

VÝZNAM THYMU A JEHO HUMORÁLNÍCH FAKTORŮ PŘI LÉČBĚ NEMOCI Z OZÁŘENÍ

RNDr. Jiřina VÁVROVÁ, CSc.

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav J. E. Purkyně, Hradec Králové

(náčelník: genmjr. prof. MUDr. Jaroslav Vaňásek, CSc.)

K 65. výročí narození plk. prof. MUDr. Josefa Mráze, CSc.

1. Úvod

Při využívání atomové energie k mírovým účelům a zneužití k válečným může dojít k celotělovému ozáření organismu a vzniku akutní nemoci z ozáření. Informace o biologickém účinku ionizujícího záření byly odvozeny především z pokusů na laboratorních zvířatech. U lidí byly tyto údaje získány především od obyvatel ozářených při atomovém výbuchu v Hirošimě a Nagasaki.

Organizované lymfoidní tkáně a individuálně recirkulující lymfocyty jsou extrémně radiosenzitivní. V důsledku hluboké lymfocytopenie se snižuje schopnost ozářeného organismu imunologicky reagovat a nápadně strmě klesá odolnost proti infekčním chorobám. Vedle časných účinků spjatých bezprostředně s rozvojem nemoci z ozáření se škodlivé vlivy ionizujícího záření projevují rozvojem pozdních následků, mezi nimi vznikem genetických abnormalit, postiradiační leukemogenezi či větším výskytem maligních onemocnění, kde jednou z hlavních příčin jejich vzniku je oslabení nebo poškození imunitní reaktivity organismu.

Podle důležitosti se lymfoidní orgány dělí na primární — thymus a Fabriciova burza — jejich chybný vývoj nebo odstranění vede k zásadním změnám v organismu — a sekundární — slezina a lymfatické uzliny — jejichž odstranění nevyvolává žádné zásadní změny.

Do imunologické obrany organismu jsou zapojeny především lymfocyty a makrofágy. Makrofágy se účastní prvních fází imunologické obrany — zvláště pohlcení a zpracování antigenu. Klíčovou buňkou je však lymfocyt umožňující specifické rozpoznání antigenu, zajišťující optimální průběh imunitní reakce a ustavení imunologické paměti. Populace lymfocytů je vývojově a funkčně značně heterogenní. Rozlišujeme T lymfocyty — závislé na thymu a odpovídající za tzv. buněčnou imunitu, a B lymfocyty závislé na Fabriciově burze u ptáků a jejím analogu (zatím neznámém) u savců — odpovídající za humorální imunitu. B lymfocyty po antigenní stimulaci proliferují a diferenciuji se v plazmatické buňky tvořící protilátky. T lymfocyty mohou být fyziologicky rozděleny na:

- buňky výkonné — odpovědné za imunologické reakce zprostředkované buňkami, jako např. proces odhojení kožního nebo nádorového aloštetu, projevy pozdní přecitlivělosti, schopnost vyvolat reakci štetu proti hostiteli a patří sem také buňky cytotoxické;
- buňky pomocné — iniciující B lymfocyty

- plnění jejich funkcí a spolupracující s B lymfocyty ve většině jejich funkcí;
- supresorové buňky mající schopnost potlačovat reakce uskutečňované jak B tak i T lymfocyty (Cantor a Boyse, 1975).

Vysvětlení zkratk používaných v dalším textu:

LD 5, 50 a 95/30 — znamená 5, 50 a 95% smrtelnou dávku záření v Gy ke 30. dni po ozáření

DRF — redukční faktor dávky; poměr LD 50/30 stíněné a celotělově ozářené skupiny

D₀ — dávka záření v Gy, po které přežívá 37 % buněk

GvHR — reakce štetu proti hostiteli

PHA — fytohemaglutinin

2. Thymus

Existuje několik důvodů, které řadí thymus mezi nejdůležitější orgány studované v radio-biologii:

- má důležitou úlohu v radiační leukomogenezi;
- má centrální úlohu při vytváření a budování periferních lymfoidních tkání, především složek odpovědných za buněčnou imunitu;
- obsahuje vysoce radiosenzitivní populaci lymfocytů (van Bekkum, 1975).

Thymus je složen ze stálého stromatu a obnovující se lymfoidní tkáně. Stroma tvoří okolo 10 % hmotnosti orgánu a je tvořeno buňkami retikuloendotelového systému, lymfoidní buňky odpovídají za 99,9 % mitotické aktivity. Z hlediska embryonálního vývoje je thymus prvním lymfoidním orgánem a jedním z prvních endokrinních orgánů. Původ thymocytů není zatím zcela jasný. Podle některých názorů vznikají thymocyty z místních prekurzorů, ale větší množství dokladů svědčí pro trvalý přísun buněk z kostní dřeně, která je asi hlavním produkčním centrem předchůdců thymových buněk (Sainte-Marie a Leblond, 1964).

K posouzení funkce thymu a jeho klasifikaci jako centrálního orgánu imunity přispěly zásadně studie vlivu thymektomie (Miller, 1961, 1962). U novorozených myši, byla-li thymektomie provedena 1—16 hodin po narození, se do 3 měsíců obvykle vyvine celkové onemocnění nazývané chátrací syndrom anebo „wasting disease“. Zvířata jsou zvýšeně citlivá k infekcím, mají snížené počty lymfocytů v periferní krvi, lymfoidní tkáně jsou atrofické. Obvykle toto onemocnění končí smrtí.

Hlavní úlohy thymu lze shrnout do třech bodů.

- produkce a vydávání T lymfocytů do periferní krve a sekundárních lymfoidních tkání;

2. zajištění thymového mikroprostředí, které přispívá ovlivněním vcestovavších a vzniklých buněk ke zvýraznění specifických parametrů imunologické kompetence hostitele;

3. retikuloendotelové buňky syntetizují a secerňují jeden nebo více polypeptidových hormonů ovlivňujících vyžívání T lymfocytů (White, 1975).

Za několik dní po ozáření myši dávkou LD 50/30 je thymus téměř, ale ne zcela, zbaven lymfocytů. Určitý počet radiorezistentních lymfocytů přežívá i vysoké dávky záření. Byla prokázána vysoká citlivost thymových lymfocytů v kontrastu s vysokou radiorezistencí retikulárních buněčných složek, které jsou málo nebo vůbec nejsou morfologicky poškozeny po dávce 50 Gy (Trowell, 1961). Největší pokles hmotnosti thymu je 2.—4. den po ozáření. Nízké dávky záření 1—2 Gy vyvolávají pokles hmotnosti thymu o 30—50 %. Regenerace thymu nastupuje mezi 5.—7. dnem. Hmotnosti thymu kontrolní neozařené skupiny bylo dosaženo 12. den. Po ozáření vyššími dávkami 3—7 Gy klesá hmotnost thymu o 70 % (4. den po ozáření) a tento pokles není již závislý na obdržené dávce. Následuje přechodné zvýšení hmotnosti se sekundárním poklesem okolo 20.—25. dne. Teprve od 25. dne dochází ke konečné normalizaci hmotnosti thymu (Takada aj., 1969, Vávrová, 1978). První fáze obnovy thymu je pravděpodobně způsobena proliferací relativně radiorezistentní populace intrathymových prekurzorů. Druhý pokles hmotnosti je asi způsoben nedostatečným přísunem buněk z poškozené kostní dřene a ke konečné úpravě dojde až po obnově buněčné populace v kostní dřeni (Takada aj., 1969).

Ukazuje se, že thymové lymfocyty citlivé na kortizon jsou také velmi radiosenzitivní. Anderson a Blomgren (1970) zjistili, že dva dny po ovlivnění myši kortizonem celkový počet lymfocytů v thymu klesá na 3 %. Z tohoto množství je polovina lymfocytů radiorezistentních (u neoovlivněných myši jsou radiorezistentní pouze 4 %). Ukázalo se, že 80—90 % thymových lymfocytů je bohatých na thymové antigeny a neodpovídá na stimulaci PHA. Tento typ thymocytů je velmi citlivý ke kortizonu a je redukován po ozáření. Naproti tomu malá část populace, asi 10 %, má nízký obsah thymových antigenů, odpovídá na stimulaci PHA a je radiorezistentní.

Přítomnost intaktního thymu je nutná pro obnovu imunologické reaktivity ozářených zvířat. V případě, že po thymektomii provedené v dospělosti následuje subletální ozáření, rozvine se u myši chýtrací onemocnění končící smrtí (Cross aj., 1961).

3. Sekundární lymfoidní tkáň

V kontrastu s thymem tvoří lymfocyty ve slezině pouze 60—70 % objemu. Mnoho jiných buněk (makrofágy, plazmatické buňky, diferencované hematopoetické buňky) jsou méně radiosenzitivní než lymfocyty (Anderson a War-

ner, 1977). Již 24 hodin po ozáření subletálními dávkami (4—6 Gy) se hmotnost sleziny zmenšuje více než dvakrát. V rozmezí 1—5 Gy je 4. den po ozáření pokles hmotnosti sleziny závislý na dávce záření. Při dalším zvyšování dávky se již hmotnost nemění a zůstává na 30 % z výchozí hodnoty. Regenerace sleziny je jednofázová a rychlejší než u thymu.

Ionizující záření poškozuje většinu korových lymfocytů a dělicích se buněk v germinálních centrech lymfatických uzlin; přežívá intaktní stroma, krevní kapiláry a dospělé plazmatické a retikuloendotelové buňky (De Bruyne, 1948). Pokles hmotnosti lymfatických uzlin po ozáření je pomalejší než u sleziny a minima hodnot dosahuje 4. den po ozáření. Je však dlouhodobý a po dávce 4,8 Gy jsme během 21denního intervalu po ozáření nepozorovali úpravu hmotnosti (Vávrová, 1978). Naopak po lokálním ozáření lymfatických uzlin i v případě, že je místní tvorba lymfocytů vyřazena, je jejich regenerace velmi rychlá a je pravděpodobně ovlivněna přísunem lymfocytů z periferní krve. Po vysokých lokálních dávkách (30 Gy) však dochází k poškození krevního řečiště, destrukci stromatu a atrofii uzlin.

4. Radiosenzitivita T a B lymfocytů

Ke smrti lymfocytů v důsledku poškození ionizujícím zářením může dojít dvojím způsobem: 1. interfázová smrt — označovaná jako bezprostřední smrt; 2. reprodukční smrt — znamenající ztrátu schopnosti buněk se dělit, lymfocyty hynou brzy po vstupu do mitózy především na následky chromozomálního poškození.

Přímé studie ukazující na funkční aktivitu T a B lymfocytů dokazují, že radiosenzitivita B buněk je vyšší než T buněk. Dávka 4,5 Gy kompletně potlačila produkci hemaglutininů, zatímco pouze zpomalila vypuzení kožního aloštěpu (Micklem a Brown, 1961). Kataoka a Sado (1975) sledovali radiosenzitivitu sleziných T a B lymfocytů pomocí imunofluorescenční techniky. Pro B lymfocyty stanovili $D_0 = 2$ Gy. T lymfocyty lze dle radiosenzitivity rozdělit na dvě skupiny, první s $D_0 = 1,95$ Gy a druhá (8 %) vysoce radiorezistentní. Jiné studie (Makinodan aj., 1962) prokázali vyšší radiosenzitivitu B lymfocytů, $D_0 = 0,6—1,2$ Gy.

Anderson aj. (1974) zjistili, že po ozáření dávkou větší než 10 Gy ve tkáňové kultuře přežívá 5—10 % T lymfocytů (ve srovnání s 0 % B lymfocytů). Také po celotělovém ozáření myši dávkou 8 Gy bylo 4. den po ozáření z ductus thoracicus získáno malé množství lymfocytů. Tyto buňky byly především T lymfocyty, které ačkoli žijí, nejsou schopny proliferovat pod vlivem antigenů. V případě, že jsou donuceny proliferovat, hynou po vstupu do mitózy. Antigenem (např. PHA) stimulované T lymfocyty, ačkoli jsou schopny přežít po vyšších expozicích než nestimulované buňky, mají významně sniženu schopnost proliferace.

Anderson a Warner (1976) dávají radiosenzitivitu lymfocytů do souvislosti se stavem jejich aktivity a došli k závěru:

1. v případě, že se buňky dělí, pak D_0 pro T i B lymfocyty jsou velmi podobná a v rozmezí 0,7–1,0 Gy; interfázová smrt je rychlá u B lymfocytů a pomalejší u T lymfocytů.

2. Aktivované, nedělící se buňky jsou poměrně radiorezistentní (plazmatické buňky, buňky stimulované mitogeny).

Ze specializovaných T lymfocytů jsou supresorové a výkonné buňky považovány za relativně radiosenzitivní a pomocné buňky za relativně radiorezistentní. Existují však také zpětnovazebné signály mezi rozdílnými subpopulacemi T lymfocytů, které jsou důležité pro udržení imunologické homeostázy a ozáření může zde narušit tuto rovnováhu i ovlivněním určité subpopulace lymfocytů ve větší míře.

