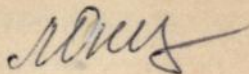


Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П.Комісаренка АМН України

На правах рукопису

ОНИЩЕНКО Любов Іванівна



ВПЛИВ СИСТЕМИ ОЛІГОПЕПТИДНИЙ ЧАВНИК ТИМУСУ - ТИМО-
ЦИТИ НА СОМАТОТРОПНУ ФУНКЦІЮ ГІПОФІЗУ

14.00.03 - ендокринологія

14.00.36 - алергологія і імунологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1993

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00756528 (X)

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України

Науковий керівник - доктор медичних наук, професор

Безверщенко Іван Андрійович

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор Кононенко В.Я.

кандидат медичних наук Самбур М.Б.

Провідна установа - Український НДІ фармакотерапії

ендокринних захворювань

Захист відбудеться "5" квітня 1994 р. о 13⁰⁰ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради з ендокринології Д 088.14.01 при Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України /254114, Київ, вул. Вишгородська, 69/.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України.

Автореферат розісланий "4" березня 1994 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор медичних наук

Безверха Т.П.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Вивчення механізмів, що контролюють соматотропну функцію гіпофізу, зокрема, ролі лімфоїдної системи в її регуляції посідає важливе місце в сучасній ендокринології. Відомо, що тимус є ендокринним органом, про що свідчать як його гістологічні особливості, так і результати неонатальної тимектомії. Гормони, які контролюють диференціювання Т-лімфоцитів, виділені з тимусу й охарактеризовані. Неонатальна тимектомія супроводжується не лише втратою імунних функцій, а й затримкою росту, морфологічними змінами в гіпофізі.

Можливо, зникнення гормонів тимусу, викликане тимектомією, має значення в порушенні виділення соматотропіну: відомо, що інкубація соматотропоцитів з тимозином (фракція V) стимулює цей процес. Однак існують дані, які свідчать про те, що втрата гормональної функції залози - не єдина причина затримки росту: її можна усунути шляхом введення сингенних лімфоцитів дорослих тварин, виділених із лімфовузлів, неонатально тимектомованим тваринам. Тимектомія не ефективна, якщо вона виконана через декілька днів після народження, що пов'язано з виселенням певних популяцій Т-лімфоцитів у периферійні лімфоїдні органи.

Головну роль у регулюванні росту відіграє, як відомо, соматотропний гормон. Соматотропну функцію гіпофізу контролюють як глюкокортикоїди, так і тиреоїдні гормони. Зокрема, в дослідках на культивованих лініях соматотропоцитів показано, що трийодтиронін та гідрокортизон індукують продукування соматотропного гормону (СТГ) гіпофізу. В дослідках *in vivo* спостерігається протилежний ефект. За гіперкортицизму інтенсивність продукування СТГ знижується.

Виходячи з наведеного, логічно припустити, що дія на соматотропну функцію гіпофізу *in vivo* як чинників тимусу, так і глюкокор-

тикоїдів опосередкована клітинами, які реагують на глюкокортикоїди та чинники тимусу. Такими клітинами можуть бути Т-лімфоцити, оскільки відомо, що введення неонатально тимектомованим тваринам сингенних лімфоцитів усуває затримку росту. Лімфолітична дія глюкокортикоїдів відома.

Під час диференцировки Т-лімфоцити під впливом гормонів тимусу можуть відокремлювати біологічно активні чинники, зокрема, рецепторні структури, споріднені з аутологічними еритроцитами й стимулювати функцію антиліпопродукентів селезінки.

Оскільки затримка росту після неонатальної тимектомії усувається шляхом введення сингенних тимоцитів, можна припустити, що властивість стимулювати функцію гіпофізу (якщо припинення затримки росту залежить від цього) притаманна структурам, які відокремлюються з поверхні Т-лімфоцитів певного ступеня зрілості.

Отже, в'ясування механізмів, що контролюють соматотропну функцію гіпофізу, зокрема, ролі лімфоїдної системи в її регулюванні, є актуальною проблемою, оскільки очевидна необхідність пошуку засобів впливу на соматотропну функцію гіпофізу з метою усунення порушень росту за деяких ендокринопатій, наприклад, гіперкортицизму.

Виходячи з викладеного вище, метою роботи було експериментальне вивчення впливу Т-лімфоцитів та відокремлених ними під впливом олігопептидного чинника тимусу (складової частини вілозе-ну) рецепторних структур на соматотропну функцію гіпофізу.

Основні завдання дослідження:

1. Визначити вміст СТГ у гіпофізі тимектомованих мишей після введення сингенних тимоцитів та гідрокортизону;
2. Вивчити біологічні властивості та хімічну структуру олігопептидного чинника тимусу;

3. Дослідити вплив рецепторних структур, відокремлених тимоцитами під дією олігопептидного чинника тимусу, на соматотропну функцію гіпофізу у тимектомованих тварин;

Наукова новизна досліджень.

