

THE THYMOSTIMULIN INFLUENCE ON THYMIC SERUM ACTIVITY
AND EXPRESSION OF E-RECEPTOR BY LYMPHOCYTES
OF GUINEA-PIGS UNDER CONDITIONS OF LATE THYMECTOMY

Yu. A. Grinevich, F. V. Filchakov, E. G. Gomberg

The preparation of biologically active thymus factors which influence the level of thymic serum activity and content of E-rosette-forming cells (E-RFC) in blood, spleen and lymph nodes has been studied in the experiments on thymectomized guinea-pigs. It is determined that thymectomy is determined to involve disappearance of FTS from circulation and a decrease of E-RFC in lymphoid organs. Injection of thymostimulin into thymectomized animals increases of the E-RFC number by means of TSA induction.

Research Institute of Roentgenology, Radiology and Oncology,
Ministry of Public Health, Ukrainian SSR, Kiev

1. Гриневич Ю. А., Никольский И. С., Титоренко Л. А., Селезнева Т. Н. Содержание тимического сывороточного фактора и чувствительность лимфоцитов периферической крови к тимостимулину, левамизолу и теофиллину при предраковых заболеваниях и раке молочной железы // Иммунология.—1982.—№ 5.—С. 48—51.
2. Гриневич Ю. А., Никольский И. С., Титоренко Л. А., Кононенко Н. Г. Угнетение эндокринной функции тимуса и изменение свойств плазматической мембраны лимфоцитов при химиотерапии системных онкологических заболеваний у детей // Вопр. онкологии.—1983.—29, № 5.—С. 23—25.
3. Гриневич Ю. А., Никольский И. С., Овсиенко В. В., Черненко О. Д. Особенности биологической активности некоторых фракций экстракта тимуса // Физiol. журн.—1982.—28, № 6.—С. 741—745.
4. Гриневич Ю. А., Бебешко В. Г., Никольский И. С. и др. Эндокринная функция тимуса и некоторые маркерные характеристики лимфоцитов периферической крови при лимфопролиферативных заболеваниях у детей // Педиатрия.—1985.—№ 8.—С. 35—37.
5. Гриневич Ю. А., Никольский И. С. Гуморальные факторы тимуса и перспективы их применения в онкологии // Эксперим. онкология.—1982.—4, № 5.—С. 10—16.
6. Никольский И. С., Гриневич Ю. А., Селезнева Т. Н., Бендюг Г. Д. Индукторная активность гуморальных факторов тимуса, спленина и левамизола // Иммунология.—1985.—№ 4.—С. 44—48.
7. Bach J. F., Dardenne M. Studies on thymus products. II Demonstration and characterization of a circulating thymic hormone // Immunology.—1973.—25.—Р. 353—366.
8. Divakaran S., Waugel A. G. Characterization of human mononuclear cell fractions separated on the basis of theophylline sensitivity of E-rosette forming ability // Immunobiology.—1983.—165.—Р. 500—507.
9. Hayward A. R., Graham L. Increased E-rosette formation by foetal liver and spleen cells incubated with theophylline // Clin. Exp. Immunol.—1976.—23, N 2.—Р. 279—284.
10. Scheid M. P., Hoffmann M. K., Komuro K. et al. Differentiation of T-cells induced by preparation from thymus and by nonthymic agents // J. Exp. Med.—1973.—138, N 4.—Р. 1027—1032.
11. Schulof R. S., Goldstein A. L. Thymosin and the endocrine thymus // Adv. Intern. Med.—1977.—22.—Р. 121—143.
12. Stadeker M. J., Bishop G., Wortis H. H. Rosette formation by guinea pig thymocytes and derived lymphocytes with rabbit red cells // J. Immunol.—1973.—111, N 6.—Р. 1834—1837.
13. Low T. L. K., Goldstein A. L. Thymosins: Structure, function and therapeutic applications // Thymus.—1984.—6, N 1/2.—Р. 27—42.

Киев. рентгено-радиол. и онкол. ин-т
М-ва здравоохранения УССР

УДК 612.438.4:612.018.41

Ранние изменения накопления радиоактивной глюкозы
в тимусе новорожденных крыс
после однократного введения тимозина

Н. А. Волошин, В. А. Малыхев

Успешное исследование свойств и механизмов действия иммунологически активных пептидов тимуса вызывает все более широкое применение их в клинической практике [2, 3, 8, 18]. Одним из наиболее изученных

является препарат тимостимулин. Описаны изменения в периферии введения тимозина тимуса, возникающие в сроки после применения. Изучены недостаточно водный обмен в клетки. Решение этих вопросов и перестройки иммунной работы — изучение работы в тимусе новорожденных.

Методика

Изучены морфологические изменения в 15 животных вводили по принятому методу [14]. Ввели $^{3}\text{H}_2\text{-глюкозу}$ (0,2 МБк/г, ввели через 20, 45 мин, фотографии готовили по общему типа «М». В препаратах, рен восстановленного серовеществе. Результаты иссл.

Результаты и их обсуждение

Через 20 мин после введения вены только над слоем тимуса интактных животных и в коре интактных животных фонового. Через 45 мин метка четко определяется преимущественно над эпителиоцитами и эндотелиальными клетками.

Рис. 1. Накопление $\text{D}-^{3}\text{H}_2\text{-глюкозы}$ через 45 мин после введения в мозговом слое тимуса интактного животного:

1 — эпителиоциты, капливающие радиоактивную глюкозу; 2 — эпителиоциты, не имеющие признаков накопления. Гистоавтоматограф. окраска гематоксилином-эозином. $\times 700$.

ными клетками сосудистые граffiti локализуются мозгового слоя статистически, чем корковые эпителии радиоактивной не выявлено. Обращают внимание на то, что накопление глюкозы эпителиоцитами, их скоплениями.

Физиол. журн.—1988.—34, № 2

ACTIVITY

ECTOMY

influence the level of thymic C in blood, spleen and lymph of guinea-pigs. It is determined FTS from circulation and a testimulin into thymectomized function.

у,

Селезнева Т. Н. Содержание лимфоцитов периферической при предраковых заболеваниях.— № 5.— С. 48—51.

Кононенко Н. Г. Угнетение азматической мембранны лимб-заболеваний у детей // Вопр.

Черненко О. Д. Особенности тимуса // Физиол. журн.—

др. Эндокринная функция тимусов периферической крови // Педиатрия.— 1985.— № 8.—

оры тимуса и перспективы их № 32—4, № 5.— С. 10—16.

Бендюг Г. Д. Индукторная и левамизола // Иммунология.— 1973.— 25.— Р. 353—

D Demonstration and characterization of mononuclear cell fractions forming rosette forming ability // Immunology by foetal liver and spleen.— 1976.— 23, N 2.— Р. 279—

differentiation of T-cells induced by // J. Exp. Med.— 1973.— 138, 10.—

hormone thymus // Adv. Intern.

tion by guinea pig thymocytes immunol.— 1973.— 111, N 6.—

action and therapeutic applica-

Поступила 07.02.87

активной глюкозы

и широкое применение из наиболее изученных

изол. журн.— 1988.— 34, № 2

является препарат тимозин (фракция-5), выделенный в 1972 г. Гольдштейном. Описаны морфологические, биохимические, иммунологические изменения в периферических лимфоидных органах после многократного введения тимозина интактным и взрослым животным. Изменения, возникающие непосредственно в тимусе новорожденных в ранние сроки после применения биологически активных веществ из тимуса, изучены недостаточно. Не освещен вопрос о влиянии тимозина на углеводный обмен в клеточных элементах вилочковой железы. Исследование этих вопросов имеет важное значение для понимания процессов перестройки иммунной системы в дальнейшем. Поэтому цель настоящей работы — изучение ранних изменений накопления радиоактивной глюкозы в тимусе новорожденных крыс после однократного введения тимозина.

Методика

Изучены морфологические особенности тимусов 30 новорожденных крыс. В 12 ч дня 15 животным вводили подкожно тимозин (фракция-5; по 50 мкг), полученный общепринятым методом [14]. Спустя 6 ч опытным и интактным животным вводили Д-[6-³H]-глюкозу (0,2 МБк/г; объемная активность 144 ГБк/к...л). Забор кусочков проводили через 20, 45 мин, 1,5; 3; 6 ч после введения радиоактивной глюкозы. Гистоавтографы готовили по общепринятой методике [4], используя отечественную эмульсию типа «М». В препаратах, окрашенных гематоксилином-эозином, подсчитывали число зерен восстановленного серебра на единице площади отдельно в корковом и мозговом веществе. Результаты исследования обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Через 20 мин после введения Д-[6-³H]-глюкозы гистоавтографы обнаружены только над сосудами и эпителиоретикулоцитами мозгового слоя тимуса интактных животных. В тимусе опытных животных, так же, как и в коре интактных животных, число гистоавтографов не отличается от фонового. Через 45 мин метка четко определяется преимущественно над эпителиоретикулоцитами и эндотелиаль-

