

І. Ф. Лабунець

Диференціювання тимоцитів при старінні: роль пептидних факторів епіфіза

У взрослых и старых самцов мышей линии СВА/Са с помощью моноклональных антител к разным лимфоцитарным антигенам мышей исследованы особенности некоторых этапов дифференцировки тимоцитов. Установлено, что в тимусе старых мышей увеличивается доля CD4CD8⁺ и CD44⁺-клеток, в том числе с фенотипом CD44⁺Thy-1⁺. Процентное содержание CD4⁺CD8⁺-тимоцитов существенно не изменяется, тогда как CD25⁺, PNA⁺, CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁺ и CD4CD8⁺-клеток уменьшается. При старении изменяются количественные отношения отдельных субпопуляций тимоцитов, характеризующие разную степень их зрелости в сторону преобладания менее "зрелых". У старых мышей, получавших длительно (в течение 18 мес) эпیتالамин, в тимусе уменьшается доля CD44⁺, CD44⁺Thy-1⁺ и CD3⁺-клеток и повышается - CD25⁺, CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁺ и CD4CD8⁺-клеток. По многим показателям тимус этих старых животных соответствует взрослым мышам. После введения препарата титр одного из гормонов тимуса - тимического сывороточного фактора - значительно увеличивается не только в крови, но и супернатанте 3-часовых культур стромы тимуса.

ВСТУП

Відомо, що диференціювання Т-лімфоцитів відбувається у тимусі впродовж всього періоду онтогенезу [24,25]. Цей процес характеризується поетапною експресією на клітинах низки маркерів, які відображають причетність тимоцитів до певної зони органа, стадії зрілості, субпопуляції, а також є віддзеркаленням їх функціональної спроможності [11, 12].

У разі старіння змінюється не тільки маса тимуса, але й кількість і співвідношення основних субпопуляцій клітин органа [24]. Ці зміни є ключовими для вікових порушень функції периферичної ланки Т-системи імунітету [2,17].

Серед факторів, які контролюють диференціювання Т-клітин у тимусі, важливе значення мають гормони залози, вміст яких в організмі з віком значно зменшується [5, 17]. Встановлено, що вони впливають не тільки на внутрішньотимічну, але й претимічну стадію диференціювання лімфоцитів, яка відбувається у кістковому мозку [11].

У свою чергу тимус, як центральний орган імунної системи, функціонує під впливом нейроендокринної системи, фактори якої чинять дію на епітеліальний і лімфоїдний компонент органа [14]. Серед нейроендокринних утворень значне місце займає епіфіз [9]. Біологічно активні фактори залози індольної та пептидної природи (мелатонін, епіталамін) підвищують масу тимуса у старих тварин і сповільнюють темпи вікових змін функції периферичної ланки імунної системи [15]. Нами встановлено, що одноразова ін'єкція епіталаміну мишам різного віку викликає у них значну активацію тимічної гормональної функції [6]. Разом з тим, питання про вплив пептидних факторів епіфіза на диференціювання Т-лімфоцитів у тимусі при старінні та можливі ендокринні механізми цього процесу залишаються недостатньо вивченими.

Мета - дослідити вплив епіталаміну на зміни маркерів диференціювання тимоцитів у старих мишей лінії СВА, а також оцінити значення гормонів тимуса в реалізації цього впливу.

© І. Ф. Лабунець

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 8 дорослих (3-4 міс) і 16 старих (22 міс) мишах-самцях лінії СВА/Са з розплідника Інституту геронтології АМН України.

Пептидний фактор епіфіза епіталамін вводили групі мишей (n=8) курсами, починаючи з 4-місячного віку, коли у тварин реєструвалися перші ознаки порушень функції тимуса [5]. Контрольна група тварин (n=8) того ж віку отримувала 0,9 %-й розчин хлориду натрію. Курс складався з 5 ін'єкцій, двічі на тиждень, інтервал між курсами 2-3 міс, всього 6 курсів. Разова доза епіталаміну 0,5 мг на 100 г маси тіла, 0,9%-го розчину хлориду натрію - $1,0 \cdot 10^{-3}$ л на 100 г маси. Дослідження в цих групах тварин виконані у віці 22 міс, через 2 міс після останньої ін'єкції препаратів. Результати порівнювали з групою інтактних 3-4-місячних мишей. Всіх мишей декапітували під ефірним наркозом у ранкові часи (10.00-11.00) доби.

