

15. *Hwang E. C., Van Waeri M. H.* Biochem. Pharmacol., 29, 23, 3163—3167, 1980.
16. *Idänpään—Heikkilä J. E., Melsaac W. M., Ho B. T., Fritchie G. E., Tansey L. W.* Science, 164, 1085—1087, 1969.
17. *Idänpään—Heikkilä J. E., Melsaac W. M.* Biochem. Pharmacol., 19, 3, 935—937, 1970.
18. *Jacobs B. L.* Life Sci., 19, 6, 777—785, 1976.
19. *Leonard B. E.* Brit. J. Pharmacol., 45, 1, 165p—166, 1972.
20. *Leonard B. E., Tonge S. R.* Life Sci., 8, Pt. 1, 15, 815—825, 1969.
21. *Maffei G., Soncin E. J.* Pharm. Pharmacol., 10, 9, 541—552, 1959.
22. *Maura G., Pittaluga A., Rallert M., Versace P.* Brit. J. Pharmacol., 79, Suppl. 228p., 1983.
23. *Menon M. K., Dandiya P. C., Bapna J. S.* Psychopharmacologia, 10, 437—444, 1967.
24. *Phillips G. F., Mestley R. G. J.* Pharm. Pharmacol., 21, 1, 9—17, 1959.
25. *Schultes R. E.* Science, 163, 245—254, 1969.
26. *Seller N., Demisch L.* Biochem. Pharmacol., 20, 9, 2485—4593, 1971.
27. *Seiler N., Demisch L.* Biochem. Pharmacol., 23, 2, 229—271, 1974a.
28. *Seller N., Demisch L.* Biochem. Pharmacol., 23, 2, 273—287, 1974b.
29. *Shah N. S.* Arch. Int. Pharmacodyn., 193, 2, 357—361, 1971.
30. *Shulgín A. T., Sargent Th., Naranjo C.* Nature, 221, 537—541, 1969.
31. *Shulgín A. T., Sargent Th., Naranjo C.* Pharmacology, 5, 103—107, 1971.
32. *Sloutter R. S., Drust E. G., Connor J. D. J.* Pharmacol. Exp. Ther., 206, 2, 339—347, 1978.
33. *Sloutter R. S., Drust E. G., Damiano B. P., Connor J. D. J.* Pharmacol. Exp. Ther., 214, 2, 231—238, 1980.
34. *Smythies J. R., Johnston V. S., Bradley R. J., Benington F., Morin R. D., Clarx L. C.* Nature, 216, 128—129, 1967.
35. *Snyder S. H., Fallace L., Hollister L.* Science, 158, 669—670, 1967.
36. *Stolk J. M., Barchas J. D., Goldstein M., Boggan W., Freshman D. X. J.* Pharmacol. Exp. Ther., 189, 1, 42—50, 1974.
37. *Sturtevant F. M., Durill V. A.* Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92, 2, 383—387, 1956.
38. *Tonge S. R., Leonard B. E.* Life Sci., 8, Pt. 1, 15, 805—814, 1969.
39. *Tonge S. R., Leonard B. E.* Life Sci., 9, Pt. 1, 1327—1335, 1970.

Поступило 19.IV 1985 г.

Биол. ж. Армении, т. 39, № 10, с. 896—902, 1986

УДК 615.332.038.071

ВЛИЯНИЕ КАНАМИЦИНА НА РАЗВИТИЕ ИММУНИЗАТОРНОГО И ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ

А. А. НАВАСАРДЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт, проблемная лаборатория антибиотиков

Аннотация — Установлено, что длительное введение канамицина животным на фоне иммунизации противобруцеллезной вакциной оказывает ингибирующее влияние на специфические и неспецифические факторы иммунореактивности организма.

Անոտացիոն — Յուրջ է արվել, որ կենդանիներին կանամիցինի երկարատև ներարկումը հակաբրուցելուզ վակցինայով իմունիզացիայի ֆոնի վրա արգելակիչ ազդեցություն է ունենում որակնիզմի իմունաոնակախիմուրյաև սպեցիֆիկ և ոչ սպեցիֆիկ ֆակտորների վրա:

Abstract — It has been established that the long term administration of kanamycin to animals during the immunization with antibrucellose vaccine has an inhibitory influence on the specific and non-specific factors of immunoreactivity of the organism.