5. Stínění thymu

Ukázalo se, že před letálními následky ionizujícího záření lze myši ochránit stíněním malé části hematopoetických tkání během ozáření (sleziny nebo zadní končetiny). Nepoškozené kmenové buňky migrují ze stíněné části a repopulují poškozené hematopoetické tkáně (Van Bekkum a DeVries, 1967). Také stínění thymu během ozáření chrání myši před letálními následky ionizujícího záření.

Tabulka 1 srovnává hodnoty LD 5, 50 a 95/30 u skupiny ozářené RTG paprsky celotělově a u skupin ozářených se stíněným thymem a pravou zadní končetinou. Ukázalo se, že stínění pravé zadní končetiny je asi stejně účinné jako stínění thymu. Redukční faktor dávky se v obou případech pohyboval okolo dvou. Je pravděpodobné, že stínění thymu může ovlivnit především regeneraci lymfoidních a krvetvorných tkání a působit příznivě v oblasti dávek, kdy zvířata umírají na dřeňový syndrom akutní nemoci z ozáření. To se také ukázalo v případě, kdy jsme srovnávali hynutí k 6. dni po ozáření (kdy příčinou smrti je převážně poškození gastrointestinálního traktu); ochranný účinek stínění jak thymu tak pravé zadní končetiny byl minimální (Vávrová a Petýrek, 1982).

Na obrázku 1 jsou znázorněny změny inkorporace $^{125}\text{IUdR}$ (5-iodo-2-deoxyuridinu) jako indikátoru aktivity buněčného dělení do thymu a sleziny. V časných intervalech po ozáření dávkou 7 Gy RTG záření dochází k prudkému poklesu inkorporace v obou orgánech. Stínění thymu neomezuje počáteční pokles inkorporace, urychlena je však regenerace jak thymu tak sleziny.

Řekli jsme si již, že ionizující záření vyvolává hluboký pokles počtu i funkční aktivity T lymfocytů ve slezině; T lymfocyty odpovědné za GvHR jsou velmi radiosenzitivní (Haykava a Tsuchiya, 1976). Z našich pokusů víme, že slezinné buňky myši kmene CBA vyvolávají po injekci do tlapky zadní končetiny (CBAXC57Bl/F₁ hybridů zvětšení oblastní lymfatické uzliny

Tab. 1

Ochranná účinnost stínění thymu během RTG ozáření: Hodnoceno přežívání ke 30. dni po ozáření

Skupina	Hodnoty letálních dávek RTG záření v Gy			
	LD 5/30	LD 50/30	LD 95/30	DRF
CTO	5,35	7,39	10,21	1,00
T	12,44	14,93	17,92	2,08
PZK	11,80	14,52	17,86	1,96

CTO – celotělově RTG ozářená skupina

T – stíněn thymus

PZK – stíněna pravá zadní končetina

úměrné počtu aplikovaných buněk. Slezinné buňky od myši ozářené RTG paprsky dávkou 7 Gy mají tuto schopnost podstatně sníženu. Pokles je dlouhodobý a teprve 240. den po ozáření dochází k vzestupu. V případě, že byl v době ozáření stíněn thymus, hluboký pokles byl pouze 5. den po ozáření a od 13. dne jsme již pozorovali vzestup a od 28. dne byla funkční aktivita T lymfocytů ve slezině na úrovni kontrolní neozařené skupiny (obr. 2). Ukazuje se, že hlavním mechanismem dlouhodobého poklesu schopnosti slezinných buněk (T lymfocytů) vyvolat GvHR není poškození určitých buněk, ale spíše změny thymu s defekty v jeho mikroprostředí a nedostatkem faktorů podporujících vyzrávání a proliferaci T lymfocytů.

Sledováním změn na úrovni kmenových buněk krvetvorby metodou slezinných kolonií se ukázalo, že stínění thymu má příznivý vliv na tvorbu endogenních kolonií ozářených myši (tab. 2). Thymus je u dospělých myši nutný k udržení tzv. post-thymového poolu buněk, které zajišťují po celý život normální imunologickou reaktivitu (Stutman aj., 1972). Je možné, že tyto buňky interagují s kmenovými buňkami, a podporují tak jejich proliferaci, čímž zvyšují počet kolonií na slezinách. Je otázkou, zda v důsledku odstranění thymu (chybění T lymfocytů anebo nedostatek thymových hormonů) je poškozeno vhodné mikroprostředí ve slezině ane-

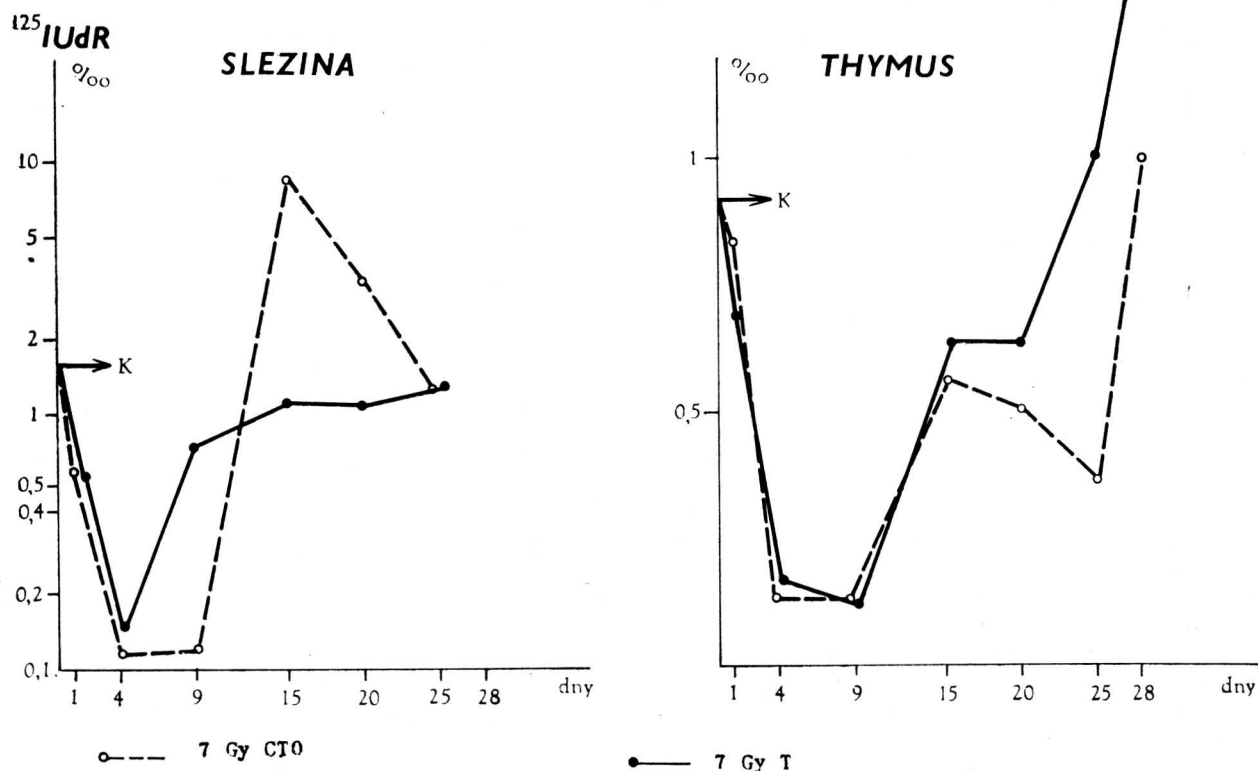
Tab. 2

Změny počtu endogenních kolonií na slezinách 9. den po RTG ozáření myši

Dávka v Gy	Skupina	Počet kolonií
7	CTO	0
	T	32,2
10	CTO	0
	T	9,4

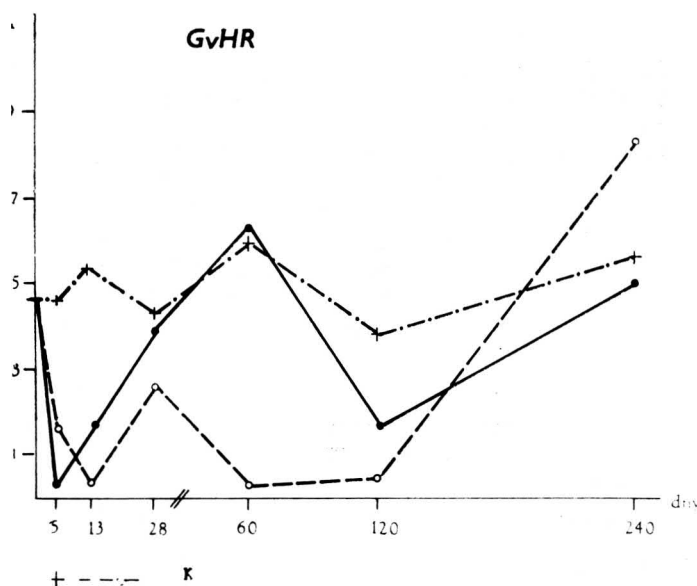
Symbole stejné jako u tab. 1.

Počet endogenních kolonií byl stanoven metodou Tilla a McCullocha (1961)



Obr. 1. Vliv stínění thymu na změny inkorporace $^{125}\text{IUdR}$ do thymu a sleziny během 28. denního intervalu po RTG ozáření dávkou 7 Gy myši CBA — samice

(K — kontrolní neozařená skupina; CTO — celotělově RTG ozářená skupina; T — skupina ozářená RTG, kdy v průběhu ozáření byl stíněn thymus pomocí 6 mm silné olověné destičky o plošném rozměru 12 X 12 mm.



Obr. 2. Dlouhodobá inhibice schopnosti slezinných buněk myši RTG ozářených dávkou 7 Gy vyvolat GvHR a možnosti její stimulace stíněním thymu během ozáření.

Lokální GvHR byla vyvolána aplikací 10×10^6 slezinných buněk ozářených CBA myši — samců do tlapky odpovídajících F1 hybridů x — hmotnost popliteální uzliny injikované končetiny minus hmotnost popliteální uzliny druhé neinjikované končetiny. Symboly stejné jako u obr. 1.

bo je redukován přísun buněk z kostní dřeně do sleziny. Pak by thymus přece jen ovlivňoval i kmenové buňky kostní dřeně.

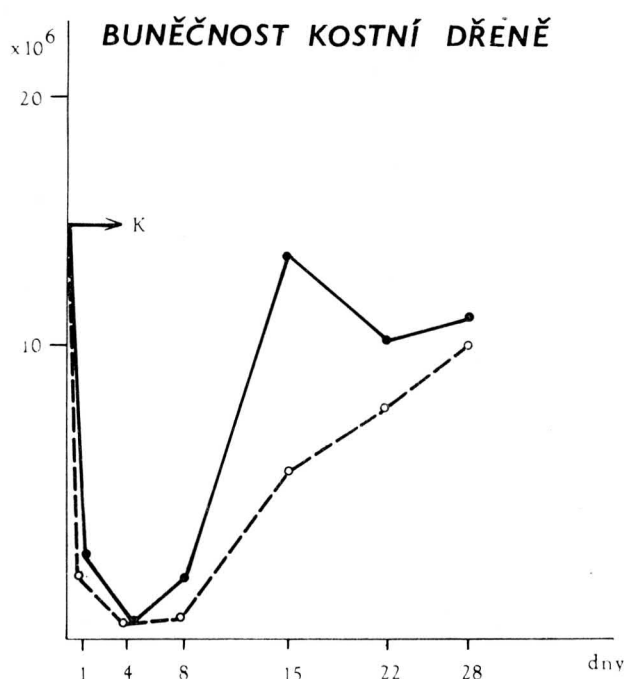
Z našich pokusů je zřejmé, že stínění thymu během ozáření dávkou 7 Gy vede k rychlejší obnově jaderných buněk v kostní dřeni než u celotělově ozářených myši (obr. 3). V periferní krvi ozáření dávkou 7 Gy vyvolává hluboký pokles absolutního počtu lymfocytů v obou sledovaných skupinách. V případě stínění thymu je opět urychlena jejich regenerace (obr. 4).

Interakcím thymu a kostní dřeně nasvědčují také výsledky Ziporiho a Trainina (1973), kteří zjistili, že u myši thymektomovaných brzy po narození vedle špatné funkce sleziny dochází i k poškození kostní dřeně. Poverenny aj. (1981) se domnívají, že thymové buňky mají schopnost stimulovat buňky kostní dřeně k tvorbě kolonií jsou velmi radiosenzitivní ($D_{0.01} = 0,6$ Gy). Mechanismus účinku thymu anebo T lymfocytů na kmenové buňky krvetvorby není zatím zcela jasný. Důležitou úlohu zde mají jistě i thymové hormony.