Гормональну функцію тимуса оцінювали за вмістом у крові тимічного сироваткового фактора (ТСФ) [13]. Крім того, вміст гормону вимірювали у супернатанті тригодинних культур стромы тимуса [6]. Для цього з органа вилучали клітини, а стромальну тканину, яка залишилась, інкубували в середовищі 199 у об'ємі $1 \cdot 10^{-3}$ л при 37°C упродовж 3 год. Потім супернатант, як і сироватку, пропускали через ультрафільтр CF-25 ("Amicon", США). Фільтрати послідовно розводили і використовували для визначення вмісту гормону в тесті, який оснований на відновленні чутливості спонтанних розеткоутворюючих клітин селезінки мишей з вилученим тимусом до антитимоцитарної сироватки. Результати виражали у \log_2 титру.

Для визначення клітинних маркерів суспензію тимоцитів ($1 \cdot 10^6$ клітин, розведених у $1 \cdot 10^{-4}$ л середовища 199) розносили по комірках 96-луночного планшета. До останніх додавали в певних поєднаннях по $5 \cdot 10^{-5}$ л (у розведенні 1:25-1:50) моноклональних антитіл (МАТ) до різних лімфоци-

тарних антигенів мишей. У роботі були використані мічені флюоресцеїном (ФІТС) антитіла до CD3, Lyt-2 (CD8), IL-2 рецептора (CD25), Pgp-1 (CD44), а також біотиніровані антитіла до Thy-1 та L3T4 (CD4) ("Sigma", "Becton Dickinson", США). Тимоцити інкубували з МАТ упродовж 1 год при 4°C і двічі відмивали фосфатно-сольовим буфером (рН 7,4). У разі використання непрямих МАТ до тимоцитів додавали по $5 \cdot 10^{-5}$ л авідин-фікоеритрину у розведенні 1:50. Після 20-хвилинної інкубації при 4°C клітини знову відмивали фосфатно-сольовим буфером, а потім всі групи тимоцитів фіксували 2 %-м параформом у об'ємі $1,5 \cdot 10^{-4}$ л [4]. Число різних субпопуляцій тимоцитів (у відсотках на 300 тис. клітин) підраховували на цитофлюориметрі "FACStar Plus" ("Becton Dickinson", США).

Для визначення числа тимоцитів, які мають рецептор до аглютиніну арахісу (PNA), $1 \cdot 10^{-4}$ л суспензії, яка містить $1 \cdot 10^6$ клітин інкубували протягом 1 год при 4°C з $5 \cdot 10^{-5}$ л PNA-ФІТС. У роботі використовували розведення останнього 1:100, яке не викликає вираженої аглютинації тимоцитів. Потім клітини двічі відмивали фосфатно-сольовим буфером і фіксували у $1,8 \cdot 10^{-4}$ л параформу з додаванням 2% синього Еванса (у співвідношенні 10:1). Наступної доби готували клітинний препарат типу "висушена крапля", в якому під люмінесцентним мікроскопом (у відсотках на 200 клітин) підраховували число клітин PNA⁺ [4].

