

## ВЛИЯНИЕ ГЕНТАМИЦИНА НА КОЛИЧЕСТВО ИММУННЫХ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ КРОЛИКА

И. А. ТЕР-АВЕТИСЬЯНЦ

Ереванский зоотехнический ветеринарный институт, кафедра микробиологии

Показано, что гентамицин, примененный аэрозольно, после иммунизации эритроцитами барана увеличивает количество иммунных Т- и В-лимфоцитов в селезенке и Т-лимфоцитов в лимфатических узлах. В тимусе количественное изменение розеткообразующих клеток незначительно. При введении антибиотика с одновременной иммунизацией эритроцитами барана существенных изменений в количестве розеткообразующих клеток не установлено.

Հաստատված է, որ խոչը երբֆորացիաներով իմունիզացիայի ենթարկելուց հետո անբազոյ էրոցիտերով զենոտաբիցինն օգտագործելիս Т- և В-լիմֆոցիտների քանակը ավելանում է փայտագրում, իսկ Т-լիմֆոցիտներին՝ ազլային ճակատային կներում: Քիմուսում աչյ ըրբիցների քանակը փոփոխություններն աննշան են: Հուկարիտների և խոչի երբֆորացիաների համապարփակ օգտագործման դեպքում իմուն լիմֆոցիտների քանակը աննշան փոփոխություն չի եկաւովում:

It has been shown that gentamycin, used in aerosole form, after the immunization by ram erythrocytes increases the quantity of immune T- and B-lymphocytes in spleen and T-lymphocytes—in lymphatic ganglia. In thymus the quantitative change of rosetteforming cells has been insignificant. The administration of antibiotic simultaneously with the immunization by ram erythrocytes does not arise essential changes in the quantity of rosetteforming cells.

Гентамицин—розеткообразующие клетки—эритроциты барана.

Изучение влияния антибиотиков на Т- и В-лимфоциты имеет не только теоретическое значение для понимания функционирования иммунокомпетентных систем, но и большое практическое значение. Однако работ, посвященных изучению влияния антибиотиков на иммунокомпетентные клетки лимфоидных органов, очень мало [1—3], а работ о действии аэрозоля гентамицина на эти клетки в доступной нам литературе не обнаружено.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния аэрозоля гентамицина на количество РОК селезенки, тимуса и лимфатических узлов у кролика к эритроцитам барана [4].

**Материал и методы.** Опыты проводились на 58 кроликах породы шиншилла массой 2,0—2,5 кг. Гентамицин применяли в дозе 1000 мг/м<sup>3</sup> аэрозольной камеры.

Для определения иммунных РОК кроликов иммунизировали эритроцитами барана в дозе 2,5 · 10<sup>9</sup> клеток на кг живой массы. Опыты ставили на четырех группах. Животных первой группы иммунизировали эритроцитами барана, а затем ингаляровали антибиотик; при этом они получали антибиотик на 5, 3 и 3 сутки иммуногенеза, но в первом случае кроликов забивали через 1, 3, 6, 12, 18 ч, во втором—через 24 ч, а в третьем—через 48 ч после ингаляции гентамицином. Второй группе одновременно вводили эритроциты барана и ингаляровали гентамицин. Третья группа кроликов полу-

Сокращения: РОК—розеткообразующие клетки.



чала аэрозоль гентамицина за 2, 4, 11 и 15 суток до введения эритроцитов барана, но забивалась соответственно на 7, 9, 15 и 20 сутки после ингаляции. Четвертая группа—контрольные животные, которых иммунизировали только эритроцитами барана. Всех животных забивали на 5 сутки иммунизации, извлекали органы, в которых определяли число РОК на 100 клеток. РОК дифференцировали в зависимости от их функциональной активности: лимфоциты, сформированные 4—6 эритроцитами барана, относили к Т-1 (Т-1 РОК), 7—10—к Т-2 (Т-2 РОК), более 10—к В-клеткам (В-РОК) [5].

*Результаты и обсуждение.* Из табл. 1 видно, что применение гентамицина в дозе 1500 мг/м<sup>2</sup> после иммунизации эритроцитами барана увеличивало число Т-1 и Т-2 РОК в селезенке. Число Т-1 РОК постепенно повышалось и превышало исходные данные на 18—35 клеток, причем максимальное увеличение их количества (на 32,1%) было отмечено через 6 ч (от  $109,0 \pm 1,8$  до  $141 \pm 1,3$  клеток). Через 48 ч отмечалась тенденция к снижению числа Т-1 РОК до  $112,5 \pm 2,4$ . Аналогичное увеличение числа Т-2 РОК установлено через 3 ч—на 52,2% (от  $23,0 \pm 1,2$  до  $35,0 \pm 2,0$  клеток), этот уровень сохранился до 18 часа. Через 48 ч наблюдалась тенденция к снижению этих клеток до  $25,0 \pm 0,0$ . Увеличение уровня Т-2 клеток имеет большое значение, так как известно, что они предназначены для обнаружения чужеродных антигенов, и эта популяция клеток постоянно рециркулирует в организме [6].

Одновременно происходило увеличение В-РОК, которые являются прямыми предшественниками антителообразующих клеток, максимум их отмечался через 18 часов. В это же время был зарегистрирован высокий процент связывания гентамицина с тканью селезенки (100%), что указывает на взаимодействие антибиотика с клетками этого органа. Вероятнее всего, гентамицин оказывает раздражающее действие, на которое организм отвечает увеличением числа иммунокомпетентных клеток.

В лимфатических узлах через 6 ч после применения гентамицина имело место увеличение количества Т-1 РОК на 18,6%. Однако через 18 ч число их приближалось к контролю, а затем через 48 ч повторно повышалось на 138,4%, т. е. достигало  $192,5 \pm 12,9$ , количество Т-2 РОК через 18—24 ч повышалось в пределах 12—14 клеток, в первые же часы исследования была установлена их ингибция.

В тимусе по сравнению с селезенкой и лимфатическими узлами изменению количества РОК незначительно. Это, вероятно, объясняется существованием гемато-тимусного барьера. Наибольшее количество Т-1 клеток отмечено через 48 ч— $57,5 \pm 8,5$ , что на 30,7% больше, чем у контрольных животных. Несмотря на это, РОК не приобретали повышенной функциональной активности, т. е. не обнаруживалась популяция Т-2 клеток.

В опытах с одновременным введением антибиотика и эритроцитов барана количественное изменение РОК в селезенке и тимусе было несущественным, лишь в лимфатических узлах отмечалось увеличение числа Т-1 РОК на 35,6% (до  $58,3 \pm 6,66$  клеток).

Однако при введении гентамицина до иммунизации (табл. 2) установлено увеличение количества Т-1 и Т-2 РОК в селезенке. Максимальное увеличение числа Т-1 РОК (на 37,6%) отмечалось через 9 сут., на 20 сут. оно приближалось к контролю и составляло  $113,3 \pm 1,6$  клеток.

Таблица 1. Влияние аэрозольной ингаляции гентамицином на количество РОК в органах лимфатической системы кролика после и одновременно с иммунизацией эритроцитами барана на  $10^3$  клеток ( $M \pm m$ )

Органы		Селезенка			Лимфатические узлы			Тимус		
Клетки		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	B	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	B	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	B
Контроль	Время	49,9±1,8	23,0±1,2	15,0±1,5	43,0±1,2	10,1±2,7	единиц	41,0±1,0	—	—
	после ингаляции	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	р	32,5±4,6 <0,01	33,3±1,6 <0,001	16,6±1,6 <0,5	45,5±2,9 <0,25	единиц	—	42,5±1,1 <0,5	—	—
3	р	31,0±2,0 <0,001	35,0±2,0 <0,002	16,2±1,2 <0,5	45,0±0,0 <0,25	единиц	—	43,7±1,2 <0,5	—	—
6	р	34,0±4,3 <0,01	34,0±1,0 <0,001	21,0±0,05 <0,01	51,0±1,8 <0,02	единиц	—	54,0±1,0 <0,01	—	—
12	р	39,0±1,0 <0,001	34,0±1,0 <0,001	20,0±0,0 <0,01	52,0±1,2 <0,002	14,0±1,0 <0,5	—	40,0±0,0 <0,01	—	—
18	р	35,0±0,05 <0,001	31,0±1,8 <0,001	31,0±0,05 <0,001	50,0±0,0 <0,25	12,0±3,0 <0,5	—	41,0±1,0 <0,01	—	—
24	р	42,0±5,1 <0,05	26,0±1,2 <0,02	27,0±2,0 <0,001	47,0±2,0 <0,25	11,0±1,0 <0,5	—	52,0±2,5 <0,02	—	—
48	р	112,5±2,4 <0,5	25,0±0,0 <0,25	15,0±0,0 <0,01	102,5±12,9 <0,01	3,5±4,3 <0,5	единиц	57,5±8,3 <0,25	—	—
120	р	115,0±2,5 <0,1	23,7±1,2 <0,5	13,7±6,6 <0,5	58,3±6,6 <0,05	единиц	—	45,8±8,4 <0,5	—	—

1 до 18 ч — ингаляция гентамицином после иммунизации эритроцитами барана; 120 ч (7 дней) — ингаляция с одновременной иммунизацией эритроцитами барана. — — — розеткообразующие клетки не обнаружены.

Таблица 2. Влияние аэрозольной ингаляции гентамицином на количество РОК в органах лимфоидной системы до иммунизации эритроцитами барана на  $10^3$  клеток ( $M \pm m$ )

Органы		Селезенка			Лимфатические узлы			Тимус		
Клетки		$T_1$	$T_2$	$B$	$T_1$	$T_2$	$B$	$T_1$	$T_2$	$B$
Время исследования, Дней	Контроль	$109,0 \pm 1,8$	$23,0 \pm 1,2$	$15,0 \pm 1,5$	$43,0 \pm 1,2$	$10,0 \pm 2,7$	единич.	$44,0 \pm 1,0$	—	—
	7	$121,6 \pm 1,6$	$20,0 \pm 0,9$	$16,6 \pm 1,5$	$36,6 \pm 1,6$	единич.	—	$50,0 \pm 0,9$	—	—
	$P$	$< 0,002$	$< 0,05$	$< 0,5$	$< 0,001$	—	—	$< 0,001$	—	—
	9	$150,0 \pm 5,0$	$20,0 \pm 0,0$	$18,7 \pm 1,2$	$63,7 \pm 5,9$	единич.	—	$48,7 \pm 2,3$	—	—
	$P$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,1$	$< 0,02$	—	—	$< 0,25$	—	—
	15	$126,0 \pm 1,6$	$33,3 \pm 1,6$	$18,3 \pm 1,6$	$55,0 \pm 2,8$	единич.	—	$45,0 \pm 2,8$	—	—
	$P$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,25$	$< 0,01$	—	—	$< 0,5$	—	—
	20	$113,3 \pm 1,6$	$26,6 \pm 1,6$	$16,6 \pm 1,6$	$56,6 \pm 1,6$	$6,6 \pm 1,6$	—	$46,6 \pm 1,6$	—	—
	$P$	$< 0,25$	$< 0,25$	$< 0,5$	$< 0,001$	$< 0,5$	—	$< 0,25$	—	—

Число же Т-2 РОК максимально увеличивалось через 15 суток — на 44,8%.

В лимфатических узлах количество Т-1 РОК увеличивалось и держалось на высоком уровне в течение всего периода исследований, а в тимусе наибольшее количество их отмечалось на 7 сутки, что на 13,6% больше, чем в контроле, причем популяция Т-2 РОК не была обнаружена.

Таким образом, при применении гентамицина до иммунизации эритроцитами барана наблюдающееся увеличение числа РОК выражено меньше, чем при введении его после иммунизации; исключение составляют клетки Т-1 на 9 сут и Т-2 на 15 сут в селезенке, а также клетки Т-1 в лимфатических узлах. В случае антигенного раздражения эритроцитами после введения гентамицина, когда уже имело место взаимодействие антибиотика с иммунокомпетентными клетками, эритроциты не в состоянии в той же степени стимулировать эти клетки, что согласуется с литературными данными [3].

Исходя из изложенного, важно отметить, что пролиферация иммунокомпетентных клеток особенно чувствительна к гентамицину в индуктивной фазе клеточного митоза.

Следовательно, применение гентамицина аэрозольно в дозе 1500 мг/л аэрозольной камеры после и до иммунизации эритроцитами барана повышает количество иммунокомпетентных клеток. При одновременном введении антибиотика с эритроцитами существенных изменений не установлено.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Курцис И. М. Антибиотики, 1, 71—74, 1976.
2. Славина Е. К. Антибиотики, 1, 75—79, 1976.
3. Гальдберг Е. Д., Михайлова Т. Н., Зингер Г. В., Щубина Т. С., Колзона Ю. Т., Крафт Л. А. Антибиотики, 8, 734—739, 1977.
4. Zaalberg O. B. Nature, 1231—1233, 1961.
5. Hashitt J. S. J. Exp. Med., 133, 1113—1116, 1972.
6. Gowans J. L., Knight A. J. Proc. Roy. Soc. Biol., 159, 257, 1968.

Поступило 5.1.1989 г.

Биолог журн. Армении, № 2, (43), 1990

УДК 576.85.5:577.15

### ОЧИСТКА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

А. А. НИКОЯН, Л. Р. ТУМАНЯН, С. В. ЧУБАРЯН, Л. М. АРУТЮНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Осуществлена частичная очистка аргиназы поджелудочной железы крыс. Обнаружены два изоэнзима аргиназы. Они обладают одинаковым сред

Сокращения: ГАМК—γ-аминомасляная кислота; ЭДТА—этилендиаминтетраацетат; ПХМБ—парахлормеркурибензоат.