Одержано нові дані щодо впливу Т-лімфоцитів та відокремлених від їх поверхні рецепторних структур на соматотропну функцію гіпофізу. Ці дані сприяють з'ясуванню механізмів, що контролюють соматотропну функцію гіпофізу, зокрема ролі лімфоїдної системи в її регулюванні.

В роботі вперше показано, що підвищення вмісту СТГ в гіпофізі тимектомованих тварин досягається шляхом введення біологічно активних структур, відокремлених тимоцитами під впливом олігопептидного чинника тимусу.

Науково-практична значимість роботи.

Одержані дані розширюють уявлення про роль лімфоїдної системи в регулюванні соматотропної функції гіпофізу, а також показують можливість корекції соматотропної функції гіпофізу за гіперкортицизму, що виникає внаслідок введення стероїдів, шляхом стимуляції Т-лімфоцитів олігопептидним чинником тимусу.

Основні наукові положення, які вносяться на захист:

1. Вплив тимусу на соматотропну функцію гіпофізу опосередкований саме тимоцитами і не залежить від макрофагів.

2. Введення гідрокортизону одночасно з сингенним переносом тимоцитів тимектомованим тваринам призводить до прискорення накопичення соматотропіну в гіпофізі реципієнтів.

3. Структури, відокремлені тимоцитами під впливом олігопептидного чинника тимусу, викликають підвищення вмісту СТГ в гіпофізі.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались на V

Українській конференції "Корекція порушень імунологічної реактивності" (1983), IV Всесоюзному симпозиумі "Регуляція імунного гомеостазу" (1986), VI Республіканській конференції "Актуальні проблеми імунотерапії" (1988), науковій конференції "Біостимулятор-93" (1993), на конференціях молодих вчених і спеціалістів Харківського НДІ ендокринології та хімії гормонів (1986) і Київського НДІ ендокринології та обміну речовин (1983-1988).

Публікації. Основні положення дисертації викладені в 12 наукових публікаціях.

Структура та обсяг роботи.

Дисертація викладена на 105 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, 9 розділів експериментальних досліджень, опису одержаних результатів та їх обговорення, практичних рекомендацій, висновків та списку літератури, який включає 61 вітчизняний та 129 іноземних авторів. Робота проілюстрована таблицями, рисунками.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на мишах - самцях лінії СВА, мишах лінії С57 В1/6, а також щурах лінії Wistar.

Вміст соматотропіну в гіпофізі визначали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі за наявності додецилсульфату натрію (Ф.П.Мартиненко, 1983), за виключенням того, що гелі забарвлювали 0,25% розчином Кумассі замість амідосварчу.

В дослідях використано реактиви та прилад фірми "Serva" (Німеччина), додецилсульфат натрію й гідрокортизон фірми "Reanal", "Gedeon Richter" (Угорщина).

Кількісне визначення соматотропіну (частки серед інших білків гіпофізу - в %) здійснювали за допомогою денситометрії, використовуючи приставку до спектрофотометра "Spectord M-40" (Німеччина).

Олігопептидний чинник тимусу, який ми використовували для прискорення диференціювання тимоцитів і відокремлення рецепторних структур, отримували з тимусу великої рогатої худоби (І.А.Бевершенко, 1979) шляхом відокремлення сполук з молекулярною масою 600 дальтон за допомогою діалізу через штучну плівку фірми Viscog (препарат вілоген), хроматографування на іммобілізованих еуглобулінах. З цієї метою еуглобуліни сироватки крові бика приєднували до BgCN-активованої сефарози В і використовували як сорбент. На колонку з іммобілізованими еуглобулінами наносили діалізат тимусу (вілоген) і елювали спочатку 0,14 М NaCl у 0,01 М фосфатному буфері (рН 7,2), а потім після відмивання цим же буфером проводили елюцію дистильованою водою. Профіль елюції контролювали спектрофотометрично (280 нм). Елюований матеріал ліофілізували.

Активацію сефарози В здійснювали за допомогою розчину BgCN в ацетонітрилі, як описано (March et al, 1974).

Про активність чинника тимусу судили з його здатності викликати зниження відсотка аутологічних розеток, що утворюються тимоцитами мишей (Chargreire, 1980).

Щоб з'ясувати хімічну природу біологічно активного олігопептидного чинника тимусу, його розчин піддавали розщепленню іммобілізованою на целюлозі проназою. Іммобілізацію пронази на мерсеризованій целюлозі здійснювали, як описано (March et al, 1974). Целюлозу піддавали мерсеризації в 5-N.NaOH в атмосфері азоту протягом двох діб при 40°C з наступною нейтралізацією концентрованою HCl. Целюлозу відмивали дистильованою водою й активували BgCN. Про активність кон'югату целюлоза-проназа судили з гідролізу альбуміну: кількість його, що не розщепився визначали за допомогою біуретової реакції.