Клиническими и экспериментальными наблюдениями показано, что наряду с положительными эффектами при антибиотикотерапии нередки и побочные действия на организм, среди которых особо выделяется иммунодепрессивное [1—3, 7, 9—12]. В этой связи определенный интерес представляет изучение характера действия канамицина на иммуногенез и развитие инфекционного процесса в организме животных при длительном его введении на фоне иммунизации живой, сухой противобруцеллезной вакциной.

Материал и методика. Исследования выполнены на 40 половозрелых кроликах породы шиншилла со средней живой массой 1,8—2,2 кг, разбитых на три группы, из которых одна была иммунизирована и получала канамицин, вторая—подвергалась иммунизации, а третья—получала канамицин.

Для иммунизации животных применяли вакцину штамма 19, которую вводили подкожно, однократно в дозе 5×10^8 м. к. в 1 мл на кг массы в область шеи. Канамицин вводили в дозе 40 тыс. ЕД/кг массы в сутки внутримышечно, в два приема в сутки в течение 7 дней с интервалом между инъекциями в 10—12 ч. Первую инъекцию препарата производили спустя 24 ч после введения вакцины.

До начала опыта у всех животных определяли исходный уровень изучаемых показателей. Иммунологический ответ и инфекционный процесс в организме тестировали в динамике, вскрывая через 7, 14, 21 и 28 дней после иммунизации по 3—4 кролика из соответствующих групп.

Инфекционный процесс в организме изучали путем бактериологического исследования паренхиматозных, лимфоидных и других органов на предмет определения степени обсемененности их бруцеллами после посева гомогенатов из проб на МПА.

Из гуморальных факторов иммунитета изучали комплементарную лизоцимную, бактерицидную активность сыворотки крови, титры поствакцинальных противобруцеллезных антител по РА, РДСК, 7— и 19S-антител. Из клеточных факторов иммунореактивности исследовали гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Параллельно в органах, тканях и в крови определяли концентрацию и остаточные количества канамицина.

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение. Изучение динамики изменения показателей естественной защиты организма показало, что при введении канамицина на фоне иммунизации животных происходит повышение активности комплемента сыворотки крови в начальные сроки наблюдений (5-, 7-й дни). К 14-му дню после иммунизации исходный уровень этого показателя восстанавливается, а вслед за этим, на 21-, 28-й дни, вновь повышается. В сыворотке крови животных, получавших канамицин (интактные), после первых инъекций препарата активность комплемента снижается вплоть до 14-го дня. На 21-, 28-й дни она восстанавливается. У контрольно-иммунизированных животных в течение первых двух недель после иммунизации резко повышается активность комплемента сыворотки крови. К 21-му дню она восстанавливается, а на 28-й день вновь повышается.

Анализ полученных данных показал, что при введении препарата иммунизированным животным в начальные сроки происходит активация комплемента, в дальнейшем сравнимая с нормой, а затем новая волна активации, обуславливающая неспецифическую защиту организма.

Введение канамицина в индуктивной фазе иммуногенеза сопровождалось незначительным повышением в сыворотке крови титра лизоцима на 7-й день наблюдений. В последующие сроки, начиная с 14-го дня и до конца опыта, он находился на низком уровне. При введении канамицина интактным животным во все сроки наблюдений титр лизоцима в сыворотке крови был ниже нормы. У контрольно-иммунизированных кроликов он достоверно повышался в начальные сроки наблюдений (5-, 7-й день), затем (14-, 28-й дни) сравнивался с исходным уровнем.

Анализ полученных данных свидетельствует о фазовом характере действия канамицина на лизоцимную активность сыворотки крови животных, получавших препарат в индуктивной фазе иммуногенеза. При этом кратковременное повышение лизоцимной активности, имеющее место в начальные сроки введения антигена и канамицина, очевидно, обусловлено ответной реакцией организма на внедрившийся в организм чужеродный антиген. В дальнейшем, по мере выработки специфических антител и их накопления в крови, содержание лизоцима в крови снижается. Наши данные согласуются с результатами исследований других авторов [4—6, 8].

