

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.361.438:612.017.1:612.112.94

М. Б. Самбур, Г. П. Кравчук

ВЛИЯНИЕ ТИМОЗИНА НА СПОСОБНОСТЬ ПРОГРЕТЫХ ТИМОЦИТОВ МОРСКОЙ СВИНКИ К РОЗЕТКООБРАЗОВАНИЮ

Известно, что один из гормонов тимуса — тимозин индуцирует появление на незрелых клетках лимфоидного ряда маркерных рецепторов *T*-лимфоцитов [2, 3, 4], а также увеличивает количество *E*-РОК, образуемых лимфоцитами крови больных с иммунодефицитными состояниями [1, 5, 10].

Мы исследовали влияние тимозина на способность к розеткообразованию тимоцитов, прогретых при 45°С. Как показано Мендес и др. [8], при данной температуре рецепторные структуры, принимающие участие в образовании розеток, отделяются от клеточных мембран, в результате чего способность их к розеткообразованию резко уменьшается.

Методика исследований

Из тимусов морских свинок весом 200—300 г получали взвесь лимфоцитов в среде 199 или растворе Хэнкса посредством измельчения железы, фильтрования через двухслойный нейлоновый фильтр и отмывания клеток однократным центрифугированием в течение 5 мин при 1000 об/мин. Взвесь тимоцитов в концентрации 1×10^6 клеток/мл по 1 мл прогревали в круглодонных центрифужных пробирках в течение 1 ч при 45°С, отмывали питательной средой и добавляли к ним 30×10^6 отмывтых свежих эритроцитов кролика, доводя общий объем до 1,5 мл раствором Хэнкса, содержащим (опыт) или не содержащим (контроль) тимозин, инкубировали 1 ч при 4°С или 37°С, центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин и оставляли при 4°С на ночь. Для определения количества розеток клетки осторожно ресуспендировали и подсчитывали РОК в камере Горяева без предварительного разведения, считая розеткой образование из лимфоцита и присоединившихся к нему трех и более эритроцитов. Полученное число РОК выражали в процентах по отношению к количеству РОК, образуемых прогретыми тимоцитами.

Результаты исследований и их обсуждение

Инкубацию прогретых тимоцитов с тимозином проводили параллельно при температуре 4°С и 37°С (рис. 1). Из полученных результатов видно, что число РОК, выявляемых после инкубации с различными дозами тимозина при температуре 37°С, значительно превосходит определяемое после инкубации при 4°С.

Исследование зависимости числа восстановленных РОК от времени инкубации с 500 мкг/мл тимозина (рис. 2) показало, что количество РОК под влиянием тимозина при 37°С увеличивается в течение длительного времени, достигая максимума через 40—60 мин инкубации, в то время как при 4°С соединение с лимфоцитами завершается в основном уже в течение 10 мин.

Показано, что на восстановление числа РОК при температуре 37°С существенно влияет ингибитор гликолиза — моноиодацетат (рис. 3). Его присутствие в инкубируемой клеточной взвеси наряду с 500 мкг/мл тимозина приводит к снижению числа РОК с 42 до 8%, тогда как добавление моноиодацетата к суспензии клеток, инкубируемой при 4°С не оказывает ингибирующего действия на процесс восстановления розеткообразования.

Проведенные эксперименты позволяют считать, что восстановление тимозином розеткообразующей способности прогретых тимоцитов обусловлено по крайней мере двумя различными процессами. При 4°С Т-лимфоциты вновь приобретают способность образовывать розетки за счет фиксации на поверхности клеток рецепторных образований, присутствующих в инкубируемой среде, источником которых является тимозин [8].

В результате инкубации при 37°С количество РОК увеличивается, по-видимому, не только вследствие фиксации на поверхности клеток предсуществующих в тимозине

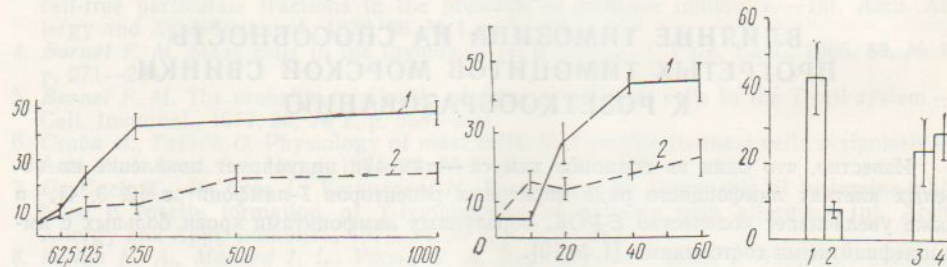


Рис. 1. Изменение количества розеткообразующих клеток среди прогретых при 45°С тимоцитов, обработанных различными дозами тимозина ($n=7$).

1 — инкубация при 37°С, 2 — инкубация при 4°С. По вертикали — количество РОК, в %, по горизонтали — количество тимозина в мкг/мл.

Рис. 2. Зависимость количества восстановленных РОК от времени инкубации с тимозином ($n=5$).

По горизонтали — время инкубации, в мин. Остальные обозначения см. рис. 1.

Рис. 3. Влияние моноиодацетата на восстановление тимозином розеткообразующей способности прогретых при 45°С тимоцитов морской свинки ($n=5$).

1 — инкубация с тимозином при 37°С, 2 — инкубация с тимозином и моноиодацетатом при 37°С, 3 — инкубация с тимозином при 4°С, 4 — инкубация с тимозином и моноиодацетатом при 4°С. По вертикали — количество РОК, в %.