Розділяли тимоцити мишей в градієнті щільності фікол-урогра-

фіну 1,065; 1,071; 1,073; 1,095 г/см³, що мігрували в ріані шари градієнту. Тимоцити (10⁷ кл/мл) відділяли, відмивали 0,14 М NaCl і досліджували, як вони формували роетки з аутологічними еритроцитами (Chargreire, 1980).

Рецепторні структури тимоцитів отримували, інкубуючи клітини (10⁷ кл/мл) з олигопептидним чинником і без нього при 37⁰С протягом 1,5 год. Після інкубації тимоцити центрифугували (10 хв, 1500 об/хв), до надосадової рідини додавали сорбент-IgG целюлоза і знов інкубували 20 год при 4⁰С.

Для приготування IgG-целюлози використовували IgG кроля, який отримували з сироватки крові за допомогою відомого методу (Baumstark та ін., 1964). Потім його ковалентно приєднували до целюлози (March et al., 1974). До 1 мл щільного осаду целюлози приєднувалось 1-5 мг білка.

Сорбент після інкубації з надосадовою рідиною тимоцитів відмивали дистильованою водою, 0,14 М NaCl, дистильованою водою. Елюювали 0,01 М HCl при 4⁰С. Отриманий препарат лісфілізували.

Належність отриманого матеріалу до плазматичної мембрани тимоцитів підтверджується тим, що в складі відокремлених структур є 5'-нуклеотидаза (маркерний фермент плазматичної мембрани) та мембранний маркер Т-клітин Thy-1 антиген.

Вплив сингенного переносу Т-лімфоцитів та відокремлених з їх поверхні структур вивчали на дорослих молодих тваринах, яких було тимектомовано загальноживаним методом (Наімов et al., 1971). Після тимектомії тварин витримували 6-8 місяців.

Тимектомованим мишам внутрішньовенно вводили 10⁸ сингенних тимоцитів, одержаних від молодих мишей вагою 16-18 г. Частину тварин декапітували на першу, а частину на третю добу після введення клітин. Частині тварин у день введення тимоцитів вводили внут-

рiшньоочередовино гiдрокортизон по 1 мг, щоб зруйнувати введенi клiтини in vivo i дослiдити вплив цього процесу на вiмст соматотропiну у гiпофiзi. За контроль правили тимектомованi мишi, яким не вводили клiтини; частинi контрольних тварин вводили гiдрокортизон у тiй же дозi (1 мг/миш), щоб дослiдити, чи є вплив гiдрокортизону на вiмст соматотропiну у гiпофiзi, опосередкований тимоцитами. Для дослiдження об'єднували гiпофiзи вiд трьох мишей i визначали вiмст соматотропiну у вiдокремлених пiсля декапiтацiї гiпофiзах [40].

Поруч з цим вивчали вплив вiдокремлених вiд тимоцитiв структур, якi вiдокремлюються з поверхнi тимоцитiв пiд дiєю олигопептидного чинника тимусу [11]. Тимектомованим мишам та щурам вводили кiлькiсть структур, вiдокремлюваних вiд тимоцитiв, яку одержано вiд 10^8 тимоцитiв пiд дiєю олигопептидного чинника та без нього. За контроль правили тимектомованi тварини, яким не вводили структури; частинi тварин вводили структури, одержанi вiд такої ж кiлькостi тимоцитiв i на такий же спосiб вiд клiтин, iнкубованих без чинника.

Групам тимектомованих тварин вводили препарати структур i дослiджували вiмст соматотропiну в гiпофiзi через 10 хв, 1 год, 1,5 год, 3 год, 5 год, одну добу та двi доби пiсля введення. Найбiльше зростання вiмсту соматотропiну в гiпофiзi тимектомованих тварин спостерiгалось наступної доби пiсля введення структур. Тому переважно бiльшiсть дослiджень вiмсту соматотропiну у гiпофiзi виконано через одну добу пiсля введення структур.

Одержанi данi обробляли за допомогою методiв прямих i не прямих рiзниць з використанням критерiя Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛIДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Вплив гідрокортизону й сингенного переносу тимоцитів на вміст соматотропіну в гіпофізі дорослих тимектомованих мишей

Виходячи з того, що пригнічення продукування соматотропіну за гіперкортицизму може бути пов'язане з руйнуванням частини лімфоцитів, зокрема Т-лімфоцитів, і що вони можуть бути тими клітинами посередниками, через які здійснюється стимулююча чи пригноблююча дія гормонів на аденогіпофіз, ми вивчали вплив гідрокортизону й сингенного переносу Т-лімфоцитів на вміст соматотропіну в гіпофізі мишей. Популяційний склад Т-лімфоцитів дорослих тварин може істотно змінюватися після тимектомії. Таким чином, у них може не бути певних популяцій Т-лімфоцитів, які є об'єктом дії гідрокортизону. Тому досліди провадили на тимектомованих тваринах.