Статистична обробка результатів проводилась з використанням критерію t Стьюдента [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень клітинного складу тимуса у дорослих і старих мишей та його зміни у останніх під впливом епіталаміну наведено на рис. 1 і в таблиці. Аналіз значень показників проведено з урахуванням окремих стадій диференціювання тимоцитів [11]. Для цього використовували такі поєднання

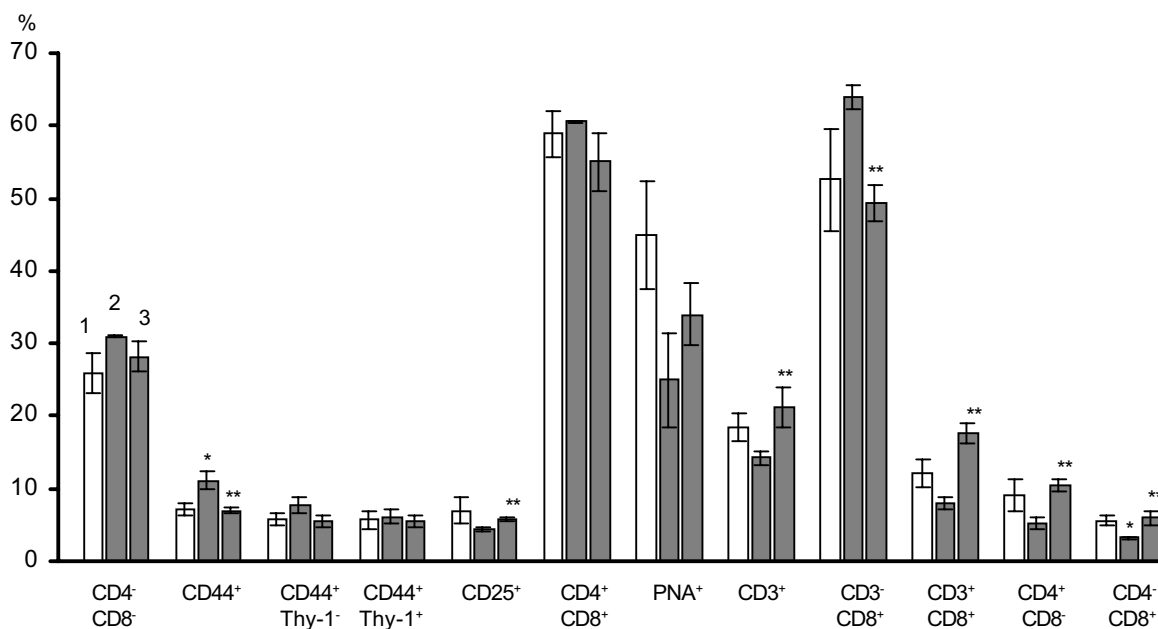


Рис. 1. Розподіл тимоцитів за маркерами диференціювання (%) у дорослих (1) і старих мишей (2) та їх зміни у останніх під впливом епіталаміну (3).

* P<0,05 порівняно зі значеннями дорослих мишей; ** P<0,05 порівняно з групою старих тварин, які отримали 0,9%-й розчин хлориду натрію.

МАТ, які б дали можливість зробити це з певною часткою вірогідності. Дослідження проведено в два етапи.

1. Вивчення вікових особливостей диференціювання Т-лімфоцитів у тимусі.

Із результатів рис.1 видно, що у тимусі старих мишей кількість окремих субпопуляцій тимоцитів змінюється відносно таких у дорослих тварин. Так, з віком частка подвійно-негативних (ПН) CD4⁻CD8⁻ – тимоцитів,

CD44⁺Thy-1⁻-клітин і особливо тих, що мають фенотип CD44⁺ збільшується, тоді як відсоток CD25⁺- тимоцитів дещо зменшується. Хоча при старінні відсоток подвійно-позитивних (ПП) тимоцитів з фенотипом CD4⁺CD8⁺ істотно не змінюється, майже вдвічі зменшується частка ПП тимоцитів з рецептором до PNA. Частка CD3⁺ і CD3⁺CD8⁺-клітин у тимусі з віком зменшується, тоді як частка CD3⁻CD8⁺-тимоцитів

Співвідношення тимоцитів з різними маркерами у дорослих і старих мишей та їх зміни у старих тварин під впливом епіталаміну

