

В. А. КОЗЛОВ, И. Б. ЦЫРЛОВ, В. В. ЛЯХОВИЧ

К ВОПРОСУ О ЛИТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ГИДРОКОРТИЗОНА НА ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ ТИМУСА

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 11 V 1975)

Считается общепризнанным, что тимус является центральным органом иммунитета ⁽¹⁾. Хорошо известно, что глюкокортикоиды оказывают лизирующее действие на клетки тимуса ⁽²⁾. Но только в последние годы было установлено, что под влиянием кортикостероидов лизируется популяция клеток коркового вещества тимуса, которая не является иммунологически компетентной и непосредственно не принимает участия в иммунологических реакциях ⁽²⁾. Клетки мозгового вещества тимуса, обладающие способностью участвовать в целом ряде иммунологических реакций, оказались резистентными к действию гидрокортизона ⁽²⁾.

Несмотря на указанные выше многочисленные исследования в области лизирующего действия кортикостероидов на клетки тимуса, имеются лишь отрывочные сведения о механизме данного эффекта ^(3, 4). В частности, практически совершенно не известно, оказывают ли кортикостероиды свой лизирующий эффект на клетки тимуса целой молекулой или продуктами метаболизма. В этом смысле принципиально важным оказалось предположение ⁽³⁾ о том, что действие глюкокортикоидов на тимус опосредовано через печень. Исследованиями в области молекулярной фармакологии показано, что эндоплазматические мембраны (микросомы) паренхиматозных клеток данного органа содержат ферментные системы монооксигеназного типа, катализирующие окислительное гидроксирование большинства лекарств, жирных кислот, ядов и гормонов, в том числе ряда кортикостероидов ^(5, 6). С другой стороны, известно, что введение животным фенobarбитала индуцирует разрастание гладких эндоплазматических мембран гепатоцитов, а также содержание компонент и метаболизирующую активность монооксигеназ ⁽⁷⁾. Исследование выраженности литического эффекта экзогенного гидрокортизона на клетки тимуса на фоне индукции печеночных микросом фенobarбиталом представлялось удобной моделью для доказательства, исходная ли молекула гормона или его гидроокислированный метаболит является литическим агентом для тимоцитов.

Работа выполнена на мышах (СВА×С57BL) F₁ гибридах. Фенobarбитал («Merck») в дозе 11 мг/кг вводили мышам внутрибрюшинно ежедневно в течение 4 суток, по общепринятой схеме ⁽⁸⁾. Одновременно с 3-й инъекцией фенobarбитала опытным животным и контрольным мышам инъецировали внутрибрюшинно гидрокортизон («Рихтер») в дозе 0,14 мкг/кг. Через сутки после 4-й инъекции фенobarбитала (через 2 суток после введения гидрокортизона) опытных и контрольных животных забивали и определяли у них общее количество ядродержащих клеток в тимусе. Выделение микросомной фракции печени контрольных и опытных мышей, определение содержания цитохрома Р-450, максимального связывания субстратов I и II типов (константа $\Delta A_{\max}$), а также активности НАДФ-Н-зависимых редуктаз при использовании экзогенного (цитохром с) и эндогенного (цитохром Р-450) акцепторов электронов описаны нами ранее ^(8, 9). Все спектральные исследования проводили на дифференциальном спектрофото-

метре «Hitachi-356» (Япония). Достоверность полученных результатов оценивали методом Стьюдента.

Результаты наших исследований говорят о том, что у контрольных животных введение гидрокортизона обуславливало значительное (в 2 раза) уменьшение общего количества ядросодержащих клеток в тимусе. В то же время было обнаружено, что на фоне многократного введения фенobarбитала гидрокортизон не оказывал никакого влияния на данный показатель. Общее количество ядросодержащих клеток в тимусе мышей F_1 гибридов, которым вводили 4 раза фенobarбитал либо отдельно, либо вместе с гидрокортизоном, равнялось соответствующему значению, полученному у интактных животных. (В контрольной группе число ядросодержащих клеток в тимусе мышей без гормона равнялось $(59,7 \pm 7,0) \cdot 10^6$, с гормоном $(30,9 \pm 6,3) \cdot 10^6$; в опытной с фенobarбиталом без гормона оно было равно $(58,5 \pm 5,6) \cdot 10^6$, с гормоном $(57,5 \pm 5,1) \cdot 10^6$.)

Нами получены данные, свидетельствующие, что введение в течение 4 суток фенobarбитала приводит к увеличению в 1,7 раза содержания важнейшего компонента микросомной гидроксилирующей системы — цитохрома P-450 (в контроле 0,6 нмоля на 1 мг белка, в опыте 1,02 нмоля на 1 мг белка), являющегося местом связывания для субстратов и активирующего молекулярный кислород в монооксигеназной реакции. В свою очередь, в молекуле этого гемопroteида возрастает число точек связывания для субстратов I (гексобарбитала — в контроле 17,0, в опыте 37,0 $\Delta A_{421(436)} - 500$ на 1 мг белка) и II (анилина — в контроле 29,0, в опыте 49,3 $\Delta A_{421(436)} - 500$ на 1 мг белка) типов. Наконец, наблюдается увеличение в 1,5 раза активности НАДФ-Н-цитохром-с-редуктазы и в 2,2 раза НАДФ-Н-цитохром-P-450-редуктазы (в контроле 130 и 2,4 нмол/мин на 1 мг белка соответственно; в опыте 195 и 5,2 нмол/мин на 1 мг белка соответственно). Таким образом, налицо выраженная индукция микросомных ферментов, катализирующих гидроксилирование липофильных субстратов, в том числе стероидных гормонов.

В этой связи логично предположить, что практически полное отсутствие литического эффекта гидрокортизона на фоне индукции фенobarбиталом обусловлено повышенной скоростью окислительного метаболизма молекул гормона в микросомной фракции печени, поскольку фенobarбитал избирательно индуцирует ферменты этой фракции печени, а сам в используемой концентрации не оказывает какого-либо эффекта на клетки тимуса. Таким образом, наблюдаемое цитотоксическое действие гидрокортизона на тимоциты может быть отнесено к исходной целой молекуле гормона.

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
6 V 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ф. Бернет, Клеточная иммунология, М., 1971. ² H. N. Claman, The New England J. Med., v. 287, № 8, 387 (1972). ³ П. В. Сергеев, Р. Д. Сейфулла, А. И. Майский, Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов, М., 1971. ⁴ R. W. Turnell, L. H. Clarke, A. F. Burton, Cancer. Res., v. 33, № 2, 203 (1973). ⁵ A. H. Conney, Pharmacol. Rev., v. 19, 317 (1967). ⁶ A. H. Conney, W. Levin et al., In: Microsomes and Drug Oxidations, N. Y., 1969. ⁷ H. Remmert, Am. J. Med., v. 49, № 3, 617 (1970). ⁸ В. П. Казначеев, О. А. Громова и др., Бюлл. эксп. биол. мед., № 12, 55 (1973). ⁹ I. B. Tsyrllov, V. V. Lyakhovich, Chem.-Biol. Interac., v. 10, № 1, 123 (1975).