Виявилось, що введення сингенних тимоцитів молодих тварин тимектомованим мишам не впливає на вміст соматотропіну в гіпофізі на першу добу після введення, проте на третю добу втричі істотно він збільшується (рис.1.) ($p < 0,05$, $n=8$). На першу добу після введення доля соматотропіну відносно усіх білків гіпофізу в середньому складає 29%, на третю добу- 34,4%. Якщо тимоцити вводили разом із гідрокортизоном, істотне збільшення вмісту соматотропіну в гіпофізі порівняно з контролем, спостерігається вже на першу добу (29-39%) і триває протягом трьох діб. Введення гідрокортизону тимектомованим мишам без попереднього введення тимоцитів не викликало збільшення рівня соматотропіну в гіпофізі (25%).

Таким чином, введення сингенних тимоцитів тимектомованим мишам викликає збільшення вмісту соматотропіну в гіпофізі. Це свідчить про те, що вплив тимусу на соматотропну функцію гіпофізу може бути опосередкований саме цими клітинами. Введення гідрокор-

%

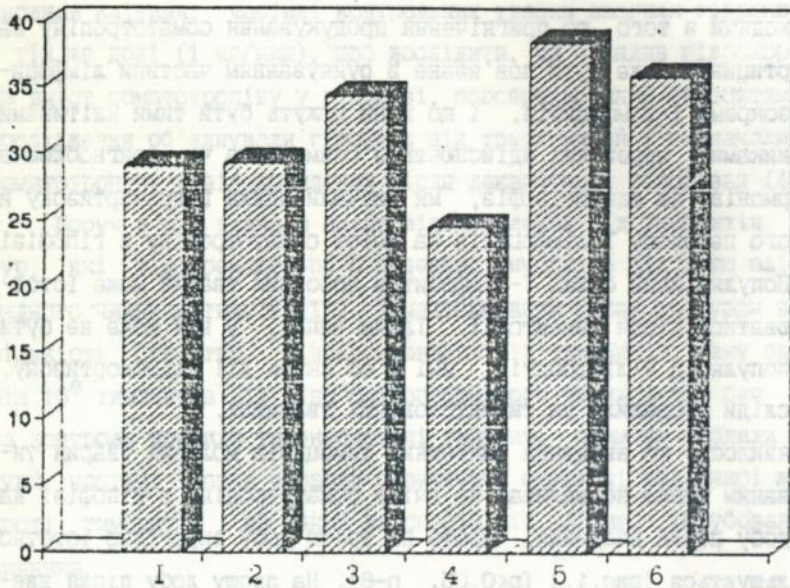


Рис. 1. Вплив сингенного переносу тимоцитів на вміст соматотропіну в гіпофізі тимектомованих мишей / процент відносно загального вмісту білків /

- 1 - вміст СТГ у гіпофізі тимектомованих мишей
- 2,3 - після введення 10^8 сингенних тимоцитів на першу /2/ та третю /3/ добу
- 4 - після введення 1 мг гідрокортизону
- 5,6 - після введення 10^8 сингенних тимоцитів та 1 мг гідрокортизону на першу /5/ і третю /6/ добу

тизону разом із тимоцитами стимулює підвищення рівня соматотропіну в гіпофізі. Оскільки самий гідрокортизон не впливає на вміст соматотропіну в гіпофізі на першу добу після введення, є підстави вважати, що вплив гідрокортизону опосередкований саме тимоцитами.

Раніше було встановлено (Rettori et al, 1989), що кахектин та інтерлейкін-1, які продукуються макрофагами, можуть стимулювати продукування соматотропіну. З метою вивчення можливої дії макрофагів тимусу на соматотропну функцію гіпофізу ми досліджували вплив сингенних тимоцитів, позбавлених макрофагів тимусу, на вміст соматотропіну в гіпофізі. Вміст СТГ та його кількісну оцінку визначали як описано раніше. З'ясувалось, що різниці між впливом на вміст СТГ в гіпофізі мишей сингенних тимоцитів молодих тварин, позбавлених макрофагів тимусу та не позбавлених них, не спостерігається. На першу добу вміст СТГ після введення неочищених від макрофагів тимусу тимоцитів в середньому складає 30,6%, очищених - 30,5%, на третю добу відповідно 36,6% та 36,2%.