Определенный интерес представляет изучение характера действия канамицина на такой интегральный показатель гуморальной неспецифической защиты, как бактерицидность сыворотки крови по отношению к кишечной палочке.

Полученные данные показали, что бактерицидная активность сыворотки крови животных, получавших на фоне иммунизации канамицин спустя 5 дней после иммунизации, по сравнению с исходным уровнем, повышается в два с лишним раза. На 7-й день этот показатель продолжает оставаться на высоком уровне, а к 14-му дню сравнивается с исходным. В дальнейшем, на 21-, 28-й дни, он резко снижается. Аналогичная картина выявлена в сыворотке крови животных, получавших только канамицин (интактные), с той лишь разницей, что у последних повышение отмечалось в первые сроки введения препарата (5-, 7-й дни) бактерицидная активность сыворотки крови животных снижалась примерно в 2,1, 3,4 и 3 раза соответственно. Что касается контрольно-иммунизированных животных, то бактерицидная активность сыворотки крови у них резко повышалась к 7-му дню наблюдений до 14-го дня, затем резко снижалась (21-й день) и вновь повышалась на 28-й день.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ингибирующем действии канамицина на бактерицидную активность сыворотки крови как при введении его на фоне иммунизации, так и в отдельном введении (интактные). У этих животных бактерицидная активность сыворотки крови до конца наблюдений не восстанавливается. У контрольно-иммунизированных животных бактерицидная активность сыворотки крови закономерно повышается, затем после кратковременного снижения (21-й день) вновь восстанавливается до исходной.

Определение содержания поствакцинальных противобруцеллезных антител в сыворотке крови показало, что спустя 5—7 дней после иммунизации у животных, получавших канамицин, происходит ингибирование процесса продукции антител (агглютининов). При этом средний

титр их в три раза ниже контрольного. Данные, полученные в последующие сроки, показали аналогичную картину. Подтверждением сказанного является резкое различие с контролем в титрах агглютининов, которые на 14-, 21- и 28-й дни после иммунизации были соответственно в 3, 17 и 16 раз ниже.

При определении в сыворотке крови животных титров 7S- и 19S-антител и характера действия на их синтез канамицина выяснилось, что, как правило, выявленные в начальные сроки антитела (5-, 14-й день) по своим физико-химическим свойствам относились к термочувствительным макроглобулинам (19S IgM). Показатели их среднего титра от 2-х до 17-ти раз уступали контрольным. В дальнейшем, по мере развития иммунного процесса (с 21-го дня иммунизации), в сыворотке крови животных выявляются и термоустойчивые антитела, относящиеся к микроглобулинам (7S IgG). Показатель их среднего титра примерно в 2—3 раза был ниже, чем в контроле. Спустя 28 дней после иммунизации выявленные антитела относились к 7S-иммуноглобулинам. Показатель их среднего титра был в 16 раз ниже контрольного. Следовательно, введение канамицина спустя 24 ч после иммунизации животных сопровождается выраженным угнетением синтеза как 19S-, так и 7S-антител (иммуноглобулинов).

На уровень комплементсвязывающих антител сыворотки крови животных канамицин оказывает аналогичное влияние, ярким свидетельством которого является выраженная разница в показателях среднего титра антител в сыворотке крови опытной и контрольной группы животных. Так, у животных, получавших канамицин в принятые сроки исследования, он был ниже контрольного в 2, 5, 9, 18 и 9 раз соответственно.

Таким образом, обобщая полученные результаты можно заключить, что при иммунизации животных противобруцеллезной вакциной канамицин оказывает ингибирующее влияние на гуморальный иммунный ответ организма.

Для сравнительно полного представления о механизме действия канамицина на иммунореактивность представлялось целесообразным изучение феномена гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

ГЗТ изучали посредством внутрикожного (в межлопаточную область) введения аллергена (бруцеллина) в объеме 0,1 мл, учет реакции проводили спустя 24 ч. Интенсивность реакции определяли визуально—по степени воспалительного процесса (гиперемии), а также измерением воспалительного участка (длину и ширину) штангенциркулем. Кожную аллергическую пробу тестировали на 7-, 14-, 21 и 28-й дни после иммунизации, что дало возможность изучать характер влияния канамицина на формирование реакции ГЗТ в зависимости от фаз развития иммунологического процесса.