рецепторных структур, но и вследствие их активной выработки в прогретых лимфоцитах. Как известно, гормоны тимуса, в частности тимозин, способны активировать внутриклеточные процессы, повышая уровень циклического аденозин-3', 5'-монофосфата [6, 7, 9]. Активированная клетка приобретает способность синтезировать новые рецепторные образования, которые, появляясь на клеточной мембране, возвращают ей способность формировать розетки с эритроцитами.

Литература

1. Гюллинг Э. В. Клинико-экспериментальное обоснование применения препаратов тимуса для лечения инфекционных и аллергических заболеваний органов дыхания, обусловленных изменениями тимусзависимой системы иммунитета. — Журнал ушных, горловых и носовых болезней, 1977, № 6, с. 53—57.
2. Гюллинг Э. В. Роль тимуса в дифференцировании клеток лимфоидного ряда. — Физиол. журн., 1977, 23, № 6, 847—851.
3. Gjulling E. V., Nikolsky I. S. Stimulation of antibody synthesis by partially purified thymus extract. — Journal of Hygiene, Epidemiology, microbiology and Immunology, 1977, 21, № 2, p. 66—71.
4. Никольский И. С. О возможности регуляции иммунологической активности лимфоидной системы факторами вилочковой железы. — Журнал ушных, горловых и носовых болезней, 1973, № 6, с. 3—5.
5. Bach J. F. Thymic hormones — from myth to fact. — Clinical Immunology and Immunopathology, 1976, N 5, p. III—VIII.
6. Bach J. F. The mode of action of thymic hormones and its relevance to T-cell differentiation. — Transplantation Proceedings, 1976, 8, N 2, p. 234—248.
7. Bach M. A., Tournier C., Bach J. F. Regulation of Θ -antigen expression by agents altering cyclic AMP level and by thymic factor. — Annals of New York Academy of Science, 1975, 249, p. 316—326.
8. Mendes N. F., Saraiva P. J., Santos O. B. O. Restorative effect of normal human serum, transfer factor and thymosin on the ability of heated human lymphocytes to form rosettes with sheep erythrocytes. — Cellular Immunology, 1975, 17, p. 560—566.

9. Trainin N., Kook A. I., Umial T., Albala H. The nature and mechanisms of stimulation of immune responsiveness by thymus extracts.— *Annals of New York Academy of Science*, 1975, **249**, p. 349—361.
10. Wara D. W., Amman A. J. Activation of T-cells rosettes in immunodeficient patients by thymosin.— *Annals of New York Academy of Science*, 1975, **249**, p. 308—315.

Киевский институт отоларингологии

Поступила в редакцию
28. IX 1978 г.

УДК 612.017.1:615.363.018

Н. П. Коврикова

ВЛИЯНИЕ СУММАРНОЙ ДНК НА ФОРМИРОВАНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ИММУНИТЕТА У КРОЛИКОВ

Открытие исключительно важной роли нуклеиновых кислот в биосинтезе белка обусловило большой интерес патофизиологов, иммунологов и биохимиков к выяснению функциональной роли этих соединений в иммунологических реакциях организма, в частности, в трансплантационном иммунитете.

В наших предыдущих исследованиях [3, 4] было показано, что формирование трансплантационного иммунитета сопровождается изменениями в содержании нуклеиновых кислот в лимфоидной ткани, причем повышение суммарного количества РНК и ДНК предшествует пику обнаружения антител в сыворотке крови.

Придерживаясь точки зрения, что все процессы жизнедеятельности обусловлены свойствами биологических макромолекул, а развитие трансплантационного иммунитета реализуется на молекулярном уровне, можно предположить, что введенная животному аллогенная суммарная ДНК в организме реципиента, используя в качестве матрицы, «запустит» гомологичный биосинтез белков, оказывающих влияние на продолжительность жизни кожного лоскута.

Однако возможность полноценной реализации в клетке генетической информации экзогенных ДНК исследована недостаточно, а имеющиеся в этом направлении работы крайне разноречивы [5, 7, 13, 14]. В то же время положительные результаты генетической трансформации с помощью нуклеиновых кислот у бактерий служат основанием для изучения этого явления у млекопитающих.

Мы выделяли ДНК из лимфатических узлов интактных кроликов и изучали ее влияние на длительность приживления кожного аллотрансплантата.

Методика исследований

Препараты ДНК получали спиртово-детергентным методом по [11] с последующей очисткой и пересаживанием в этиловом спирте. Анализ полученных препаратов показал, что спектр поглощения в ультрафиолете имеет максимум при 260 нм и характеризуется отношением $E_{260}/E_{230}=2.0-2.6$; $E_{260}/E_{280}=1.8-1.88$, что говорит о нативности и чистоте используемых ДНК. Примеси белка, определенные по [12], составляли менее 1%, РНК — 5—8%. Судя по седиментограмме в градиенте плотности сахарозы, наибольший класс молекул представлен одним пиком.

ДНК растворяли в стерильном стандартно-солевом растворе (0,15M NaCl + +0,015 M лимоннокислый натрий) и вводили внутривентриально из расчета 100 мг/кг за день и в день пересадки аллогенной кожи. Контролем служили кролики, которым внутривентриально вводили ту же дозу стандартно-солевого раствора. Донорский кожный лоскут размером 2×2 см пересаживали на ухо кролика.

Кроликов-реципиентов обследовали в динамике на 3, 7, 14, 21 дни после пересадки и определяли содержание гемолизинообразующих клеток в периферической крови с эритроцитами донора по [9] и розеткообразования в аллосистеме [10]. За розетку принимали скопление вокруг лимфоцита, содержащее три и более эритроцитов донора, но при этом розетки не дифференцировали. Кроме того, определяли активность кислой ДНКазы в сыворотке крови [8].