Отже, в наших дослідках макрофаги тимусу, які містяться в клітинній зависі тимоцитів, не впливають на соматотропну функцію гіпофізу і підвищення вмісту СТГ в гіпофізі опосередковано тимоцитами.

2. Біологічні та деякі інші властивості олігопептидного чинника тимусу

Різниця в дії глюкокортикоїдів *in vivo* й *in vitro* на соматотропну функцію гіпофізу, особлива чутливість Т-лімфоцитів до стероїдів, а також істотна роль Т-лімфоцитів в запобіганні вастинг-синдрому вкупі з нашими даними, наведеними вище, дають підставу стверджувати, що вплив стероїдів *in vivo* на соматотропну

функцію гіпофізу може бути опосередкований, принаймні частково, Т-лімфоцитами. Оскільки Т-лімфоцити (в тому числі тимоцити) дуже гетерогенні, постає питання про можливу роль тих чи інших їх популяцій, як посередників дії стероїдів на соматотропну функцію гіпофізу.

Для дослідження ролі Т-лімфоцитів у регулюванні соматотропної функції гіпофізу чинники тимусу можуть бути корисними як інструмент, що дає змогу змінити клітинний склад і властивості цих клітин.

Один з таких чинників було виділено з тимусу на іммобілізованих еуглобулінах (І.А.Безвершенко, 1979). Застосування його адальось нам привабливим, оскільки під його впливом відбувається зменшення аутореактивності тимоцитів шляхом відокремлення з їх поверхні рецепторів до аутологічних еритроцитів.

Олігопептидний чинник тимусу, одержаний з діалізату тимусу теля (вілосену), шляхом афінної хроматографії на іммобілізованих еуглобулінах, мав таку саму активність, як і сироватковий тимічний чинник (F.T.S.) Баха в тесті збільшення чутливості розеткоутворюючих клітин селезінки тимектомованих мишей до антилімфоцитарної сироватки (АЛС) і азатиоприну.

Ми судили про біологічну активність олігопептидного чинника в іншій системі (І.А.Безвершенко, 1983) - за зниженням здатності тимоцитів "розпізнавати" аутологічні антигени в тесті аутологічного розеткоутворення.

Викликаючи зниження рівня аутологічного розеткоутворення олігопептидний чинник може впливати на аутореактивність Т-лімфоцитів, що дає змогу віднести його до числа потенційних засобів корекції аутореактивності Т-клітин.

Хімічну природу олігопептидного чинника вивчали за допомогою

імобілізаованої пронази. Показано, що вона пригнічує (в 2,6 раза) активність досліджуваного препарату. Певно, одержаний нами чинник тимусу належить до oligопептидів, оскільки під впливом пронази втрачає свою активність і має $M < 600$ (визначено на ВО "Електрон", м. Суми, масспектрометр МСЕХ).

Виявилось, що oligопептидний чинник тимусу гетерогенний, оскільки після гідрофобної обернено-фазової хроматографії на колонці С-18, виконанної О.С.Гавриш (інститут біоорганічної хімії АН України) було отримано чотири його фракції, з яких лише друга мала здатність пригнічувати аутологічне розеткоутворення. Отримані фракції ліофілізували і після кислотного гідролізу досліджували амінокислотний склад активної фракції (Gray W.R., 1972).

З'ясувалось, що вона містить сім амінокислот: аспарагін, серин, глутамін, треонін, аланін, метіонін, гістидин.

Внаслідок неоднорідності й різного ступеня зрілості не всі тимоцити чутливі до oligопептидного чинника тимусу. Тільки певний відсоток клітин споріднений до аутологічних антигенів, і це споріднення під впливом чинника повністю не втрачається. Щоб виявити, яка субпопуляція тимоцитів чутлива до чинника, тимоцити мишей розділяли в градієнті щільності фікол-урографіну. Знайдено, що популяція з щільністю 1,077 найчутливіша до oligопептидного чинника. Під впливом препарату відсоток аутологічних розеткоутворюючих клітин знижується в 2,5 раза. Ця популяція становить 12% загальної кількості тимоцитів. Вірогідно, що популяції тимоцитів, мігруючих у шар градієнту з щільністю 1,077, складають попередники регуляторних Т-лімфоцитів.

Таким чином, oligопептидний чинник, одержаний з тимусу теляти методом афінної хроматографії на імобілізованих еуглобулінах, викликає помітну зміну поверхні певної частини тимоцитів і, як

наслідок зміну їх популяційного складу. Найбільш цікавим є те, що втрата спорідненості до аутологічних еритроцитів під впливом олігопептидного чинника тимусу супроводжується відокремленням рецепторів до аутологічних еритроцитів.

3. Регуляторні структури тимоцитів, які зумовлюють аутологічне розеткоутворення і відокремлюються під впливом олігопептидного чинника тимусу

Зважаючи на те, що відокремлювані від тимоцитів рецептори до аутологічних еритроцитів адсорбуються на іммобілізованих IgG кроля, можна думати, що ці структури просторово зв'язані з рецепторами до Fc фрагмента IgG. Оскільки останні виконують регуляторні функції, можна сподіватись, що відокремлювані від тимоцитів структури також мають регуляторні властивості.

Рецепторні структури, що відокремлюються від тимоцитів під дією олігопептидного чинника, мають певну біологічну активність, зокрема, регуляторний вплив на функцію антитілопродуцентів селезінки (Безверщенко, 1988), підсилюючи антитілопродукцію.

Електрофоретичним дослідженням відокремлюваних від тимоцитів структур показана їх гетерогенність, і у 20%-ному поліакриламідному гелі за наявності додецилсульфату натрію одержано шість компонентів з різною молекулярною масою. Попередня обробка структур β-меркаптоетанолом призводить до збільшення кількості білків із меншою молекулярною масою за рахунок зменшення доли білків із більшою молекулярною масою. Це свідчить про те, що в цьому матеріалі містяться білки, які складаються принаймні з двох поліпептидних ланцюгів, з'єднаних дисульфідними зв'язками, що є характерним для маркерних білків і рецепторів Т-лімфоцитів.

Порівненням денситограм структури, одержаної від контрольних та стимульованих олігопептидним чинником тимусу клітин, показано, що структури якісно не відрізняються принаймні за молекулярною масою компонентів, які складають їх. Можливо, що йдеться лише про кількісні відмінності.

4. Вплив відокремлюваних від тимоцитів рецепторних структур на вміст соматотропіну в гіпофізі

Раніше було показано, що відокремлювані від тимоцитів рецепторні структури за прогрівання при 45°C , можуть впливати на вміст соматотропіну в гіпофізі мишей (Дж.Камара, 1988). Тому становило інтерес з'ясувати дію структур, відокремлених від тимоцитів під впливом олігопептидного чинника тимусу, на вказану функцію. Виявилось, що найбільшою мірою вміст соматотропіну зростає наступної доби після введення структур. Тому переважну більшість досліджень виконано через одну добу. Введення структур, відокремлених від 10^8 тимоцитів під дією олігопептидного чинника, призводить до збільшення вмісту соматотропіну у гіпофізі мишей та щурів. Так у тимектомованих тварин частка соматотропіну відносно загального вмісту білка гіпофізу становить в середньому 25,6%, а через добу після введення структур - 34,4%. Ця різниця статистично вірогідна ($p < 0,05$, $n=6$) (рис.2).

З 10^8 тимоцитів, інкубованих без олігопептидного чинника, очевидно, відокремлюються дещо інші структури, оскільки введення еквівалентної кількості структур (тобто одержаних від 10^8 тимоцитів) не викликає збільшення вмісту соматотропіну в гіпофізі. Можливо, різниця між дією адсорбованих на IgG структур, одержаних під

% Регулятори структури екстрактів тимицитів

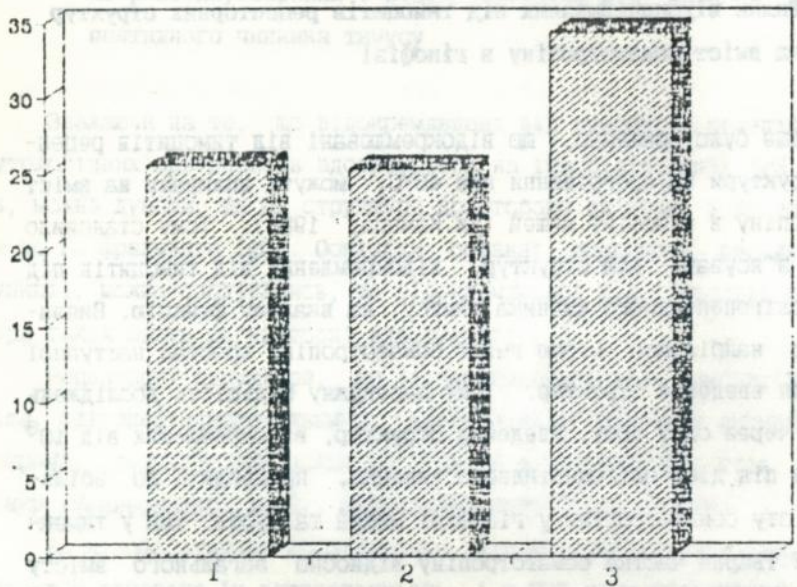


Рис. 2. Вплив рецепторних структур, відокремлюваних від тимоцитів, на вміст соматотропіну в гіпофізі тимектомованих мишей / в процентах відносно загального вмісту білків /

- 1 - вміст СТГ у гіпофізі тимектомованих мишей
- 2 - після введення структур, відокремлюваних від тимоцитів інкубованих без чинника
- 3 - після введення структур, відокремлюваних від тимоцитів під дією олігопептидного чинника тиму

впливом олигопептидного чинника та без нього, лише кількісна.

Аналогічні дослідження проведено і на щурах з паралельним вивченням впливу тимоцитів, інкубованих із олигопептидним чинником тимусу, на вміст соматотропіну в гіпофізі. Результати одержані на мишах та щурах не відрізняються між собою (рис.3).

Введення 10^3 сингенних тимоцитів викликає збільшення вмісту соматотропіну в гіпофізі тимектомованих щурів. Частка соматотропіну відносно загального вмісту білка гіпофізу у тимектомованих щурів в середньому становить 19,4%, а після введення тимоцитів - 27,6% ($p < 0,02$, $n=6$). Тимоцити, інкубовані з олигопептидним чинником тимусу, істотно не підвищують вміст соматотропіну в гіпофізі (23%). Це свідчить про те, що вплив тимоцитів на гіпофіз зумовлений структурами, які відокремлюються від тимоцитів під дією олигопептидного чинника тимусу.

Таким чином, відокремлені від тимоцитів під впливом олигопептидного чинника рецепторні структури, викликаючи збільшення вмісту соматотропіну в гіпофізі, мають регуляторний вплив на нього.

Збільшення вмісту соматотропіну у гіпофізі тимектомованих тварин після введення сингенних тимоцитів свідчить про те, що вплив тимусу на соматотропну функцію гіпофізу може бути опосередкований саме клітинами хоч механізм цього впливу ще не відомий. Однак він зумовлений структурами, які відокремлюються від тимоцитів. Про це свідчать прискорення дії тимоцитів на соматотропну функцію гіпофізу під впливом гідрокортизону, який їх руйнує, а також аналогічний вплив структур, відокремлених від тимоцитів під дією олигопептидного чинника.

Це дає змогу використовувати олигопептидний чинник тимусу або рецепторні структури, відокремлені від тимоцитів під його дією

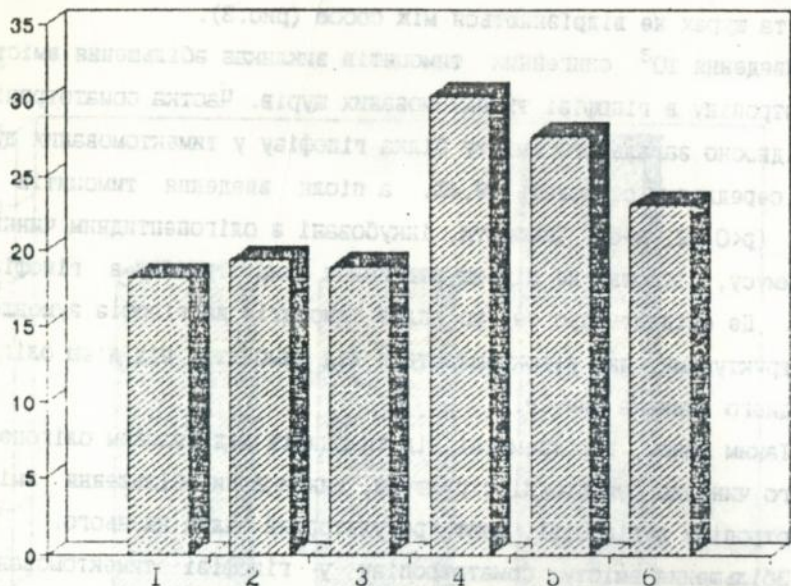


Рис. 3. Вплив рецепторних структур, відокремлюваних від тимоцитів, на вміст соматотропіну в гіпофізі тимектомованих щурів / в процентах відносно загального вмісту білків /

- 1 - вміст СТГ у гіпофізі інтактних щурів
- 2 - вміст СТГ у гіпофізі тимектомованих щурів
- 3 - після введення структур, відокремлюваних від тимоцитів інкубованих без чинника
- 4 - після введення структур, відокремлюваних від тимоцитів під дією олігопептидного чинника тимусу
- 5 - після введення 10^8 сингенних тимоцитів
- 6 - після введення 10^8 сингенних тимоцитів, оброблених олігопептидним чинником тимусу

як, засіб для корекції соматотропної функції гіпофізу за умов екзогенного гіперкортицизму.