Полученные данные (табл. 1) показали, что на 7-й день после иммунизации из 4-х животных, получавших канамицин, у 3-х воспаленный участок кожи на месте введения аллергена имел овальную форму, величина которого при этом несколько уступала контролю.

У одного кролика этой группы реакция ГЗТ была отрицательной.

Из таблицы видно, что величина и интенсивность реакции ГЗТ достигает наибольших значений спустя 14 дней после иммунизации. В этот срок все животные опытной группы активно реагировали на введенный

Таблица 1. Гиперчувствительность замедленного типа (величина воспаленного участка в мм)

Условия опыта	Сроки постановки опыта после иммунизации, дни			
	7	14	21	28
Контроль	12,0×17,0	20,0×25,0	21,0×26,3	22,5×27,5
Вакцина + канамицин	10,0×12,5	32,5×37,2	22,5×27,2	23,6×30,3
Интактные	отрицательн. отрицательн. отрицательн. отрицательн.			

аллерген. Воспаленный участок кожи у них был умеренно гиперемирован. Интенсивность ГЗТ в этот срок значительно превышала соответствующие значения в контроле. На 21-, 28-й дни наблюдений она несколько снижалась, однако величина воспаленного участка при этом существенно не отличалась от контрольной.

Полученные данные позволяют отметить существование определенной связи между степенью развития реакции ГЗТ и ингибирующим влиянием антибиотика на антителообразование. При этом, очевидно, имеет место усиление функциональной активности Т-эффекторов, проявляющееся в выраженной кожной реакции организма в ответ на введенный аллерген.

Для выяснения механизма влияния канамицина на развитие инфекционного процесса мы изучали степень обсемененности органов иммунизированных животных бруцеллами.

В принятые сроки исследований после вскрытия животных из гомогенатов некоторых органов производили посев на МПА. Учет выросших колоний бактерий проводили после 24-часового инкубирования чашек в термостате при 37°.

Выяснилось, что спустя 7 дней после иммунизации число бактерий в организме животных, получавших канамицин, несколько меньше, чем в контроле. Разница с контролем составляла: в селезенке—в 4,5, легких—в 7,5, в печени—в 6,6, лимфатических узлах—в 5,5, в почках—в 13,3 и в сердце—в 5,6 раза. К 14-му дню наблюдений эти различия были более выраженными. Аналогичная картина получена также спустя 21 день после иммунизации. К концу наблюдений как в опытной, так и в контрольной группах вновь отмечалось повышение обсемененности соответственно в 4—6 и 1,1—2,7 раза. Если в начальные сроки иммунизации (7—14-й дни) у опытных животных обсемененность резко снижалась (1,8—23 раза), то в контроле, наоборот, повышалась до 1,3—6 раз (табл. 2). Эти данные свидетельствуют о выраженном бактерицидном действии канамицина на бруцеллы.

Полученные данные показали также, что между уровнем специфических антител в периферической крови и степенью обсемененности органов существует определенная корреляция. Высокому титру антител в сыворотке крови соответствует высокая степень обсемененности органов бактериями (контроль) и, наоборот, низкой степени обсемененности—низкий уровень антител в сыворотке крови животных (опытная группа). Следовательно, можно заключить, что в основе ингибирующего

Таблица 2. Высвеемость бруселл из органов иммунизированных кроликов, на 1 г субстрата

