in comparison with nonoperated animals. The intensification is followed by a considerable inhibition of these reactions. In adrenalectomized animals immunity manifestations are highly sensitive to the thymus hormone effect. Glucocorticoids in substitution doses restore the dynamics of thymusdependent reactions and their sensitivity to thymosin. A hypothesis is put forward on the mechanism evoking appearance of peculiarities in immunological reactions development and on reasons of thymosin effect intensification with decreasing glucocorticoid hormones. Basing on this hypothesis a method is suggested for intensifying cell immunity by means of thymosin application in combination with the inhibitor for glyco-corticoid function of a adrenal cortex.

Laboratory of Immunochemistry of Hormones,
Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev