

УДК 612-017.1-06:618.19-006-02-092.9

Т. Н. Селезнева, Л. Я. Каменец, Ю. А. Гриневич

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУННЫХ РОЗЕТОК КЛЕТКАМИ НЕКОТОРЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЛИМФОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТИМОЗИНА

При развитии злокачественных новообразований у животных и человека наблюдается уменьшение количества и снижение функциональной активности *T*-лимфоцитов [9, 11]. Введение экстракта тимуса тимозина восстанавливает количество этих клеток до нормальных величин и усиливает их активность в ряде клеточно опосредованных иммунологических реакций [6, 7, 8]. Действие тимозина на лимфоидную систему усиливается и продлевается в условиях гипокортицизма [3].

Иммунизация животных гетерологичными эритроцитами приводит к накоплению в лимфоидных органах клеток, образующих розетки с этими эритроцитами. Таким свойством обладают *T*- и *B*-лимфоциты [1, 5, 13].

Мы исследовали действие тимозина на способность клеток тимуса, селезенки и лимфатических узлов крыс формировать иммунные розетки с эритроцитами барана в условиях адреналэктомии в процессе развития химически индуцированного канцерогенеза молочных желез.

Методика исследований

Исследования проведены на 139 крысах-самках стадной разведения. Опухоли молочных желез индуцировали внутривенным введением 7,12-диметилбензантрацена (ДМБА). Введение канцерогена повторяли трижды с семидневным интервалом. Суммарная доза ДМБА на крысу составляла 6 мг. Тимозин (3 фракция), выделенный из тимуса телят [7], вводили внутримышечно по 10 мг каждые 10 дней девятикратно. У части животных через 14 дней после окончания введения ДМБА удаляли надпочечники, а спустя 10 дней начинали курс инъекций тимозина. По характеру применявшихся воздействий животные были распределены на пять групп: I (контрольная) — введение ДМБА; II — введение ДМБА+адреналэктомия; III — введение ДМБА+тимозин; IV — введение ДМБА+адреналэктомия+тимозин; V — нормальные животные.

Для тестирования розеткообразования, всем животным за 4 сут до взятия органов на исследование внутривенно вводили по $5 \cdot 10^8$ эритроцитов барана. Крыс иммунизировали на второй день после последнего введения ДМБА, через 10 сут после адреналэктомии, после трех, шести и девяти инъекций тимозина. Количество розеткообразующих клеток (РОК) в тимусе, селезенке и лимфатических узлах определяли в мазках [10]. РОК дифференцировали в зависимости от их функциональной активности, оцениваемой по способности присоединять к своей поверхности эритроциты: сформированные 4—6 эритроцитами барана относили к T_1 , 7—10 — к T_2 , более чем 10 — к *B*-лимфоцитам [1, 5, 10] (в наших исследованиях *B*-лимфоциты встречались крайне редко, поэтому в работе эти данные не представлены).

Результаты исследований и их обсуждение

В тимусе нормальных крыс (V группа) обнаруживали РОК только с минимальной активностью (T_1 -РОК) — в среднем их количество составляло $6,68 \pm 1,18\%$.

В первый месяц после введения ДМБА в тимусе животных I группы количество T_1 -лимфоцитов существенно снижалось (см. таблицу).

Влияние тимозина на содержание РОК в тимусе, селезенке и лимфатических узлах адреналэктомированных крыс в процессе индуцированного ДМБА рака молочной железы

Группы животных	Клетки	Количество РОК в % ($M \pm m$) в различные сроки после окончания введения ДМБА					
		Через 5 дней	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 4 месяца	
						без опухолей	с опухолями
Тимус							
I	T ₁ T ₂	3,86 ± 1,77(9) 0	3,43 ± 1,21 ^x (8) 0	7,94 ± 1,40(8) 0	4,50 ± 1,47(9) 0	15,31 ± 5,02 ^x (8) 0	13,50 ± 4,20(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	1,16 ± 0,40 ^{xk} (6) 0	7,44 ± 2,00(8) 0	14,64 ± 2,83 ^{xk} (7) единичные (7)	10,00 ± 2,47(8) единичные (8)	11,92 ± 2,31(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	11,44 ± 2,12 ^x (8) единичные (8)	8,56 ± 1,62 ^k (8) единичные (8)	15,70 ± 4,77 ^x (10) единичные (10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	13,00 ± 2,13 ^{xk} (8) единичные (8)	6,75 ± 2,68(6) единичные (6)	27,20 ± 5,28 ^{xk} (5) единичные (5)	—
Селезенка							
I	T ₁ T ₂	9,94 ± 2,62(9) 0	9,69 ± 3,04(8) 0	9,62 ± 1,34(8) 0	4,50 ± 1,62 ^x (9) 0	15,56 ± 3,56(8) 0	13,30 ± 3,70(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	6,74 ± 3,38(7) 0	17,13 ± 3,36 ^k (8) 0,63 ± 0,38(8)	16,36 ± 6,21 ^k (7) 0,64 ± 0,33(7)	15,37 ± 3,89(8) единичные (8)	15,42 ± 4,13(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	26,12 ± 4,35 ^{xk} (8) 1,69 ± 0,69 ^{xk} (8)	15,75 ± 3,12 ^k (8) 0,31 ± 0,14 ^k (8)	26,55 ± 5,68 ^x (10) 0,55 ± 0,23 ^k (10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	21,07 ± 2,50 ^{xk} (7) 0,87 ± 0,34 ^{xk} (7)	18,16 ± 7,51 ^k (6) 0,75 ± 0,32 ^{xk} (6)	25,32 ± 4,03 ^x (6) 1,34 ± 0,58 ^{xk} (6)	—
Лимфатические узлы							
I	T ₁ T ₂	8,22 ± 2,76(9) 0	8,12 ± 2,37(8) 0	3,62 ± 1,55 ^x (8) 0	3,83 ± 1,46 ^x (9) 0	13,12 ± 2,72(8) 0	10,70 ± 3,03(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	4,20 ± 2,21 ^x (7) 0	10,75 ± 2,07 ^k (8) 0	17,86 ± 3,20 ^k (7) 0,29 ± 0,17(7)	15,12 ± 3,97(8) 0,31 ± 0,18(8)	19,20 ± 3,90(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	23,28 ± 4,43 ^{xk} (7) 0,79 ± 0,16 ^k (7)	10,13 ± 2,59 ^k (8) единичные (8)	22,65 ± 4,60 ^x (10) 0,45 ± 0,26(10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	14,63 ± 2,23 ^k (8) 0,13 ± 0,08(8)	12,50 ± 4,01 ^k (6) 0,33 ± 0,19(6)	18,62 ± 5,56(6) 0,25 ± 0,18(6)	—

^x — $p < 0,05$ по сравнению с показателями в норме, ^k — $p < 0,05$ по сравнению с показателями в контроле (I группа). В скобках указано количество наблюдений.

В более поздние сроки канцерогенеза (через 4 мес после окончания введения ДМБА) у животных этой группы наблюдалось увеличение количества T_1 -РОК в тимусе, выраженное в большей степени у крыс, у которых к данному сроку опухоли еще не возникли.

У животных с удаленными надпочечниками (II группа) содержание T_1 -РОК в тимусе повышалось на месяц раньше, чем у животных I группы (достоверно не только по сравнению с их уровнем у животных контрольной группы, но и у нормальных крыс). В тимусе животных этой группы параллельно с увеличением числа T_1 -РОК регистрировалось наличие единичных T_2 -РОК.

Введение животным тимозина (III группа) сопровождалось увеличением по сравнению с нормой количества T_1 - и появлением T_2 -РОК в тимусе во все сроки наблюдения. Увеличение количества T_1 -лимфоцитов в тимусе животных этой группы по сравнению с контролем (I группа) наблюдали только через 3 мес после окончания введения ДМБА. В тимусе крыс этой группы регистрировали появление единичных T_2 -РОК.

Применение тимозина на фоне адреналэктомии (IV группа) увеличивало через 2 и 4 мес после окончания введения ДМБА количество T_1 -РОК в тимусе по сравнению с соответствующими показателями в группе контрольных животных. Через 3 мес после окончания введения канцерогена количество T_1 -РОК в тимусе крыс IV группы соответствовало нормальным величинам. У животных этой группы мы также регистрировали в тимусе единичные T_2 -РОК.

В селезенке нормальных крыс (V группа) количество T_1 -РОК составляло $10,02 \pm 1,36\%$, а T_2 -РОК — $0,15 \pm 0,06\%$.

Введение канцерогена вызвало снижение количества T_1 -РОК в селезенке по сравнению с нормой только спустя 3 мес. T_2 -РОК в селезенке животных этой группы не были обнаружены.

У крыс с удаленными надпочечниками (II группа), начиная с двух месяцев после окончания введения ДМБА, наблюдали повышение содержания T_1 -РОК в селезенке по сравнению с контролем. В эти же сроки в селезенке появились T_2 -РОК.

Введение тимозина крысам с неудаленными надпочечниками (III группа) и на фоне адреналэктомии (IV группа) увеличивало накопление T_1 - и T_2 -РОК в селезенке во все сроки обследования.

В лимфатических узлах нормальных крыс (V группа) регистрировали $11,14 \pm 2,20\%$ T_1 -РОК и $0,31 \pm 0,12\%$ T_2 -РОК.

Количество T_1 -РОК в лимфатических узлах животных I группы достоверно снижалось по сравнению с нормальными через 2 и 3 мес после окончания введения канцерогена. В лимфатических узлах крыс этой группы T_2 -РОК обнаруживались редко.

Адреналэктомия (II группа), инъекции тимозина животным с неудаленными надпочечниками и адреналэктомизированным крысам (III и IV группы) предотвращали уменьшение T_1 -РОК в лимфатических узлах через 2 и 3 мес после введения ДМБА, как это наблюдалось у контрольных животных.

Появление T_2 -РОК в популяции лимфоцитов, выделенных из лимфатических узлов адреналэктомизированных крыс, отмечено через 3 и 4 мес после окончания введения ДМБА, у животных III и IV групп, леченных тимозином — во все сроки обследования.

Таким образом, в динамике индуцированного ДМБА канцерогенеза молочных желез у крыс снижается содержание реактивных по отношению к эритроцитам барана лимфоцитов в селезенке и, особенно, в тимусе и лимфатических узлах. Причем, депрессивное влияние кан-

церогена на уровень T_1 -лимфоцитов в тимусе регистрируется раньше, чем в лимфатических узлах.

Введение тимозина значительно увеличивает содержание T_1 -РОК в исследуемых лимфоидных органах и способствует появлению T_2 -лимфоцитов в селезенке и лимфатических узлах крыс в динамике канцерогенеза. Это, вероятно, обусловлено влиянием тимозина, стимулирующим созревание и функциональную активность T -клеток [4, 7, 8].

Двусторонняя адреналэктомия усиливает и, в определенной степени, продлевает регулирующее действие тимозина на пролиферацию популяции T -клеток, способствуя накоплению T_1 -и T_2 -лимфоцитов в лимфоидных органах крыс, что можно объяснить устранением лимитирующего действия глюкокортикоидов на кортизончувствительные лимфоциты [3, 12].

Параллельно проведенное исследование влияния тимозина на развитие индуцированных ДМБА опухолей молочных желез у крыс показало, что стимулирующее действие препарата на уровень иммунных РОК в лимфоидных органах сопровождалось снижением частоты возникновения новообразований, максимально выраженным при использовании тимозина на фоне адреналэктомии [2].

Кроме того, следует отметить, что для крыс, у которых пальпируемые опухоли не возникли к 4 мес после окончания введения ДМБА, характерно, наряду с нарастанием в лимфоидных органах количества T_1 -, накопление T_2 -лимфоцитов по сравнению с соответствующими показателями в группе животных-опухоленосителей (см. таблицу).

Таким образом, поддержание высокого уровня T -клеток в лимфоидных органах крыс имеет важное значение для формирования противоопухолевой резистентности организма. Можно предположить, что противоопухолевое действие тимозина обусловлено восстановлением соотношения отдельных субпопуляций T -лимфоцитов с последующим положительным влиянием на их кооперацию и развитие полноценных противоопухолевых иммунологических реакций. Усиление влияния тимозина на противоопухолевую резистентность организма в условиях гипокортицизма, по-видимому, связано с повышением содержания в лимфоидных органах крыс кортизончувствительных лимфоцитов. Выполняя функцию клеток-хелперов, они могут дополнять действие кортизонрезистентных лимфоцитов, играющих роль как хелперов, так и киллеров [3, 12].

Выводы

1. В ранние сроки индуцированного ДМБА канцерогенеза молочных желез у крыс наблюдается снижение содержания иммунных РОК в тимусе, селезенке и лимфатических узлах.
2. Двусторонняя адреналэктомия после окончания введения ДМБА приводит к увеличению количества иммунных РОК в селезенке, лимфатических узлах и, в меньшей степени, в тимусе.
3. Тимозин оказывает стимулирующее влияние на накопление иммунных РОК в селезенке, лимфатических узлах крыс в процессе канцерогенеза молочных желез. Действие препарата усиливается и продлевается на фоне адреналэктомии.

Литература

1. Гриневиц Ю. А. Особенности формирования спонтанных и иммунных розеток клетками тимуса и других образований лимфоидной системы кроликов. — Ж. микробиол. эпидем. и иммунобиол., 1975, № 11, с. 68—73.

2. Гриневиц Ю. А., Чеботарев В. Ф., Каменец Л. Я., Селезнева Т. Н. К вопросу о гормональной регуляции противоопухолевого иммунитета.— Физиология иммун. гомеостаза. Тезисы II Всесоюз. симпоз. Ростов-на-Дону, 1977, с. 97—98.
3. Чеботарев В. Ф. Особенности влияния тимозина на иммунологические реакции у адреналэктомированных животных.— Физиол. журн., 1978, 24, № 1, с. 34—39.
4. Cohen C. H., Hooper J. A., Goldstein A. L. Thymosin-induced differentiation of murine thymocyte in allogenic mixed lymphocyte cultures.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 145—153.
5. Elliott B. E., Haskill J. S. Characterization of thymus-derived and bone marrow derived rosette-forming lymphocytes.— Europ. J. Immunol., 1973, 3, p. 68—74.
6. Goldstein A. L., White A. Role of thymosin and other thymic factor in the development maturation and function of lymphoid tissue.— Current Topics Exptl. Endocrinol., 1971, N 1, p. 121—149.
7. Goldstein A. L., Guha A., Latz M. M., Harby H. A., White A. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, 69, N 7, p. 1800—1803.
8. Goldstein A. L., White A. Thymosin and other thymus hormones, their nature and roles in the thymic dependency of immunological phenomena.— Contemp. Topics Immunobiol. New York—London, 1973, 2, p. 299—350.
9. Harris G., Copelan D. Impaired immunoresponsiveness in tumor patients.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1974, 230, p. 56—85.
10. Haskill J. S., Elliott B. E., Kerbel R., Axelder M., Eidenger D. Classification of thymus-derived and marrow derived lymphocytes by demonstration of their antigen-binding characteristics.— J. exp. Med., 1972, 135, p. 1410—1415.
11. Smith B. T. Possibilities and problems of immunologic intervention in cancer.— New. Engl. J. Med., 1972, 287, p. 439—450.
12. Thurman G. B., Rossio J. L., Goldstein A. L. Thymosin-induced recovery of murine T-cell function following treatment with hydrocortisone acetate.— Transp. Proc., 1977, 9, N 1, p. 1201—1203.
13. Wilson J. D., The function of immune T-and B-rosette-forming cells.— Immunology, 1973, 25, p. 185—196.

Киевский рентгено-радиологический
и онкологических институт

Поступила в редакцию
14. VIII 1978 г.

T. N. Selezneva, L. Ya. Kamenets, Yu. A. Grinevich

THE PECULIARITIES IN THE IMMUNE ROSETTES FORMATION BY THE LYMPHOID SYSTEM CELLS UNDER THE THYMOSIN EFFECT

Summary

The data are presented on the research of the effect of thymosin (fraction 3) and adrenalectomy on the number of the immune rosette forming cells (RFC) to the sheep red blood cells in the thymus, spleen and lymphatic nodes of the rats in the process of the development of the DMBA-induced mammary cancer.

The quantity of the immune RFC in the thymus, spleen and lymphatic nodes is shown to decrease at the initial stages of cancer.

The adrenalectomy preceded by the DMBA injection promotes the increase in the immune RFC content in the lymphoid organs of the rats.

Thymosin injection stimulates the accumulation of the immune RFC in the lymphoid organs of the rats in the course of chemically induced cancer. The effect of thymosin is intensified by the adrenalectomy.

Rentgenological-Radiological and
Oncological Institute, Kiev