Условия опыта	Дни	Вид органа					
		селезенка	легкое	печень	лимфоузлы	почки	сердце
Контроль из группы инвазии	7	42.4±5.5	28.7±2.6	30.7±4.8	28.8±4.03	35.2±0.9	19.6±3.0
	14	66.2±4.1	51.1±8.6	69.4±8.6	70.3±4.9	66.0±5.4	47.2±3.5
	21	24.0±6.3	20.2±4.4	16.5±2.1	24.0±6.5	12.5±2.6	16.0±2.6
	28	10.8±3.6	5.1±1.1	4.35±0.05	4.35±0.05	5.6±0.6	3.4±0
Вакцинация канамидином	7	9.4±1.5	3.8±0.8	4.6±1.1	5.2±0.8	2.8±0.8	3.5±0.6
	14	0.4±0.07	0.64±0.2	0.6±0.37	0.9±0.21	1.5±0.7	0.92±0.25
	21	0.47±0.02	0.26±0.05	0.17±0.05	0.42±0.17	0.34±0.1	0.33±0.02
	28	0.4±0.09	1.1±0.05	1.02±0.2	1.72±0.2	1.33±0.4	1.75±0.3

влияния канамидина на иммунореактивность организма лежит этиотропный фактор, обуславливающий уменьшение антигенного раздражения, вызванного высокой чувствительностью бруселл к антибиотику.

Параллельно с другими показателями мы сочли необходимым изучить также влияние иммунизации на процесс распределения канамидина в организме животных. При этом мы ограничились лишь определением содержания канамидина через час и через 7 дней после прекращения введения препарата.

Установлено, что в органах и тканях инфицированных животных концентрация выявленного препарата примерно в 2—3 раза выше, чем у интактных (получавших только канамидин). При этом характерно, что распределение его в иммунизированном организме происходит неравномерно. Препарат в высокой концентрации выявляется в иммунокомпетентных тканях, легких и сердце, тогда как у интактных животных оно происходит более или менее равномерно.

Таким образом, иммунизация оказывает определенное влияние на процесс распределения канамидина в организме.

Обобщение результатов проведенного исследования позволяет прийти к следующему заключению: продолжительное введение канамидина кроликам, начатое спустя 24 ч после иммунизации противобруселлезной вакциной, подавляет активность неспецифических и специфических факторов гуморального иммунитета, что проявляется в снижении комплементарной, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, задержке синтеза противобруселлезных поствакцинальных антител, снижении продукции иммуноглобулинов.

Подавление иммунного ответа наступает начиная с 5-го дня применения препарата, и в ближайшие 10—20 дней после отмены антибиотика он не восстанавливается.

Введение канамидина в организм животных, иммунизированных противобруселлезной вакциной, резко снижает обсемененность органов и тканей бруселлами, адекватно влияет на формирование полноценного иммунитета; усиливается реакция ГЗТ. Иммунологический статус организма определенным образом оказывает влияние на про-

цесс распределения препарата в органах и тканях, способствуя накоплению антибиотика преимущественно в органах лимфоидной системы.

Результаты исследований свидетельствуют также об ингибировании иммунореактивности организма при раннем применении канамицина. Это позволяет утверждать, что в основе указанного феномена лежит этiotропный фактор (уменьшение количества антигенного стимула), обусловленный высокой чувствительностью бруцелл к данному препарату.

Полученные нами результаты могут служить основанием для разработки более рациональных схем применения канамицина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Караев З. О. Автореф. докт. дисс., Л., 1975.
2. Кокушина Т. М. В кн.: Антибиотики и иммунитет. Л., 1963.
3. Навасардян Л. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1966.
4. Нефедова Н. Н. В кн.: Иммунологическая реактивность организма в патологии, 219. Киев, 1974.
5. Плаксин А. И. и др. Антибиотики, 4, 363, 1974.
6. Плещинский Д. Ф., Аверьянова Л. Л. ЖМЭИ, 7, 51, 1975.
7. Шакарян Г. А. и др. Изв. АН АрмССР (биол. науки), 16, 3, 1963.
8. Эберг Л. Я., Нестеренко В. Г. В кн.: Химиотерапия бактериальных инфекций, 176, М., 1979.
9. Экземпляроев О. Н. Антибиотики, 5, 425, 1965.
10. Patocha F. Folia microbiol., 13, 6, 55, 1968.
11. Sterzl J., Riha I. Nature, 208, 5013, 858, 1965.
12. Tochkov As., Slavcheva E. Arch. Sci. med., 128, 43, 1971.

Поступило 1.IV 1985 г.