6. Thymové hormony

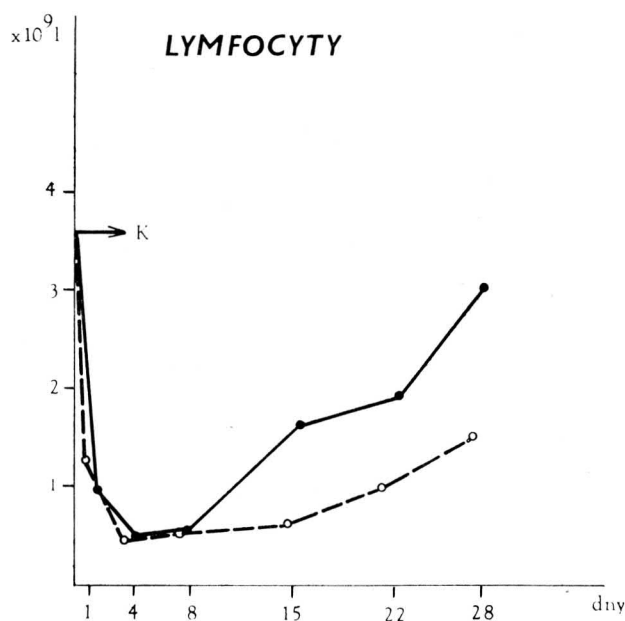
Thymus je možno zařadit mezi endokrinní žlázy, protože splňuje dvě hlavní kritéria:

a) Bezbuňčné thymové extrakty jsou schop-



Obr. 3. Vliv stínění thymu na změny buněčnosti kostní dřve femuru během 28. denního intervalu po RTG ozáření dávkou 7 Gy

Kostní dřev pocházející z pravého femuru byla suspendována v 1 ml fyziologického roztoku a počet jaderných buněk počítán standardním způsobem v Bürkerově komůrce. Symboly stejné jako u obr. 1



Obr. 4. Vliv stínění thymu na změny absolutního počtu lymfocytů v krvi během 28. denního intervalu po ozáření dávkou 7 Gy. Symboly stejné jako u obr. 1.

ny zcela nebo částečně nahradit specifické biologické funkce tohoto orgánu. Po aplikaci thymového hormonu se zabránilo chřátracím onemocnění vznikajícímu po novorozenecké thymektomii [Asanuma aj., 1970; Goldstein aj., 1972];

b) Přítomnost thymového hormonu v krevním řečišti prokázali Bach aj. (1973) a Hooper aj. (1975). Po thymektomii anebo celotělovém ozáření mizí tento faktor ze séra myši [Bach a Dardenne, 1973].

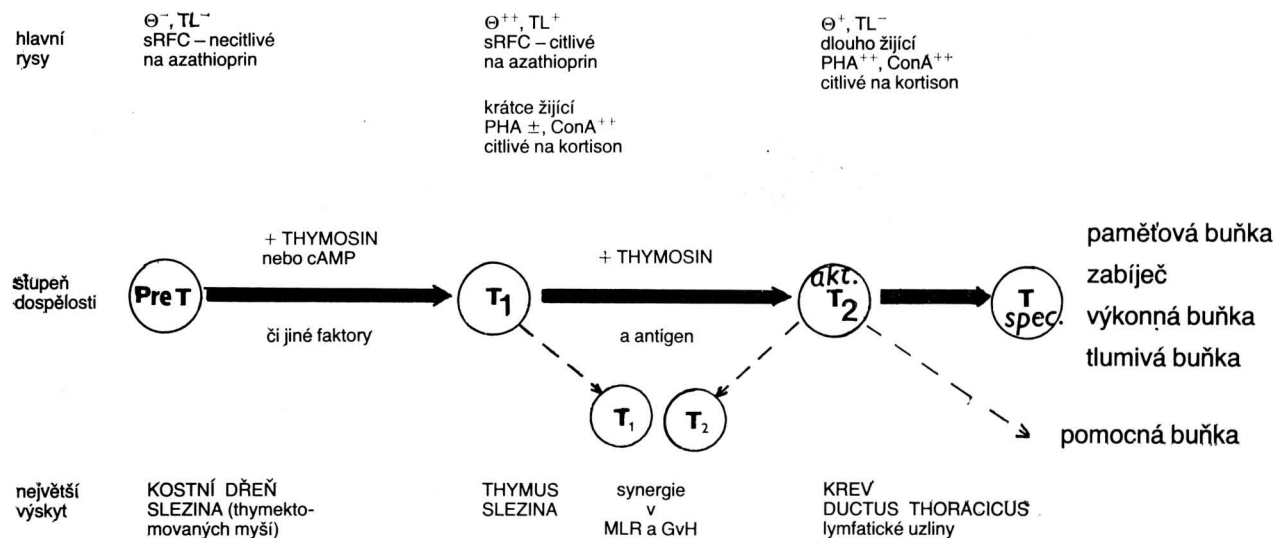
Základní vlastností bezbuněčných thymových extraktů je jejich lymfocytopoetický efekt při opakované aplikaci normálním, thymektomovaným a celotělově ozářeným myším. Na obr. 5 je znázorněno hypotetické schéma působení jednoho z thymových hormonů — thymosinu u myši. Provedené studie naznačují, že thymosin může působit jednak na lymfoidní kmenové buňky (již určené k vývoji „T“ směrem —pre T buňky—), které nebyly ještě vystaveny vlivu thymu, a jednak na buňky, které již prošly thymem a jsou v některém časném stadiu svého vývoje. V důsledku tohoto procesu pak dochází k rychlému dospívání pre T buněk na imunologicky kompetentní T lymfocyty.

Snížení funkce thymu ve stáří vede k poklesu sekrece thymosinu, který má za následek pokles optimálního počtu a poměru jednotlivých subpopulací T buněk. Snížení T-pomahačů a výkonných typů T buněk je z velké části zodpovědné za nižší imunitní reaktivitu ve stáří a snad i vyšší výskyt zhoubných nádorů. Shimaoka a Sokal (1977) popsali dva případy vzniku chronické myeloidní leukémie v důsledku ozáření thymu v raném dětství.