Співвідношення тимоцитів з різними маркерами	Дорослі миші	Старі миші, які отримали 0,9%-й розчин хлориду натрію	Старі миші, які отримали епіталамін
CD44 ⁺ Thy-1 ⁻ /CD44 ⁺ Thy-1 ⁺	1,0:1,0	1,3:1,0	1,0:1,0
CD44 ⁺ /CD25 ⁺	1,1:1,0	2,5:1,0	1,2:1,0
CD4 ⁺ CD8 ⁺ /PNA ⁺	1,3:1,0	2,4:1,0	1,6:1,0
CD4 ⁺ 8 ⁻ /CD4 ⁻ 8 ⁺	1,6:1,0	1,6:1,0	1,8:1,0
CD3 ⁺ /CD3 ⁺ 8 ⁺	1,5:1,0	1,8:1,0	1,2:1,0
ОП/ПП/ПН	1,0:4,0:1,8	1,0:7,0:4,0	1,0:3,3:1,7

дещо збільшується. У тимусі старих тварин спостерігається зменшення частки однократно позитивних (ОП) клітин з фенотипом $CD4^+CD8^-$ і $CD4^+CD8^+$.

При старінні також змінюються кількісні співвідношення різних субпопуляцій тимоцитів, особливо виразно з фенотипом $CD44^+$ і $CD25^+$, $CD4^+CD8^+$ і PNA, а також ОП, ПП і ПН тимоцитів (див.таблицю).

Відомо, що найменш зрілими клітинами тимуса є протимоцити. Вони мігрують у залозу із кісткового мозку і мають фенотип $Thy-1^+CD44^+CD3^-CD4^-CD8^-$. Далі останні проходять через стадії власне трьохнегативних (ТН) і ПН клітин, відповідно до фенотипу $Thy-1^+$, $CD44^+CD3^-CD4^-CD8^-$ та $Thy-1^+CD44^-CD3^+CD4^-CD8^-$ [11,26].

Хоча всі згадані вище групи клітин не мають маркерів CD4 і CD8, гетерогенність за експресією інших антигенів дає змогу визначити їх субпопуляційний склад і причетність до тієї чи іншої стадії диференціювання. Так, протимоцити несуть не тільки маркер кістковомозкових попередників Т-лімфоцитів (ПТлф) CD44, але й пан-Т-клітинний антиген Thy-1. Наявність останнього притаманна найбільш “зрілим” ПТлф2, які в основному і мігрують із кісткового мозку в тимус [11]. Меншу здатність до цього проявляють “незрілі” ПТлф1, що не мають антигена Thy-1. Тому отримані нами результати визначення частки та співвідношення $CD44^+Thy-1^+$ і $CD44^-Thy-1^-$ тимоцитів у старих мишей можуть певною мірою відображати зміну в органі при старінні кількості ПТлф2 і Птлф1 відповідно.

На відміну від протимоцитів і ПН клітин, експресія рецептора до IL-2 притаманна окремим субпопуляціям власне ТН тимоцитів мишей і характеризує більш “зрілу” стадію їх розвитку порівняно з IL-2R⁻ клітинами [22,23]. Мабуть тому встановлене нами збільшення частки менш “зрілих” $CD44^+$ -клітин у тимусі старих мишей, особливо тих, які не несуть антигену Thy-1, на тлі зменшення частки більш зрілих $CD25^+$ тимоцитів може свідчити про порушення диференціювання Т-лімфоцитів як на стадії кістковомозгових ПТлф,

так і власне ТН тимоцитів, а саме на етапі переходу $CD44^+CD25^-$ у $CD44^-CD25^+$ -клітини. Наші результати підтверджують дані інших авторів, які виявили накопичення у органі старих мишей числа тимоцитів з “незрілим” фенотипом $CD44^+CD4^-CD8^-$ та гальмування переходу ПН у ПП клітини [24,26].