В И С Н О В К И

1. Тимцити молодих мишей підвищують вміст соматотропіну в гіпофізі дорослих тимектомованих сингенних реципієнтів. Цей ефект не залежить від макрофагів тимусу.
2. Введення гідрокортизону одночасно з сингенними тимоцитами тимектомованим тваринам призводить до прискорення накопичення соматотропіну в гіпофізі реципієнтів.
3. Олігопептидна природа чинника тимусу підтверджується втрапою його активності під впливом пронази.
4. Під впливом олігопептидного чинника тимусу з поверхні тимоцитів відокремлюються рецепторні структури, які мають споріднення з аутологічними клітинами.
5. Введення рецепторних структур, відокремлених від тимоцитів під дією олігопептидного чинника тимусу, тимектомованим мишам та щурам викликає збільшення кількості соматотропіну в гіпофізі.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Результати досліджень можуть бути використані для обґрунтування корекції соматотропної функції гіпофізу, порушеної введенням стероїдних гормонів.

Відоген, до складу якого входить олігопептидний чинник тимусу, може бути застосованим як рістостимулюючий засіб для дітей з затримкою росту за гіперкортицизму.

ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Подавление взаимодействия тимоцитов с сингенными эритроцитами олигопептидным фактором тимуса. // Тезисы докл. V Укр. конф. по аллергологии: "Коррекция нарушений иммунологической реактивности", Львов. - 1983. - С. 21 /соавт. Безверщенко И. А., Быкова Л. М. /.
2. Выделение и биологические свойства олигопептидного фактора тимуса. // Междун. симпозиум "Химия и биохимия непептидно-белковых гормонов", Суздаль. - 1985. - С. 20-22. /соавт. Безверщенко И. А., Синельникова А. Л., Быкова Л. М. /.
3. Физико-химические свойства низкомолекулярного фактора вилочковой железы, подавляющего взаимодействие тимоцитов с аутологичными клетками. // Тезисы докл. респуб. конф. молодых ученых "Актуальные вопросы современной эндокринологии и иммунологии", Харьков. - 1986. - С. 8.
4. Влияние гормональных факторов на тимоциты, распознающие аутологичные эритроциты. // Тез. докл. на IV Всесоюзном симпозиуме "Регуляция иммунного гомеостаза", Суздаль. - 1986. - С. 11-12. /соавт. Сидоренко Д. С., Тарасова А. А. /.
5. Влияние гормональных факторов вилочковой железы на аутореактивность тимоцитов. // Тез. докл. IV съезда эндокринологов СССР "Современные проблемы эндокринологии", Киев. - 1987. - С. 5. /соавт. Быкова Л. М., Синельникова А. Л. /.
6. Влияние олигопептидного фактора тимуса на аутореактивность тимоцитов различной плотности. // Тез. докл. на IV Республ. конф. "Актуальные проблемы иммунотерапии", Ворошиловград. - 1988. - С. 148-149. /соавт. Безверщенко И. А., Быкова Л. М., Бойко М. Г., Синельникова А. Л. /.

7. Отделение тимоцитами рецепторов к аутологичным эритроцитам под влиянием олигопептидного фактора вилочковой железы. // Статья. Республ. межведомств. сборник "Иммунология и аллергология". - 1988. - N 22. - С. 25-32. /соавт. Безверщенко И.А., Синельникова А.Л., Бойко М.Г., Быкова Л.М./.
8. Регуляторний вплив тимоцитів і відокремлюваних ними чинників на соматотропну функцію гіпофізу. // Тез. допов. на конф. науково-медичного товариства патофізіологів України "Фундаментальні механізми розвитку патологічних процесів", Дніпропетровськ. - 1992. - С. 14. /соавт. Безверщенко І.А., Бойко М.Г., Быкова Л.М., Синельникова Г.Л./.
9. Участь тимоцитів у взаєминах між тимусом і гіпофізом. // Фізіологічний журн. - 1993. - т.39, N 2-3. - С. 43-47. /співавт. Безверщенко І.А., Быкова Л.М., Бойко М.Г., Синельникова Г.Л./.
10. Некоторые регуляторные свойства структур тимоцитов, отделяемых под влиянием олигопептидного фактора тимуса. // Тез. докл. на международном симпозиуме " Клинические и экспериментальные аспекты клеточной сигнализации ", Москва. - 1993. - С.10-11. /соавт. Безверщенко И.А., Быкова Л.М., Бойко М.Г., Синельникова А.Л./.
11. Some regulatory properties of lymphocyte structures shedding by oligopeptide differentiating factor action. // Annual Meeting of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Rotterdam. - 1993. - P. 553./.
12. Роль олигопептидного фактора тимуса, выделенного из вилочковой железы, в дифференцировке и пролиферации тимоцитов. // Сб. докл. науч. конференции по проблеме "Биостимулятор-93", Ялта. - 1993. - С. 20-26. /соавт. Безверщенко И.А., Бойко М.Г., Синельникова А.Л., Быкова Л.М./.

Синельникова

АВ 29.292

НПО "КАМЕТ" Тираж 100 Заказ 721