

ed that slightly mineralized water (5.5 % of the body weight) induces an analog of «Naftusya» increases used in the experiments: distilled (at the temperature of 80 °C for others induce minimal and maximal and as against the native «Naftusya» under study to isotony by sodium salts peculiarities of their action salt and organic composition of e are factors which affect gastrin and thermolabile inhibitors of gastric water heating.

и действия питьевых минеральных вод Грузии: Тбилиси, 1983 г.:

Влияние минеральной воды «Нафтуса» — 1987. — № 1. — С. 20—24.

и действия питьевых минеральных вод Грузии — 1979. — № 6. — С. 34—40.

Роль органических веществ в физиологии «Нафтуса» // Вопросы экспериментальной физиологии: Тр. ЦНИИХФ. — М., 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Влияние питья минеральной воды больных язвенной болезнью желудка — 1979. — № 6. — С. 40—43.

и др. Влияние воды «Нафтуса». — Киев: 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Влияние воды «Нафтуса» на эндокринные функции кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. — Л.: Наука, 1983. — 272 с.

и др. Влияние действия питьевых лечебных вод на физиологию пищеварения и всасывания. — Львов, 1986. — С. 19—20.

и др. Гормональные механизмы действия минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Ранние эндокринные реакции на действие минеральных вод для лечения язвенной болезни // V Респ. съезд кураторологов, 1983 г.: Тез. докл. — Тбилиси, 1983. — № 5. — С. 5—11.

и др. Влияние минеральных вод на лечение язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Влияние термически обработанной минеральной воды на печень крыс (экспериментально). — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Влияние воды «Нафтуса» на физиологию кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Роль гастроинтестинальных физиологических и лечебных вод в лечении больных заболеваниями желудочно-кишечного тракта. — Моршин, 1986. — С. 40—43.

и др. Органических веществ и условий их действия // Дис. ... канд. хим. наук. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

и др. Физиологическое и лечебное действие минеральных вод // Вопросы кураторологии. — 1986. — № 6. — С. 40—43.

18. Adrian T. E., Ghatei M. A., Modlin I. M. Release of gastrointestinal hormones following an oral water load // *Experientia*.— 1979.— 35.— P. 1521—1522.
19. Behar J., Hitchings M., Smyth R. D. Calcium stimulation of gastrin and gastric acid secretion: effect of small doses of calcium carbonate // *Gut*.— 1977.— Vol. 18.— P. 442—448.
20. Feurle G. E. The action of antacids on serum gastrin concentrations in man // *Klin. Wschr.*— 1977.— 55, N 21.— P. 1039—1042.
21. Holst J. J., Christiansen J., Kühl C. The enteroglucagon response to intrajejunal infusion of glucose, triglycerides, and sodium chloride, and its relation to jejunal inhibition of gastric acid secretion in man // *Scand. J. Gastroenterol.*— 1976.— 11, N 3.— P. 297—304.
22. Inoue K., Fried G. M., Wiener I. et al. Effect of divalent cations on gastrointestinal hormone release and exocrine pancreatic secretion in dogs // *Amer. J. Physiol.*— 1985.— 248, N 1, Pt. 1.— P. 28—34.
23. Matsuyama T., Namba M., Shima K. et al. Release of gut GLI by luminal hypotonicity // *Hormone and Metab. Res.*— 1981.— 13.— P. 471—472.
24. Mielke U. Heilwassertrinkkuren bei Magen-Darm-Erkrankungen // *Z. angew. Bäder- u. Klimaheilk.*— 1978.— 25.— S. 377—381.
25. Peterson W. L., Walsh J. H., Richardson C. T. Cimetidine blocks antacid-induced hypergastrinemia // *Gastroenterology*.— 1986.— 90, N 5.— P. 48—52.
26. Preston D. M., Adrian T. E., Christofides N. D. et al. Positive correlation between symptoms and circulating motilin, pancreatic polypeptide and gastrin concentrations in functional bowel disorders // *Gut*.— 1985.— 26, N 10.— P. 1059—1064.
27. Smidt-Kessen W. Mineralwassertrinkkuren bei der Behandlung von Magen-Darm-Erkrankungen // *Arch. physikal. Ther.*— 1969.— Bd. 21, Heft 5.— S. 305—311.
28. Teickmann R. K., Swierczek J. S., Rayford P. L. et al. Effect of duodenal osmolality on gastrin and secretin release and on gastric and pancreatic secretion // *Wld. J. Surg.*— 1979.— 3, N 5.— P. 623—630.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 14.04.87