Слід відзначити зменшення частки ПП тимоцитів з рецептором до PNA у старих мишей. Відомо, що у тимусі молодих тварин на етапі переходу кортикальних тимоцитів у медулярні кількість PNA^+ -клітин і/або експресія рецептора до PNA зменшується [11]. Оскільки у разі старіння вміст зрілих тимоцитів зменшується, можна припустити, що встановлене нами вікове зниження числа PNA^+ -клітин швидше за все є результатом змін клітинної мембрани і порушення впливу на неї факторів диференціювання [2,17]. У свою чергу, зменшення експресії рецептора до PNA на тимоцитах старих мишей може послабити їх взаємодію з мембранними лектинами тимічних макрофагів [27]. Останні є одним із компонентів механізму апоптозу і за звичайних умов фагоцитують в основному бластні форми тимоцитів з фенотипом $PNA^+CD4^+CD8^+$, які слабо експресують комплекс CD3-Т-клітинний рецептор (ТКР) $\alpha\beta$ типу [18].

Крім того, нами встановлено, що з віком частка $CD3^+$ -тимоцитів зменшується. Антиген CD3 є одним із основних маркерів ПП тимоцитів. Разом з тим, його слаба експресія спостерігається також на найбільш зрілих ПН клітинах, які вже втратили Pgp-1 та IL-2R-антигени, і виражена - на медулярних тимоцитах [11,24]. Тому відсоток $CD3^+$ -тимоцитів найімовірніше відображає загальний вміст в органі клітин, які здатні формувати комплекс CD3 з ТКР, за допомогою якого лімфоцити взаємодіють з антигенпрезентуючою клітиною.

Таким чином, наші результати і дані літератури свідчать про те, що з віком змінюються властивості також і ПП тимоцитів. Послаблення експресії на мембрані рецептора до PNA і, певним чином, CD3 може призвести

до вікових порушень селекції Т-лімфоцитів у тимусі та формування лімфоїдних клонів з підвищеною аутореактивністю [2,21].

Тимоцити ОП в основному виконують функції всередині органа, які спрямовані на створення внутрішнього середовища тимуса і забезпечення розвитку в ньому Т-лімфоцитів [11]. Так, зрілі $CD4^+$ -тимоцити за механізмом зворотного зв'язку регулюють диференціювання лімфоцитів у залозі, діючи на стадії ПТлф, а також на етапі переходу ПН у ПП клітини [26]. Не виключено, що зменшення числа $CD4^+$ -тимоцитів та/або послаблення їх зворотного регуляторного впливу на фенотипічні зміни Т-клітин у органі сприяє збільшенню пулу тимоцитів з маркерами $CD44^+CD3^-CD8^+$ [24,26]. Вважають, що клітини з $CD3^-CD8^+$ -фенотипом знаходяться на проміжній стадії розвитку між ПН і ПП клітинами і є безпосередніми попередниками останніх [11].

Зменшення у старих мишей також відсотка тимоцитів зі "зрілим" фенотипом $CD3^+CD8^+$, які несуть $\alpha\beta$ тип ТКР [11] є ще одним підтвердженням вікових порушень диференціювання тимоцитів. Ці зміни можуть відобразитися не лише на функціонуванні самого тимуса, але й периферичних регуляторних Т-лімфоцитів [2,17].

2. Дослідження впливу епіталаміну на маркери диференціювання Т-лімфоцитів у тимусі. Роль ендокринної функції залози.

У старих тварин після довготривалого введення епіталаміну зменшується частка не тільки $CD44^+$ -тимоцитів, але й найменш "зрілих" серед останніх $CD44^+Thy-1^-$ клітин (див. рис.1, таблицю). Одночасне збільшення відсотка $CD25^+$ тимоцитів призводить до відновлення співвідношення кількості останніх і $CD44^+$ -клітин. Під впливом препарату серед всіх ПП клітин дещо зростає частка PNA^+ -тимоцитів (див. рис.1, таблицю). У тварин цієї групи також істотно зменшується відсоток $CD3^-CD8^+$ -тимоцитів, тоді як частка $CD3^+$, $CD3^+CD8^+$, а також $CD4^+CD8^-$ і $CD4^-CD8^+$ -клітин - значно збільшується. Слід зазначити, що тимус старих мишей, які отримали

епіталамін, за багатьма показниками і, що особливо важливо, їх співвідношеннями подібний залозі дорослих мишей.