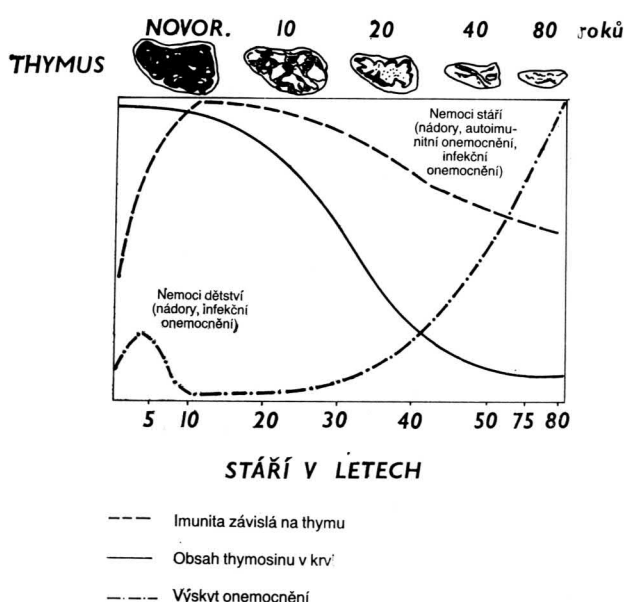
Na obrázku 6 je znázorněn vývoj thymu během života člověka, imunity závislé na thymu a obsahu thymosinu v krvi v závislosti na věku. Z obrázku je zřejmé, že se stoupajícím věkem thymus atrofuje, klesá obsah thymosinu v krvi i imunita závislá na thymu. Na základě těchto pozorování byly provedeny i první klinické studie, kde bylo použito léčby thymosinem. Wara aj. (1975) a Goldstein aj. (1976) pozorovali nápadné zlepšení klinického stavu u dětí s primárními imunodeficitními onemocněními po týdenní léčbě thymosinem.

V našich studiích [Vávrová a Petýrek, 1976; Vávrová, 1978] jsme se snažili zlepšit průběh nemoci z ozáření u myši profylaktickým nebo terapeutickým podáním thymosinu. Sledovali jsme vliv thymosinu aplikovaného tři dny před ozářením, v den ozáření a tři dny po ozáření v dávce 1 mg/myš/den na třicetidenní přežívání myši-samců ozářených stoupajícími dávkami gama záření v rozmezí 6,24—8,16 Gy. Zatímco v neléčené skupině po dávkách 6,24 a 6,72 Gy přežívá pouze 15—30 % myši, ve skupině léčené thymosinem je přežívání 100%. Dávka 7,2 Gy byla pro neléčené 100% letální dávkou, kdežto po aplikaci thymosinu přežívá 80 % zvířat. Při dalším zvyšování dávky nebyl ochranný účinek thymosinu již tak výrazný.

Na obrázku 7 jsou znázorněny změny inkorporace ¹²⁵IUdR do sleziny a thymu u myši ozářených dávkou 4,80 Gy gama záření (⁶⁰Co) u ozářené neléčené skupiny a u skupiny léčené thymosinem. Podobně jako po RTG ozáření dochází i po gama ozáření k inhibici buněčného dělení a tím i poklesu inkorporace ¹²⁵IUdR do obou



Obr. 5. Schéma předpokládané aktivity thymosinu na dospívání myších T lymfocytů. Dle Cohen aj., 1975.



Obr. 6. Vývoj imunity závislé na thymu během života člověka. Dle Goldstein aj., 1974.

sledovaných orgánů. Aplikace thymosinu urychluje obnovu inkorporace jak do sleziny tak i do thymu.

Průběh zotavování schopnosti slezinných buněk myši kmene CBA ozářených dávkou 4,80 Gy a léčených thymosinem vyvolat lokální GvHR u F₁ hybridů, je znázorněn na obrázku 8. Podobně jako myši po celotělovém RTG ozáření mají i slezinné buňky od myši ozářených paprsky gama podstatně sniženu schopnost vyvolat GvHR. Thymosin podaný myším před a po celotělovém ozáření obnovuje tuto jejich schopnost především 9. a 30. den po ozáření. Je třeba podotknout, že účinek thymosinu je menší, než byl účinek stínění thymu během ozáření.

Goodman a Grubs [1970] předpokládají, že interakce mezi thymocyty a buněčným systé-

mem kostní dřeně jsou způsobeny humorálním faktorem, jehož krátkodobá přítomnost je důležitá pro proliferační aktivitu buněk kostní dřeně. Jak velký je podíl thymosinu v regeneračních procesech krvetvorby probírajících po celotělovém ozáření jsme sledovali jednak pomocí metody vzniku endogenních kolonií na slezinách a jednak stanovením buněčnosti kostní dřeně femuru.

V tabulce 3 jsou uvedeny změny počtu endogenních kolonií na slezinách u myši ozářených dávkou 4,80 Gy, kterým byl v různou dobu před anebo po ozáření aplikován thymosin. Jako nejvhodnější interval pro aplikaci se ukázala doba tři dny před ozářením, v den ozáření a tři dny po ozáření, kdy jsme pozorovali největší vzestup počtu endogenních kolonií na slezinách.

Na obrázku 9 jsou znázorněny změny buněčnosti kostní dřeně po ozáření myši ⁶⁰Co dávkou 4,80 a 6,72 Gy. Pokles počtu jaderných buněk je po ozáření mohutný a po vyšší dávce přetrvá-

Tab. 3

Srovnání účinku thymosinu aplikovaného v různých intervalech před nebo po ozáření dávkou 4,80 Gy na počet endogenních kolonií 9. den po gama ozáření

Skupina	CTO	TH 1	TH 2	TH 3
Počet kolonií	6,06	11,7	40	25

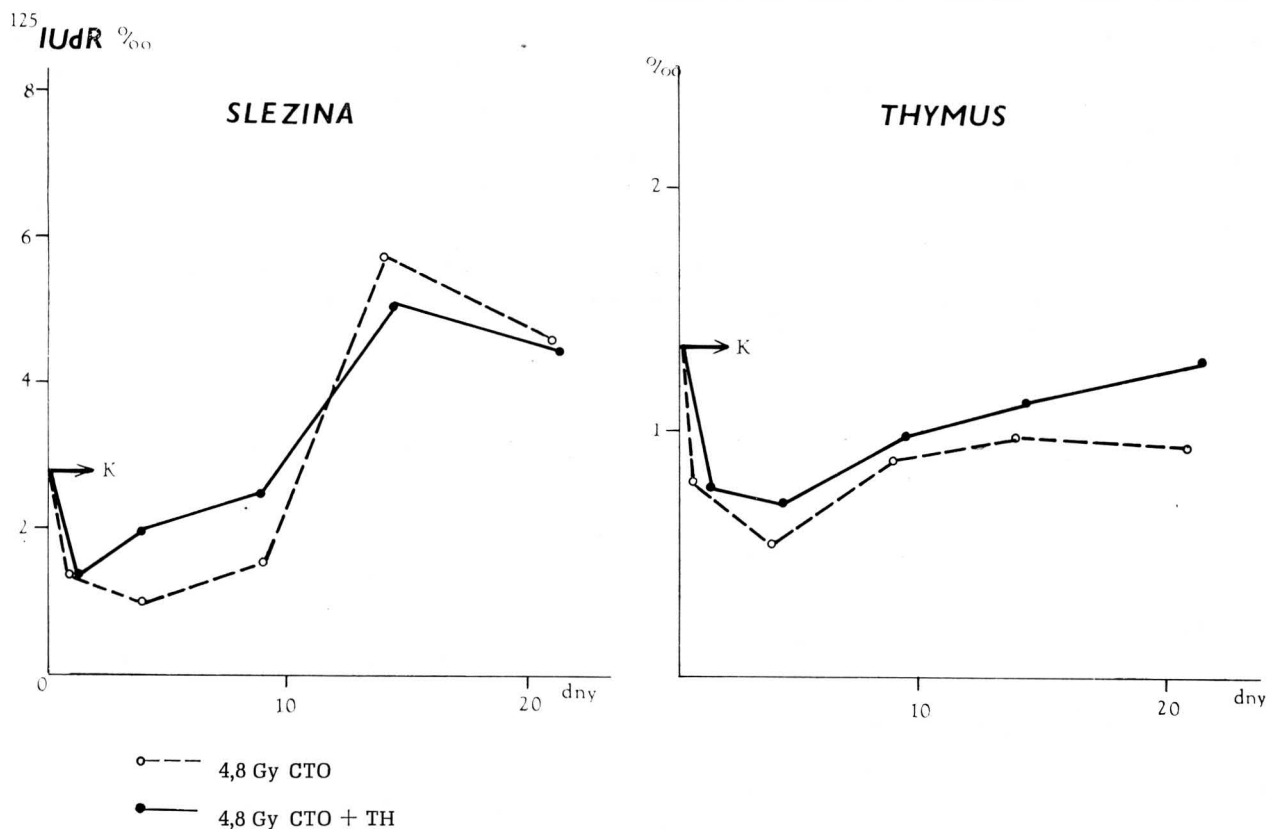
CTO – skupina ozářená celotělově dávkou 4,80 Gy ⁶⁰Co aplikován fyziologický roztok 7 krát.

TH 1 – skupina ozářená celotělově dávkou 4,80 Gy ⁶⁰Co aplikován thymosin 1 mg/myš a den 7 dní po ozáření.

TH 2 – skupina ozářená celotělově dávkou 4,80 Gy ⁶⁰Co aplikován thymosin 1 mg/myš a den 3 dny před, v den ozáření a tři dny po ozáření.

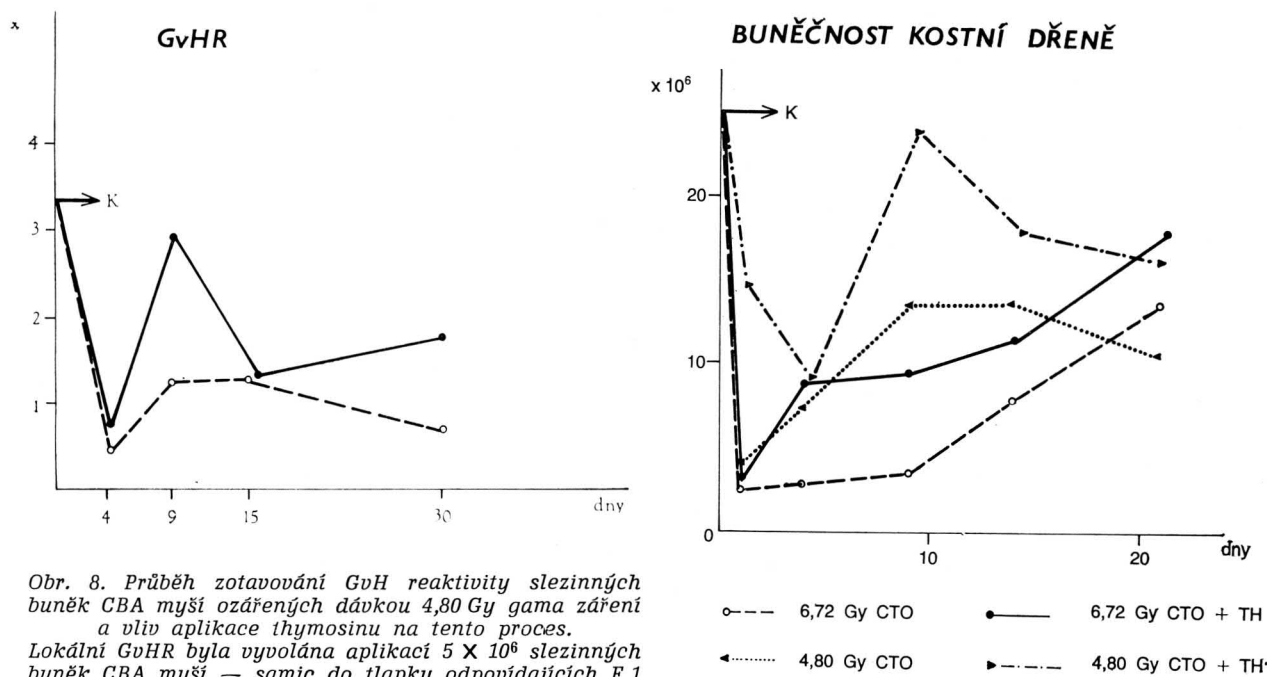
TH 3 – skupina ozářená celotělově dávkou 4,80 Gy ⁶⁰Co aplikován thymosin 1 mg/myš a den 7 dní před ozářením.

Počet endogenních kolonií byl stanoven metodou Tilla a McCullocha (1961).



Obr. 7. Změny inkorporace $^{125}\text{IUDr}$ do sleziny a thymu u myši F1 hybridů (samic) po gama ozáření dávkou 4,80 Gy a aplikaci thymosinu

[K — kontrolní neozářená skupina; CTO — skupina ozářená celotělově gama paprsky ^{60}Co ; TH — skupina, které byl 3 dny před celotělovým ozářením, v den ozáření a třídny po ozáření aplikován thymosin v dávce 1 mg/myš a den



Obr. 8. Průběh zotavování GvH reaktivity sleziných buněk CBA myši ozářených dávkou 4,80 Gy gama záření a vliv aplikace thymosinu na tento proces. Lokální GvHR byla vyvolána aplikací 5×10^6 sleziných buněk CBA myši — samic do tlapky odpovídajících F1 hybridů x — jako u obr. 2. Ostatní symboly stejné jako u obr. 7.

vá až do 9. dne. Regenerace je pomalá a ani 21. den není dosaženo hodnot kontrolní neozářené skupiny. Z obrázku je zřejmé, že v průběhu celého sledovaného intervalu je po aplikaci thy-

Obr. 9. Změny buněčnosti kostní dřeně femuru myši po gama ozáření a aplikaci thymosinu. Použitá metodika — viz obr. 3. Symboly stejné jako u obr. 7.

mosinu vyšší buněčnost kostní dřeně ozářených zvířat.

Ukázalo se, že aplikace thymosinu ozářeným zvířatům má významný vliv na regeneraci lymfoidních a krvetvorných tkání a imunologické reaktivity těchto zvířat. Důsledkem tohoto lepšího stavu je pak zvýšené přežívání celotělově ozářených myší.

7. Závěr

V této naší práci jsme chtěli upozornit na vysokou radiosenzitivitu lymfoidních tkání a imunologické reaktivity ozářeného organismu. Snížená obranyschopnost ozářeného organismu přetrvává i po subletálních dávkách záření řádu měsíců. U ozářených je zvýšena citlivost k bakteriálním i virovým infekcím a je u nich častější výskyt maligních onemocnění.

Thymus je nejen důležitý lymfoidní orgán, ale je také zapojen do endokrinního systému a secernuje jeden nebo více hormonů majících lymfostimulační účinky.

Stínění thymu během ozáření nebo aplikace thymosinu má významný stimulační účinek nejen na regeneraci poškozených lymfoidních tkání a imunologické reaktivity ozářených myší, ale také na regenerační procesy krvetvorby probíhající po ozáření gama nebo RTG paprsky.

Literatura

- Anderson, B. - Blomgren, H., *Cell. Immunol.*, 1, 1970, s. 362.
- Anderson, R. E. - Sprent, J. - Miller, J. F. A. P., *Eur. J. Immunol.*, 4, 1974, s. 199.
- Anderson, R. E. - Warner, N. L.: Ionizing radiation and the immune response. In: *Adv. Immunol.*, 24, ed Dixon, F. J., Acad. Press New York 1976, s. 215.
- Asanuma, Y. - Goldstein, A. L. - White, A., *Endocrinology*, 86, 1970, s. 601.
- Bach, J. F. - Dardenne, M., *Immunology*, 25, 1973, s. 353.
- Bach, J. F. - Dardenne, M. - Bach, M. A., *Transpl. Proc.* 5, 1973, s. 99.
- Van Bekkum, D. W.: The biological activity thymic hormones. Rotterdam, Kooyker Scientific Publications, 1975, 268 s.
- Van Bekkum, D. W. - DeVries, M. J.: Radiation chimerae. Academic Press, London and New York, 1967.
- De Bruyn, P., *Anat. Rec.* 101, 1948, s. 373.
- Cantor, H. - Boyse, E. A.: Characterization of subclasses of T-lymphocytes at different stages of thymus-dependent differentiation. In: *The biological activity of thymic hormones*. Rotterdam, Kooyker Scientific Publications, 1975, s. 77.
- Cohen, J. J. - Hooper, J. A. - Goldstein, A. L., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 249, 1975, s. 145.
- Cross, A. M. - Leuchars, E. - Miller, J. F. A. P., *J. Exp. Med.*, 119, 1964, s. 837.
- Goldstein, A. L. - Guha, A. - Zatz, M. M. - White, A., *Fed. Proc.*, 31, 1972, s. 418.
- Goldstein, A. L. - Hooper, J. A. - Schulof, R. S. - Cohen, G. H., *Fed. Proc.*, 33, 1974, s. 2.
- Goldstein, A. L. - Thurman, G. B. - Cohen, G. H. - Rosio, J. L., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 274, 1976, s. 390.
- Goodman, J. W. - Grubs, C. G.: The relationship of the thymus to erythropoiesis. In: *Hemopoietic cellular proliferation*. Stohlman, F. Jr. (ed), New York, Grune and Strotton 1970, s. 26.
- Hayakawa, J. - Tsuchiya, T., *Radiat. Res.*, 68, 1976, s. 31.
- Hooper, J. A. - McDaniel, M. C. - Thurman, G. B., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 249, 1975, s. 125.
- Kataoka, Y. - Sado, T., *Immunology*, 29, 1975, s. 121.
- Kakinodan, T. - Kastenbaum, M. A. - Peterson, W. J., *J. Immunol.*, 88, 1962, s. 31.
- Miclem, H. S. - Brown, S. A. H., *Immunology*, 4, 1961, s. 318.
- Miller, J. F. A. P., *Lancet*, 2, 1961, s. 748.
- Miller, J. F. A. P., *Proc. Roy. Soc. Biol.*, 156, 1962, s. 415.
- Poverenny, A. M. - Semina, O. V. - Semenets, T. N., *Stud. biophys.*, 86, 1981, s. 75.
- Sainte-Marie, G. - Leblond, C. P., *Blood*, 23, 1964, s. 275.
- Shimaoka, K. - Sokal, J. E., *New York State J. Med.* 77, 1977, s. 2226.
- Stutman, O. E. - Yunis, E. J. - Good, R. A., *J. Exp. Med.*, 135, 1972, s. 339.
- Takada, A. - Takada, Y. - Huang, C. C. - Ambrus, J. L., *J. Exp. Med.*, 129, 1969, s. 445.
- Till, J. E. - McCulloch, E. A., *Radiat. Res.*, 14, 1961, s. 213.
- Trowel, O. A., *Int. J. Radiat. Biol.*, 4, 1961, s. 163.
- Vávrová, J.: Thymový humorální faktor a jeho použití při ovlivnění nemoci z ozáření u myší. Kandidátská disertační práce, Hradec Králové 1978, 166 s.
- Vávrová, J. - Petýrek, P., *Fol. biol. (Praha)* 22, 1976, s. 320.
- Vávrová, J. - Petýrek, P.: Stínění thymu a kostní dřevě během X-ozáření. In: *Sb. věd. prací VLVDÚ JEP*, 90, 1982, s. 71.
- Wara, D. W. - Goldstein, A. L. - Doyle, W. - Amman, A. J., *New England J. Med.*, 292, 1975, s. 70.
- White, A.: Thymus hormones: A new field in endocrinology and its significance for host immunological competence. In: *The biological activity of thymic hormones*. Van Bekkum, D. W. ed. Rotterdam, Kooyker Scientific publications 1975, s. 17-24.
- Zipori, D. - Trainin, N., *Blood*, 42, 1973, s. 671.

Klíčová slova: Thymus; Sekundární lymfoidní tkáň; Radiosenzitivita T a B lymfocytů; Thymosin; Nemoc z ozáření.