УДК 612.122.94.8:612.017.12

Стимуляция антителообразования рецепторными структурами тимоцитов, отделяемыми под влиянием олигопептидного фактора тимуса

И. А. Безвершенко, А. Л. Сипельникова, Л. М. Быкова, М. Г. Бойко

Растворимые рецепторы Т-лимфоцитов, связывающие IgG, обладают иммунорегуляторными свойствами. В частности, растворимый иммуноглобулинсвязывающий фактор Т-лимфоцитов подавляет продукцию антител плазматическими клетками селезенки *in vitro* [11]. Ранее нами было показано, что рецепторы к аутологичным эритроцитам, отделяемые тимоцитами мышей при нагревании в изотонической среде при температуре 45 °C, адсорбируются иммобилизованными IgG кролика или человека. На этом основании предполагали, что рецепторы к аутологичным эритроцитам отделяются при нагревании в одном блоке с рецепторами к IgG [4]. Отделение этих блоков сопровождается снижением процента тимоцитов, образующих розетки с аутологичными эритроцитами (АРОК).

Снижение процента АРОК наблюдается и после инкубации тимоцитов при температуре 37 °C с олигопептидным фактором тимуса (ОФТ), обладающим свойствами циркулирующего гормона тимуса и выделенным ранее из диализабельного экстракта вилочковой железы [2], а также под влиянием циркулирующего нонапептида (Facteur thymique serique) — одного из гормонов вилочковой железы [5]. Механизм снижения процента АРОК при воздействии ОФТ на тимоциты остается неясным. Предполагают, что одна из возможных причин этого явления — отделение тимоцитами рецепторов к аутологичным эритроцитам. Цель настоящей работы заключается в проверке этого предположения, а также в изучении возможных иммунорегуляторных свойств тех структур, которые отделяют тимоциты под влиянием ОФТ.

Методика

В опытах использовали тимусы мышей линии СВА двухмесячного возраста. Тимоциты выделяли с помощью слабо притертого гомогенизатора в избытке раствора Хенкса, фильтровали через капроновую сетку, дважды промывали раствором Хенкса и подсчитывали клетки в камере Горяева. Число живых клеток оценивали методом исключения трипанового синего. Образование АРОК изучали по методу Chaggeire и соавт. [7].

ОФТ выделяли из водно-солевого экстракта тимуса методом хроматографии на присоединенных к сефарозе 4В (фирма «Pharmacia», Швеция) эуглобулинах, как опи-

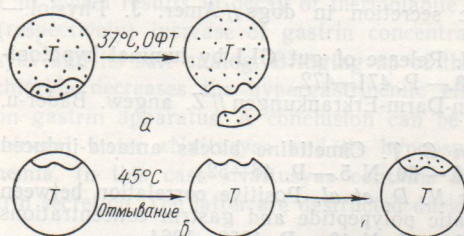


Рис. 1. Схема опыта по переносу рецепторных структур, ответственных за аутологичное розеткообразование, с обработанных олигопептидным фактором тимуса (ОФТ) тимоцитов (а) на прогретые и отмытые сингенные тимоциты (б).

Т — тимоцит мыши линии СВА.

сано ранее [2]. Для приготовления сорбента сыворотку быка диализировали против нескольких смен больших объемов дистиллированной воды и центрифугировали при 1000 g в течение 30 мин. Преципитат трижды промывали дистиллированной водой и ресуспендировали в минимальном объеме 0,14 моль/л NaCl; pH раствора доводили до 8,6 добавлением кристаллического NaHCO_3 . Эуглобулины, ресуспендированные в этом растворе, присоединяли к сефарозе 4В, активированной BrCN [9]. Диализабельный экстракт вилочковой железы теленка, полученный, как описано ранее [2], пропускали через колонку с иммобилизованными эуглобулинами, уравновешенными 0,14 моль/л NaCl, забуференного 0,01 моль/л NaHCO_3 , pH 7,2, до оптической плотности не выше 0,005 при 245 нм. Элюцию проводили дистиллированной водой и контролировали спектрофотометрически при 245 нм. Элюат лиофилизировали.