Результати визначення титру ТСФ у сироватці крові та супернатанті тригодинних культур строми тимуса мишей різних експериментальних груп наведено на рис. 2. З віком титр тимічного гормону суттєво зменшується в циркуляції та у супернатанті культивованої строми органа, тоді як у старих мишей через 2 міс після останньої ін'єкції епіталаміну значення показників істотно збільшуються.

Таким чином, пептидний фактор епіфіза сповільнює формування вікових порушень диференціювання Т-клітин у тимусі. Його вплив розповсюджується тією чи іншою мірою на всі стадії фенотипічних змін тимоцитів. Одним із основних механізмів такої дії епітала-

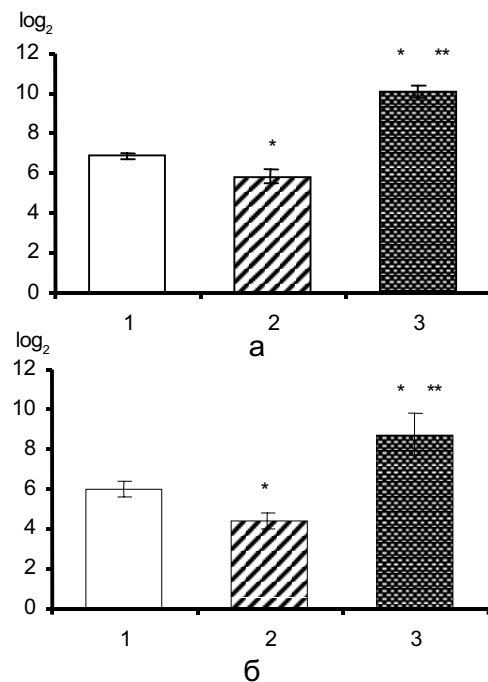


Рис. 2. Титр тимічного сироваткового фактора (\log_2) у крові (а) та супернатанті 3 годинних культур строми тимусів (б) у дорослих мишей (1), у старих мишей, які отримали 0,9%-й розчин хлориду натрію (2) та у старих мишей, які отримали епіталамін.

* $P < 0,05$ порівняно зі значеннями дорослих мишей;
** $P < 0,05$ порівняно з групою старих тварин, які отримали 0,9%-й розчин хлориду натрію.

ламину є активація ендокринної функції тимуса у старих мишей. Підвищення вмісту гормону у супернатанті культур строми органа може бути доказом дійсно посилення процесів синтезу та секреції гормону епітеліальним компонентом тимуса, а не є проявом вікових змін його фармакодинаміки. Можливість активації функції залози у старому організмі також припускається і іншими авторами [16].

Відомо, що ТСФ (тимулін) - це істинний, високоактивний гормон залози, який бере участь у всіх етапах диференціювання Т-лімфоцитів [3,10]. Так, у кістковому мозку під впливом субоптимальних доз циркулюючого гормону ПТлф1 експресують Thy-1-антиген і переходять у більш зрілі ПТлф2. Крім того, ТСФ відіграє роль хемотаксичного сигналу, який поряд з іншими факторами забезпечує міграцію ПТлф у тимус [11]. Мабуть тому у залозі старих тварин, які отримували епіталамін, збільшується частка CD44⁺Thy-1⁺-клітин.

У самому тимусі ТСФ разом з іншими гормонами (α 1-тимозин, тимопоетин) впливає на процес власне внутрішньотимічного диференціювання клітин, при цьому поєднуючи в собі функції багатьох гормонів [11]. ТСФ регулює експресію антигенів H-2, Thy-1, CD3 та синтез цитокінів CD4⁺-тимоцитами, усуває дисбаланс регуляторних Т-субпопуляцій [3,10,11]. Тому можна припустити, що підвищення вмісту ТСФ у супернатанті строми органа після введення епіталаміну сприяє *in situ* позитивним фенотипічним змінам тимоцитів. Внаслідок регуляторного впливу ТСФ на тимоцити можуть поліпшуватися внутрішньотимічні зв'язки між окремими субпопуляціями тимоцитів, оскільки у старих мишей, які отримали препарат, відновлюється кількісне співвідношення "зрілих" тимоцитів і ПТлф.

Вплив епіталаміну на секрецію тимічним епітелієм ТСФ може бути прямим [6] або опосередкованим іншими гормонами. У тварин різного віку після введення епіталаміну підвищується вміст мелатоніну [1], до якого знайдені рецептори на епітеліальних

клітинах тимуса [19,20]. Під впливом препарату змінюється вміст у крові глюкокортикоїдів [7], які є модулятором не лише ендокринної функції тимуса, але й безпосередньо через свої рецептори в тимоцитах спричиняють зміни клітинного складу тимуса [3,14]. Не виключено, що епіталамін може діяти і *in vitro* на тимоцити, змінюючи в останніх вміст циклічних нуклеотидів, які є регуляторами метаболізму клітин, процесів їх проліферації та диференціювання [9].

Таким чином, отримані нами результати дозволяють поглибити існуючі уявлення про вікові особливості диференціювання тимоцитів і механізми сповільнюючого впливу пептидних факторів епіфіза на старіння центрального органа імунної системи.

I.F. Labunets

ALTERED DIFFERENTIATION OF THYMOCYTES AT AGING: ROLE OF PINEAL GLAND PEPTIDE FACTORS

The peculiarities of the differentiation of the thymocytes in adult and old CBA/Ca mice were studied with a help of the monoclonal antibodies to different lymphoid antigens of mice. In the thymus of old mice, the portions of the CD4⁺CD8⁻, CD44⁺ and CD44⁺Thy-1⁻ cells have been shown to be increased. The percentage of the CD4⁺CD8⁺-thymocytes did not change, whereas the portion of CD25⁺, PNA⁺, CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁻ and CD4⁻CD8⁺-cells diminished. The ratios of different subpopulations of thymocytes, characterizing different degree of their maturation are changing with age towards the prevalence of less mature cells. After prolonged (for 18 months) administration of epithalmine the portion of CD44⁺, CD44⁺Thy-1⁻ and CD3⁺CD8⁺-cells in the old thymus has been shown to be decreased, while that of CD25⁺, CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁻ and CD4⁻CD8⁺-cells increased. According to many parameters thymus of those old animals corresponds to adult mice. Epithalmine raised the titer of one of the thymic hormones - thymic serum factor, both in the blood of the old mice and in the supernatant of a 3-hour culture of the thymic stroma.