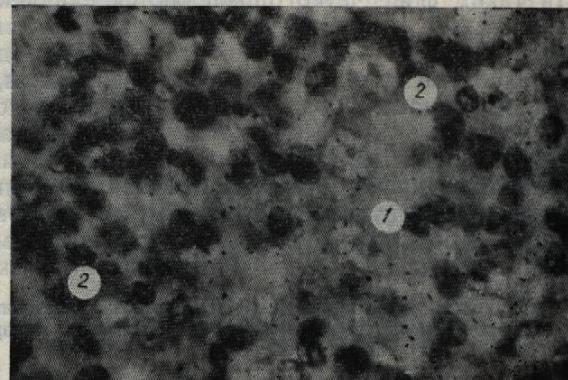


Рис. 1. Накопление Д-[6-³H]-глюкозы через 45 мин после введения в мозговом слое тимуса интактного животного:

1 — эпителиоретикулоциты, накапливающие радиоактивную глюкозу; 2 — эпителиоретикулоциты без признаков накопления. Гистоавтограф. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 700$.

ными клетками сосудов в обоих слоях тимуса. Единичные гистоавтографы локализуются над лимфоцитами. Эпителиоретикулоциты мозгового слоя статистически достоверно активнее накапливают глюкозу, чем корковые эпителиальные клетки (таблица). Различий в накоплении радиоактивной глюкозы в тимусе интактных и опытных животных не выявлено. Обращает на себя внимание отсутствие метки над единичными активированными эпителиоретикулоцитами в мозговом веществе тимуса обеих групп (рис. 1). Спустя 1,5 ч отмечается дальнейшее накопление глюкозы в коре и особенно мозговом веществе тимуса интактных животных. Гистоавтографы определяются над эпителиоретикулоцитами, их скоплениями и лимфоцитами, расположенными около них.

Количество гистоавтографов в коре тимуса опытных и интактных животных не отличается (см. таблицу). В мозговом веществе тимуса опытных крыс статистически достоверно снижается накопление глюкозы. Через 3 ч после введения изотопа наблюдается максимальное накопление его в обоих слоях органа. Однако, если в корковом слое у опытных животных число автографов выше, чем у интактных, то в мозговом — наоборот (см. таблицу). Число зерен серебра на единицу

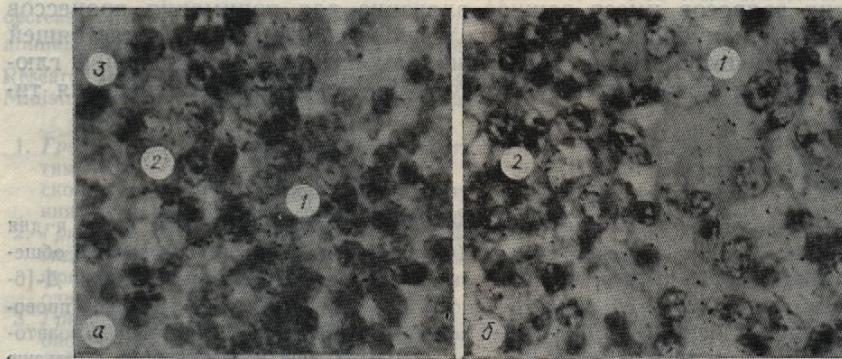


Рис. 2. Накопление $D-[6-^3H_2]$ -глюкозы через 3 ч после введения в корковом (а) и мозговом (б) слоях тимуса интактного животного:

1 — гистоавтографы над эпителиоретикулоцитами; 2 — гистоавтографы над лимфоцитами; 3 — капсула органа. Гистоавтографы. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 630$.