Для изучения биологической активности лиофилизированный материал помещали в раствор Хенкса (100 мкг в 1 мл по сухой массе) и готовили разведения в той же среде в интервале концентрации ОФТ 10^{-4} — 10^{-11} г/мл. Тимоциты (10^7 /мл) инкубировали с ОФТ различной концентрации в течение 90 мин при температуре 37°C. Затем дважды отмывали раствором Хенкса и изучали их способность формировать розетки с аутологичными эритроцитами [7]. Результаты оценивали с помощью отношения $\frac{K-0}{K}$, где 0 — число АРОК в опыте из расчета на 100 тимоцитов; К — число АРОК в контроле из расчета на 100 тимоцитов. Активность ОФТ обусловлена пептидом молекулярной массой 1 000 Д [1], она теряется после обработки препарата проназой. Для N-концевого анализа препарат ОФТ получали с помощью двух хроматографий: на SE-сефадексе и ДЕАЕ-сефацелле и хроматографией на иммобилизованных эуглобулинах. Биологическую активность определяли на каждом этапе очистки. N-концевой анализ проведен Радавским (Ин-т биоорганической химии АН УССР) по модифицированной методике Gray [10]. Обнаружены два N-конца (серин и глутаминовая кислота), NH_2 -группа лизина и OH -группа тирозина внутри цепи.

Для изучения механизма снижения аутореактивности тимоцитов под действием ОФТ проводили опыты по схеме, представленной на рис. 1. Тимоциты мышей линии СВА (10^7 клеток/мл) в растворе Хенкса инкубировали с ОФТ (10 мкг/мл) при температуре 37°C в течение 90 мин, после чего клетки центрифугировали 10 мин при 1 500 g и надосадочную жидкость отбирали для опыта. Контролем служила надосадочная жидкость, полученная после инкубации той же клеточной взвеси со средой. Сингенные тимоциты прогревали при температуре 45°C в течение 1 ч и отмывали 2 раза раствором Хенкса (при этом клетки отделяют в среду часть рецепторов для аутологичных эритроцитов [4]). После этого инкубировали прогретые и отмытые, лишенные рецепторов к аутологичным эритроцитам тимоциты с супернатантами, полученными после инкубации тимоцитов с ОФТ и без него. Условия инкубации: 1 ч при температуре 4°C. К 3 мл супернатанта приливали по 0,4 мл суспензии тимоцитов ($15 \cdot 10^6$ клеток/мл).

Для изучения влияния отделяемых под действием ОФТ структур на антителопродукцию тимоцитов мыши проводили следующий опыт. Получали тимоциты от 20

мышей линии СВА на две части: одна — концентрация при температуре 2 000 g в (кроличьи IgG и соавт. [9]) вания IgG-целлюлозы элюировали 2%

Влияние олигопептидного фактора тимуса (ОФТ) на отделение аутологичных эритроцитов от тимоцитов

Номер опыта	Аутологичные эритроциты	
	интактные	отделенные
1	18	10
2	10	21
3	21	22
4	22	10
5	10	30
6	30	—
7	—	20
8	20	30
9	30	18
10	18	27
11	27	—

Примечание: в опытах использованы методы

опытный материал: 10⁸ тимоцитов, эритроцитов, их спленотомических разностей

Результаты

Инкубация тимоцитов последовательно с тимоцитами (при инкубации тимоцитов с ним, обнаружено, что способ

Ранее было показано, что при температуре 45°C тимоциты переходят в жизнеспособное состояние. Если прогретые тимоциты инкубировать с супернатантом, полученным после инкубации тимоцитов с ОФТ и без него, то тимоциты теряют способность к образованию розеток с эритроцитами. Т-лимфоциты мыши в тазу человека (4)

мышей линии СВА. Суспензию тимоцитов (10^7 клеток/мл) в растворе Хенкса делили на две части по 60 мл каждая. К одной из них (опыт) добавляли ОФТ (конечная концентрация 100 мкг/мл), другая часть служила контролем. Обе пробы инкубировали при температуре 37 °С в течение 90 мин. После инкубации пробы центрифугировали при 2000 g в течение 10 мин и к супернатантам добавляли по 200 мг IgG-целлюлозы (кроличьи IgG ковалентно присоединяли к целлюлозе по методу, описанному March и соавт. [9]). Пробы инкубировали при температуре 37 °С в течение 2 ч. После отмывания IgG-целлюлозы водой и физиологическим раствором связавшийся материал элюировали 25 мл 0,01 моль/л HCl и лиофилизировали. После этого контрольный и

Влияние олигопептидного фактора тимуса (ОФТ) на отделение рецепторов тимоцитов к аутологичным эритроцитам

Номер опыта	Ауторозеткообразующие тимоциты, %			
	интактные	прогретые при температуре 45 °С	прогретые, инкубированные с супернатантом интактных клеток	прогретые, инкубированные с супернатантом активированных ОФТ клеток
1	18	—	10	32
2	10	6	6	9
3	21	11	11	28
4	22	5	25	27
5	10	9	9	14
6	30	12	21	29
7	—	19	20	28
8	20	19	15	24
9	30	21	24	26
10	18	5	5	7
11	27	12	11	18

Примечание. $P < 0,01$; результаты обработаны методом прямых разностей.