Institute of Gerontology AMS of Ukraine

Робота підтримана грантом 05.07/00076 "Епіфіз і диференціювання Т-лімфоцитів при старінні" (Державний фонд фундаментальних досліджень).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко Л.А., Анисимов В.Н. Возрастные особенности влияния эпиталамина на метаболизм серотонина в шишковидной железе у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1992. - **63**, № 2. - С. 194-195.
2. Бутенко Г.М. Старение иммунной системы // Пробл. старения и долголетия. - 1998. - **7**, № 3. - С.100-108.
3. Иммунобиология гормонов тимуса / Под ред. Ю.А.Гриневича, В.Ф.Чебаторева. - К.: Здоров'я, 1989. - 152 с.
4. Иммуноцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии / Под общ.ред. Пинчука В.Г., Глузмана Д.Ф. - К.: Наук. думка, 1990. - 232 с.
5. Лабунец І.Ф. Возрастные особенности ритмических колебаний эндокринной функции тимуса у животных // Журн. АМН Украины. - 2000. - **6**, № 4. - С.783-791.
6. Лабунец І.Ф., Бутенко Г.М. Влияние биологически активных факторов эпифиза на функциональное состояние тимуса и иммунной системы у стареющих животных // Пробл. старения и долголетия. - 1992. - **2**, № 3. - С.280-285.
7. Лабунец І.Ф., Магдич Л.В. Вплив епіталаміну на формування вікових змін циркадних взаємовідносин функції тимуса та кори надирникової залози у тварин. - В кн.: Мат. наук.-практ. конф (Харків, 17-19 лист. 1999 р.) // Ендокринологія. - 1999. - **4**, № 2. - С.250.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высш. школа, 1973. - 344 с.
9. Слепушкин В.Д., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. и др. Эпифиз, иммунитет и рак (теоретические и клинические аспекты). - Томск: Изд-во Томс. ун-та, Томск, 1990. - 148 с.
10. Ярилин Ф.Ф. Коррекция эндогенной выработки гормонов тимуса. Обоснование нового подхода к иммунореабилитации, иммунорегуляции // Int. J. Immunorehabilitation / Междунар. журн. иммунореабилитации. - 1998. - №10. - P.8-17.
11. Ярилин А.А., Пинчук В.Г., Гриневич Ю.А. Структура тимуса и дифференцировка Т-лимфоцитов. - К.: Наук. думка, 1991. - 248 с.
12. Ярилин А.А., Шарова Н.И., Дзудев А.Х., Колмогорова В.В. Последствия взаимодействия лимфоидных и эпителиальных клеток тимуса in vitro // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2000. - **86**, № 3. - С.285-291.
13. Bach J.F., Dardenne M., Bach M.A. Demonstration of a circulation thymic hormone in mouse and man // Transplant. Proc. - 1973. - **1**, N 1. - P.99-101.
14. Besedovsky H.O., del Rey A. Immune-neuroendocrine interreactions: facts and hypotheses // Endocrine reviews. - 1996. - **17**, N 1. - P.64-102.
15. Fabris N., Vocchegiani E., Provinciali M. Plasticity of neuroendocrine-thymus interaction during aging // Exp. Gerontology. - 1997. - **32**, N 4/5. - P.415-429.
16. Goya R.G. Bolognani F. Homeostasis, thymic hormones and aging // Gerontology. - 1999. - **45**, N 3. - P.174-178.
17. Hirocawa K. Immunity and aging. In: Principles and practice in geriatric medicine / Ed.M.S.G. Party. - Tokyo: John Willey and Sons Ltd, 1998. - P.35-47.
18. Inaba K., Inaba M., Kinashi T. et. al. Macrophages phagocytose thymic lymphocytes with productively rearranged T cell receptor and genes // J. Exp. Med. - 1988. - **168**, N 12. - P.2279-2294.
19. Liu Z., Zhao Y., Peng S. Identification of 2-[125I]iodomelatonin binding sites in the thymus of mice and its significance // Sci. Chine B. - 1995. - **38**, N 12. - P.1455-1461.
20. Reiter R.J. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data // Exp. Gerontology. - 1995. - **30**, N 3-4. - P.199-212.
21. Rodewald H.R. The thymus in the age of retirement // Nature. - 1998. - **396**, N 6712. - P.630-631.
22. Shimonkevitz R.P., Hussmann L.A., Bevan M.J., Crispe J. N. Transient expression of IL-2 receptor precedes the differentiation of immature thymocytes // Ibid. - 1987. - **329**. - P.157-159.
23. Tentori L., Pardoll D.M., Zuniga J.C. et. al. Proliferation and production of IL-2 and IL-4 in early fetal thymocytes by activation through Thy-1 and CD3 // Ibid. - 1988. - **140**. - P.1089-1094.
24. Thoman L.M. The pattern of T lymphocyte differentiation is altered during thymic involution // Mech. Ageing. Dev. - 1995. - **82**, N2-3. - P.155-170.
25. Yarin A.A. What the thymus is needed for? Intrathymic events and their uniqueness // Rus. J. Immunol. - 1998. - **3**, N 1. - P.5-20.
26. Yu Sh., Abel L., Globerson A. Thymocyte progenitors and T cell development in aging // Mech. Ageing Dev. - 1997. - **94**. - P.103-111.
27. Zeira M., Gallity R. Interaction between thymocytes and thymus-derived macrophages. Surface components participating in mutual recognition // Cell Immunol. - 1988. - **117**, N2. - P.264-276.