площади мозгового вещества тимуса животных, получивших тимозин, статистически достоверно ниже, чем у интактных. Восстановленные зерна серебра диффузно распределены по всей площади коркового и мозгового слоев над эпителиоретикулоцитами и лимфоцитами (рис. 2). На таком фоне четко определяются единичные эпителиоретикулоциты и их мелкие скопления без метки, которых визуально больше в тимусе опытных крыс. Характерно, что только у одного опытного животного выявлены мелкие эпителиальные фолликулы, которые определяются у всех интактных новорожденных. Через 6 ч после введения радиоактивной глюкозы резко снижается число гистоавтографов в обоих слоях тимуса. Характер распределения метки не изменяется. В коре тимуса у опытных крыс число автографов на единицу площади сохраняется выше, чем у интактных животных, а в мозговом слое — ниже (см. таблицу). В обеих группах число автографов в мозговом слое больше, чем в коре. В пределах слоя распределение метки диффузное. По-прежнему

Интенсивность включения $D-[6-^3H_2]$ -глюкозы клеточными элементами коркового и мозгового слоев тимуса опытных и интактных новорожденных крыс, число зерен серебра ($X \pm S_x$)/усл. ед. площади

Группа новорожденных животных	Время после введения $D-[6-^3H_2]$ -глюкозы				
	20 мин	45 мин	1 ч 30 мин	3 ч	6 ч
Корковый слой тимуса					
Опытная	Уровень фона	$4,11 \pm 0,64$	$9,40 \pm 0,92$	$50,80 \pm 5,38^*$	$16,73 \pm 1,01^*$
Интактная		$1,93 \pm 0,17$	$3,67 \pm 0,50$	$9,20 \pm 1,51$	$37,33 \pm 7,22$
Мозговой слой тимуса					
Опытная	Уровень фона	$15,27 \pm 0,50$	$22,87 \pm 1,18^*$	$63,33 \pm 0,42^*$	$29,27 \pm 1,26$
Интактная		$11,13 \pm 1,43$	$16,27 \pm 0,37$	$29,47 \pm 1,85$	$75,47 \pm 1,26$
$75,47 \pm 1,26$					

* Различия между сравниваемыми значениями статистически достоверны ($P < 0,05$).

му нет метки над единицами. Последние чаще все

Динамика накопления по данным Bennett [12] и шего возраста. В этих экс применяли 3H -фукозу и г метили сохранение метки ток, тогда как у новорож числа гистоавтографов. Узы в органе, видимо, обу тимуса новорожденных к ной глюкозы эпителиоретр 45 мин после введен согласуется с данными Ni их группах в мозговом с телиоретикулоциты без пр

Однократное введени влияет на уровень обмена в коре повышается акти. В мозговом слое отмечает свидетельствует о разной кового и мозгового слоевются с данными иммунодных показаны различия способность синтезировать различные результаты, а также кровяное русло эпителию можно предположить, что оказывает действие на связи. Гистологические д тивности эпителиоретикул в работе Хмельницкого и нить более частое выявление активированных эпителии глюкозы.

Результаты изучения несколько суток после м тельствуют о повышении словлено способностью тников тимоцитов в коре накопления радиоактивной ными процессами и например лимфоцитов.

Выходы

1. Однократное введение $D-[6-^3H_2]$ -глюкозы в коре

2. Различия в динамике и мозговом слоях фракции-5 обусловлены в зонах.

THE EARLY CHANGES OF R OF THE NEW-BORN RATS AF

N. A. Voloshin, V. A. Malyzhev

The early changes of carbohydrate injections are investigated in study the peculiarities of radi

Физиол. журн.—1988.—34, №

итных и интактных животных в веществе тимуса имеется накопление глюкозы, если в корковом слое уменьшить в интактных, то вен серебра на единицу



сле введения в корковый слой:
авторадиографы над лимфоцитами силин-эозином. $\times 630$.

получивших тимозин. Восстановленные зерна площади коркового и лимфоцитами (рис. 2). Эпителиоретикулоциты значительно больше в тимусе опытного животного, которые определяются уже введение радиоактивных графов в обоих слоях наблюдается. В коре тимуса площади сохраняется слой — ниже (см. таблицу) в мозговом слое больше, чем в инфильтрате. По-прежнему

элементами коркового слоя, число зерен

глюкозы

3 ч 6 ч

$50,80 \pm 5,38^*$	$16,73 \pm 1,01^*$
$37,33 \pm 7,22$	$12,70 \pm 1,22$

$63,33 \pm 0,42^*$	$29,27 \pm 1,26$
$75,47 \pm 1,26$	$33,67 \pm 3,78$

и достоверны ($P < 0,05$).

журн.—1988.—34, № 2

му нет метки над единичными активированными эпителиоретикулоцитами. Последние чаще встречаются в органе опытных крыс.

Динамика накопления глюкозы тканью тимуса сходна с таковой по данным Bennett [12] и Clark [13], полученным на животных старшего возраста. В этих экспериментах для изучения углеводного обмена применяли ^{3}H -фукозу и глюкозамин. Однако в дальнейшем авторы отметили сохранение метки на высоком уровне в течение нескольких суток, тогда как у новорожденных животных выявлено резкое снижение числа гистоавтографов. Уменьшение содержания радиоактивной глюкозы в органе, видимо, обусловлено усиленной миграцией лимфоцитов из тимуса новорожденных крыс [4]. Различия в накоплении радиоактивной глюкозы эпитеоретикулоцитами коркового и мозгового слоев через 45 мин после введения свидетельствуют об их гетерогенности, что согласуется с данными Hirokawa [15] и Schuirmann и соавт. [16]. В обеих группах в мозговом слое тимуса встречаются активированные эпитеоретикулоциты без признаков накопления глюкозы.

Однократное введение тимозина фракция-5 (50 мкг) существенно влияет на уровень обмена глюкозы в тимусе новорожденных крыс. Так, в коре повышается активность накопления радиоактивной глюкозы. В мозговом слое отмечено стойкое снижение усвоения глюкозы, что свидетельствует о разной чувствительности эпитеоретикулоцитов коркового и мозгового слоев к тимозину. Полученные результаты согласуются с данными иммунофлюоресцентных исследований [1, 15], в которых показаны различия в способности клеток коркового и мозгового слоев синтезировать различные фракции тимозина. Учитывая полученные результаты, а также данные о возможном выделении тимозина в кровяное русло эпитеоретикулоцитами мозгового слоя [11, 15, 19], можно предположить, что введение экзогенного тималина в ранние сроки оказывает действие на клетки мозгового слоя по принципу обратной связи. Гистологические доказательства снижения функциональной активности эпитеоретикулоцитов после введения тимозина представлены в работе Хмельницкого и соавт. [7]. Подобным образом можно объяснить более частое выявление в мозговом слое тимуса опытных крыс активированных эпитеоретикулоцитов без признаков накопления глюкозы.

Результаты изучения морфологии тимуса взрослых животных через несколько суток после многократного введения тимозина [6, 7] свидетельствуют о повышении пролиферативной активности в коре, что обусловлено способностью тимозина усиливать поступление предшественников тимоцитов в кору органа [10, 17]. Установленное усиление накопления радиоактивной глюкозы в коре, возможно, вызвано аналогичными процессами и направлено на обеспечение активной пролиферации лимфоцитов.

Выводы

1. Однократное введение тимозина повышает интенсивность усвоения $D-[6-^{3}\text{H}_2]$ -глюкозы в коре и снижает — в мозговом слое тимуса.

2. Различия в динамике накопления радиоактивной глюкозы в корковом и мозговом слоях тимуса в норме и после введения тимозина фракции-5 обусловлены гетерогенностью эпитеоретикулоцитов в этих зонах.

THE EARLY CHANGES OF RADIATIVE GLUCOSE ACCUMULATION IN THYMUS OF THE NEW-BORN RATS AFTER SINGLE THYMOSEN INJECTION

N. A. Voloshin, V. A. Malyzhev

The early changes of carbohydrate metabolism in the rat thymus after the thymosin injections are investigated insufficiently. Autoradiographic methods have been used to study the peculiarities of radioactive glucose accumulation in the new-born rat thymus

six hours after thymosin injection. Different kinds of sensitivity of cells of cortical and medullar thymus layers to thymosin are determined. Three groups of epithelial cells in thymus are distinguished as to their ability to accumulate radioactive glucose.

Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Zaporozhie
Institute of Endocrinology and Metabolism,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Голуб М., Мандл Б., Шлегерова Д. Клеточные источники гормона тимуса // Чехосл. мед.— 1979.— 2, № 4.— С. 165—170.
 2. Гриневич Ю. А., Никольский И. С. Гуморальные факторы тимуса и перспективы их применения в онкологии // Эксперим. онкология.— 1982.— 4, № 5.— С. 10—17.
 3. Голлинг Э. В. Клинико-экспериментальное обоснование применения препаратов тимуса для лечения инфекционных и аллергических заболеваний органов дыхания, обусловленных изменениями тимусзависимой системы иммунитета // Журн. ушных, носовых и горловых болезней.— 1977.— № 6.— С. 53—57.
 4. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиография.— М. : Высш. школа, 1977.— 245 с.
 5. Зимин Ю. И. Иммунитет и стресс // Иммунология.— 1979.— 8.— С. 173—198.
 6. Труфакин В. А. Иммuno-морфологические аспекты аутоиммунных процессов.— Новосибирск : Наука, 1983.— 177 с.
 7. Хмельницкий О. К., Гринцевич И. И., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Влияние тималина на морфофункциональное состояние вилочковой железы у мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— 94, № 9.— С. 120—122.
 8. Чеботарев В. Ф. Эндокринная регуляция иммуногенеза — Киев : Здоров'я, 1979.— 152 с.
 9. Шергин С. М., Кудаева О. Т., Сахно Л. В., Лозовой В. П. Влияние тимозина на содержание и соотношение субпопуляций лимфоцитов в тимусе мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1980.— 86, № 6.— С. 768.
 10. Baltimore D. Is Terminal deoxynucleotidyl transferase a somatic mutagen in lymphocyte? // Nature.— 1974.— 248, N 5447.— P. 409—411.
 11. Bekkum D. W. van, Betel, Blankwater M. J. Biologic activities of various thymus preparations // Transpl. Proc.— 1977.— 9, N 1.— P. 1197—1200.
 12. Bennett G. Synthesis and migration of glycoproteins in cells of the rat thymus, as shown by radioautography after ^3H -fucose injection // Amer. J. Anat.— 1978.— 152, N 2.— P. 223—256.
 13. Clark S. L. Incorporation of sulfate by the mouse thymus: its relation to secretion by medullary epithelial cells and to thymus lymphopoiesis // J. Exp. Med.— 1968.— 128, N 5.— P. 927—949.
 14. Goldstein A. L., Guna A., Zats M. M. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1972.— 69, N 7.— P. 1800—1803.
 15. Hirokawa K. Age-related changes in localisation of thymosin in the human thymus // Thymus.— 1982.— 4, N 1.— P. 19—29.
 16. Schuurman H. J., Wijngaert F. P. Van de, Delvoe L. Heterogeneity and age dependency of human thymus reticulo-epithelium in production of thymosin components // Ibid.— 1985.— 7, N 7.— P. 13—23.
 17. Pazmino N. H., Uhle N., Goldstein A. Induction in vivo of terminal deoxynucleotidyl transferase by thymosin in bone marrow cells from athymic mice // J. Exp. Med.— 1978.— 147, N 3.— P. 708—718.
 18. Trainin N. Thymic hormones and immune response // Physiol. Rev.— 1974.— 54, N 2.— P. 272—313.
 19. Willis-Carr J. I., Ocns H. D., Wedgood R. J. Induction of T-lymphocyte differentiation by thymus epithelial cell monolayers // Clin. Immunol. and Immunopathol.— 1978.— 10, N 2.— P. 315—324.

Запорож. мед. ин-т

Запорож. мед. ин-т
М-ва здравоохранения УССР;
Киев. ин-т эндокринологии и

Киев. ин-т эндокринологии и обмена веществ
М-ва здравоохранения УССР

М-ва здравоохранения УССР

Поступила 25.12.85

УДК 612.357+612.397—092.9.32

Сезонные особенности перекисного окисления

Н. П. Скакун, И. Ю. Высол

Установлена сезонная ней биохимических про-
бания интенсивности и
и секреции желчных ющей ведущую роль
Как известно, геофизи-
ляются периодические жительности светового других факторов сред-
судя по годовым сдвигам биоритмам присуще не-
тельное значение. Как физические периодичные самоподдерживающие раскрыта недостат-
было изучение сезонных крыс и их сопоставления окисления липидов в пересия в крови.

Методика

Опыты выполнены на бельных содержали на стандарт жима. Желчь у каждой крысы суммарно за 4 часа. Показ масса желчи ($\text{г}/\text{кг}$), выдели В порциях желчи, собраны центрифугацию желчных кислот холестерина ($\text{мкмоль}/\text{л}$). Удалот, билирубина и холестерина желчных кислот проводили трацию определяли флюорометрию билирубина и холе-

О состоянии перекисно-новых коньюгатов (ДК) и в микромоль на грамм и на деляли концентрацию сульф цельной крови и выражали $-S-S-$ -связей использовали ный раствор сульфита натрия

Результаты и их обсуждение

Как следует из результата, биоритмы влияют на жи-
масса желчи находится в сезонах она постепенно табл. 1). Если содержать принять за 100 %, то в весной — 36 %, летом — чается (см. табл. 2). Понцентрация холатов

Физиол. журн.—1988.—34, №