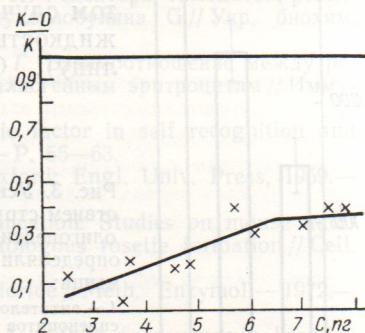


Рис. 2. Влияние различных концентраций (C, пг) олигопептидного фактора тимуса (ОФТ) на ауторозеткообразование тимоцитов, %.

К — ауторозеткообразование интактных тимоцитов, О — инкубированных с ОФТ тимоцитов.

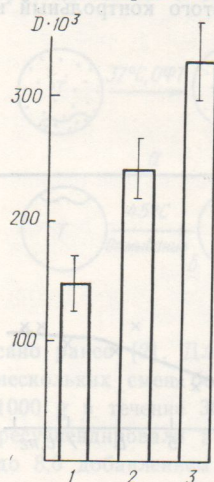
опытный материал вводили мышам линии СВА внутривенно в дозе, соответствующей 10^8 тимоцитам, одновременно с внутрибрюшинным введением 0,2 мл 5 %-ной взвеси эритроцитов барана (ЭБ). Через 5 сут мышам забивали и изучали антителопродукцию их спленоцитов по Simpson [13]. Статистическую обработку выполняли методом прямых разностей [6].

Результаты и их обсуждение

Инкубация тимоцитов с ОФТ в течение 90 мин в диапазоне концентраций последнего 10^{-4} — 10^{-11} г/мл сопровождается уменьшением процента тимоцитов, формирующих АРОК, по сравнению с интактными тимоцитами (рис. 2). В надосадочной жидкости, полученной после инкубации тимоцитов с ОФТ (10 мкг/мл) при температуре 37 °С и без него, обнаружены рецепторы к аутологичным эритроцитам (таблица).

Способ обнаружения рецепторов основан на следующих данных. Ранее было показано, что Т-лимфоциты периферической крови человека теряют рецепторы к ЭБ при инкубации в течение 1 ч при температуре 45 °С в изотонической среде. В результате рецепторы к ЭБ переходят в инкубационную среду. Однако Т-лимфоциты не теряют жизнеспособности [10]. Прогретые и отмые Т-лимфоциты периферической крови теряют способность формировать розетки с ЭБ (Е-РОК). Если прогретые при температуре 45 °С и отмые Т-лимфоциты проинкубировать при температуре 4 °С с надосадочной жидкостью, полученной после прогревания таких же лимфоцитов, способность Т-лимфоцитов формировать Е-РОК восстанавливается. Отделение рецепторов к ЭБ и потеря способности формировать Е-РОК не происходят при инкубации Т-лимфоцитов при температуре 37 °С в тех же условиях. Тимоциты мыши в таких же условиях, как и Т-лимфоциты периферической крови человека (45 °С, в изотонической среде в течение 1 ч), теряют рецепто-

ры к аутологичным эритроцитам. Способность прогретых и отмытых тимоцитов мыши формировать АРОК восстанавливается, по крайней мере частично, после инкубации с надосадочной жидкостью, содержащей эти рецепторы, при температуре 4 °С [3]. Рецепторы, выделенные из надосадочной жидкости хроматографией на иммобилизованных IgG, также восстанавливают число АРОК у прогретых и отмытых тимоцитов. Надосадочная жидкость инкубированных с ОФТ тимоцитов восстанавливает процент АРОК у прогретых и отмытых сингенных тимоцитов, а



надосадочная жидкость тимоцитов, инкубированных в тех же условиях без ОФТ, не обладает таким свойством. Таким образом, число АРОК у прогретых и отмытых тимоцитов существенно возрастает лишь в том случае, если они инкубировались с надосадочной жидкостью обработанных ОФТ тимоцитов (см. таблицу). Следовательно, снижение процента АРОК

Рис. 3. Усиление антителопродукции спленоцитов мыши под действием структур, отделяемых тимоцитами мыши, активированными олигопептидным фактором тимуса (ОФТ). Антителопродукцию определяли по уровню гемолиза эритроцитов барана спленоцитами мыши:

1 — антителопродукция контрольных животных; 2 — антителопродукция спленоцитов животных, получавших материал интактных тимоцитов; 3 — антителопродукция спленоцитов животных, получавших материал активированных ОФТ тимоцитов. D — оптическая плотность при 413 нм.

после обработки тимоцитов ОФТ обусловлено слущиванием части рецепторов к аутологичным эритроцитам.

Рецепторы, выделенные из надосадочной жидкости инкубированных с ОФТ и без него тимоцитов хроматографией на иммобилизованных IgG, усиливают ответ антителопродукторов селезенки мышей линии СВА на ЭБ. Как видно на рис. 3, материал, полученный из надосадочной жидкости контрольных животных, при введении сингенным мышам одновременно с 0,2 мл 5 %-ной взвеси ЭБ усиливает ответ антителопродукторов примерно на 70 %, а материал от тимоцитов, инкубированных с ОФТ, — примерно на 130 %. Таким образом, ОФТ способствует отделению растворимых рецепторов к IgG, влияющих на активность антителопродукторов.

Описанные в литературе растворимые рецепторы к IgG при испытании *in vitro* подавляли ответ антителопродукторов [11]. В частности, тимоциты кроликов, иммунизированных ЭБ, полученные на 7-е сутки после иммунизации, подавляли ответ аутологичных антителопродукторов селезенки при непродолжительном совместном культивировании. Тимоциты иммунизированных кроликов при короткой (4 ч) инкубации секретируют факторы, которые воспроизводят эффект клеток [12].

Расхождение наших результатов и данных, имеющих в литературе, могут объясняться структурной и функциональной гетерогенностью растворимых рецепторов к IgG, а также тем, что изучение регуляторных свойств отделяемых тимоцитами структур в наших опытах выполнено *in vivo*.

THE ANTIBODY RESPONSE STIMULATION BY RECEPTOR STRUCTURES OF THYMOCYTES SHED UNDER THE INFLUENCE OF OLIGOPEPTIDE THYMIC FACTOR

I. A. Bezvershenko, A. L. Sinelnikova, L. M. Bykova, M. G. Boyko

Oligopeptide thymic factor (OTF) possesses activity similar to Bach's «Facteur thymique serique» decreases the capacity of mouse thymocytes to form autologous rosettes. Receptors for autologous erythrocytes have been found in the supernatant obtained after incubation of thymocytes with OTF at 37 °C for 90 min. Receptor structures shed under

the OFT influence on the autologous rosette formation of sheep erythrocytes.

Institute of Endocrinology, Ministry of Public Health, Kiev, U.S.S.R.

1. Безвершенко И. А., Синельникова А. Л., Быкова Л. М., Бойко М. Г. // Физиол. журн. 1988, т. 34, № 3.
2. Безвершенко И. А., Синельникова А. Л., Быкова Л. М., Бойко М. Г. // Физиол. журн. 1988, т. 34, № 3.
3. Безвершенко И. А., Синельникова А. Л., Быкова Л. М., Бойко М. Г. // Физиол. журн. 1988, т. 34, № 3.
4. Безвершенко И. А., Синельникова А. Л., Быкова Л. М., Бойко М. Г. // Физиол. журн. 1988, т. 34, № 3.
5. Bach M. A., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
6. Bailey N. T. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
7. Charreire J., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
8. Gray W. R. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
9. March S. C., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
10. Mendes N. F., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
11. Rabourdin-Coatelle A., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
12. Richter M., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.
13. Simpson M., et al. // J. Immunol. 1974, 112, 121-125.

Киев, ин-т эндокринологии, М-ва здравоохранения УССР.

УДК 612.32:616.33

Влияние β-адренорецепторов на секреторную функцию

С. И. Швыдченко

β-Адреноактивные вещества оказывают влияние на секреторную функцию клеток желудочно-кишечного тракта.

Влияние β-адренорецепторов на секреторную функцию клеток желудочно-кишечного тракта изучено в эксперименте на крысах. Введение β-адреномиметиков приводит к увеличению секреции слизи и воды в желудке и тонком кишечнике. Это действие связано с активацией β-адренорецепторов. Поэтому препараты β-адреномиметиков могут использоваться для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта.