

## ЛИТЕРАТУРА

1. Али-Заде В. А. Азерб. мед. журнал, 1976, 3, с. 28.
2. Гафтон Г. И., Пучков Ю. Г. Лаб. дело, 1981, 2, с. 478.
3. Головин Д. И. Ошибки и трудности гистологической диагностики опухолей. Л., 1982.
4. Петров А. С. Руководство «Цитологическая диагностика опухолей и предопухольных процессов» (под ред. А. С. Петровой). М., 1985.
5. Сильченко С. А., Лобода В. И. Лаб. дело, 1983, 8, с. 17.
6. Соколова В. К. В кн.: Руководство по цитологической диагностике опухолей человека. М., 1976, с. 227.
7. Betzler M., Rottinger E. M. Münch. med. Wochenscher., 1985, 127, 14, 329.
8. Bromwell W. H. C., Snowther D., Deakin D. R., Swindell R., Harris M. Brit. J. Cancer, 1985, 51, 301.
9. Duarte Garaldo Medicine (Brus), 1984, 17, 3, 77.
10. Raštogi B. L., Bergma B., Anderwall L. Gynecol. Oncol., 1984, 18, 77.
11. Salm R., Ewans D. J. Hystopathology, 1985, 9, 2, 159.

УДК 615.779.9+612.017.1

Л. Т. ДАНИЕЛОВА

### ВЛИЯНИЕ СВЯЗАННОГО С ТКАНЕВЫМИ И СЫВОРОТОЧНЫМИ БЕЛКАМИ АНТИБИОТИКА НА ИММУНОГЕНЕЗ

Изучены особенности распределения связанной и свободной фракций тетрациклина в организме как при многократной его инъекции, так и в сочетании с одновременным введением противобруцеллезной вакцины. Установлены интенсивность связывания антибиотика в кроветворно-лимфоидной системе, закономерность распределения связанной фракции антибиотика, зависимость ее от кратности введения препарата и функционального состояния организма.

Вопросу влияния антибиотика на иммуногенез посвящено большое число работ. Однако публикации относительно влияния связанного с сывороточными и тканевыми белками препарата на иммунологические процессы в организме в существующей литературе почти отсутствуют. Имеющиеся работы констатируют лишь связывание антибиотика в иммунном организме [7—11]. Нами с помощью ферментативного гидролиза сыворотки крови и гомогенатов внутренних органов животных показана возможность практически полного количественного определения связанной, а также свободной+связанной фракций антибиотика в них. Это позволило установить количественные изменения показателей связанного в крови и органах препарата при различных функциональных состояниях организма [4, 5].

Изучение особенностей распределения и влияния связанной фракции антибиотика на иммунологический ответ интактных и иммунизированных животных при многократном введении химиотерапевтического препарата представляет определенный интерес.

#### Материал и методы

Исследования проводились на 33 кроликах породы Шиншилла массой 3,0—4,0 кг. Опыты поставлены на 3 группах животных. Всем

опытным животным вводили тетрациклин гидрохлорид внутримышечно в дозе 25 мг/кг массы. I группе антибиотик вводили в течение 7 дней с 24-часовым интервалом; II группе—аналогично и одновременно с первой инъекцией препарата внутримышечно вводили 1 мл противобруцеллезной вакцины из 1 млрд. взвеси штамма № 19; III группа (контрольные животные) получали только противобруцеллезную вакцину внутримышечно в количестве 1 мл из 1 млрд. взвеси штамма № 19. Через час после каждой инъекции препарата животных забивали и определяли концентрацию антибиотика в сыворотке крови и внутренних органах методом диффузии в агар по методике В. С. Дмитриевой и С. М. Семенова [6].

В гомогенатах проб без предварительной обработки определяли свободную фракцию антибиотика, а после ферментативного гидролиза этих же проб раствором пепсина по методике, предложенной Л. Т. Даниловой [2, 3],—одновременно свободную + связанную фракции. При вычете величин показателя свободной фракции от величин показателя, полученного после ферментативного гидролиза того же тест-объекта, устанавливали количество связанной фракции препарата.

В процессе опытов одновременно изучали плазмоцитарную реакцию селезенки, общее количество белка, количество альбуминовой фракции и  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -глобулинов общепринятыми методами исследования [12], а также показатели титра агглютининов по Райту. Цифровые данные статистически обрабатывали по М. Л. Беленькому [1] с установлением достоверности средних показателей исследуемых групп животных ( $P \leq 0,05$ ). На основании фактического материала составлены графики, отражающие интенсивность и динамику накопления свободной и связанной фракций антибиотика, а также некоторых показателей иммунитета.

### Результаты и обсуждение

Многokратное введение тетрациклина животным I группы вызвало последовательное накопление антибиотика (свободного + связанного) в органах и сыворотке крови, превышая исходные показатели на 0,3—12,2 мг/г-мл. При этом в исследуемых органах и тканях после каждой инъекции препарата отмечались резкие колебания в уровне накопления как связанной, так и свободной его фракции. Так, после 3-й инъекции антибиотика процент связанной фракции препарата в лимфоузлах, селезенке, костном мозге, легких и почках нарастал от 22,3 до 57,3, а свободной—от 37,8 до 75,3.

В отличие от этих органов в мышцах, печени и сыворотке крови после 3-й инъекции показатели накопления связанной фракции антибиотика были низкими, в мышцах—3,6%, а в печени и сыворотке крови—ниже исходного при высоком содержании в них свободной фракции препарата. Однако после 4—5 инъекций накопление препарата в этих органах резко возросло. При этом отмечалось снижение свободной фракции в мышцах, печени и сыворотке крови и обеих фракций в лимфогенно-кровеносной системе.

В период общего снижения свободной фракции тетрациклина в кровотоково-лимфоидной системе, сыворотке крови и других органах усиливается в 2,9—3,3 раза вывод препарата с мочой. Следует отметить, что при последующих инъекциях также наблюдались колебания уровня обеих фракций препарата в органах и тканях.

Как видно из изложенного, процессы адсорбции антибиотика при многократном его введении небеспредельны, т. к. интенсивность последовательного накопления обеих фракций препарата после каждой его инъекции была неодинакова. Постоянное изменение процессов адсорбции антибиотика свидетельствует о функциональном состоянии организма. Это подтверждается аналогичными данными, полученными в опытах на животных II группы, получавших противобруцеллезную вакцину в сочетании с антибиотиком. Отмечено адекватное изменение в распределении свободной и связанной фракций в ряде органов (лимфоузлах, селезенке, легких, сыворотке крови и почках), зависящее от кратности введения антибиотика. Отличие наблюдалось в степени интенсивности накопления антибиотика в указанных органах и в изменении процесса комплексования препарата в костном мозге, печени и мышцах (рис. 1).

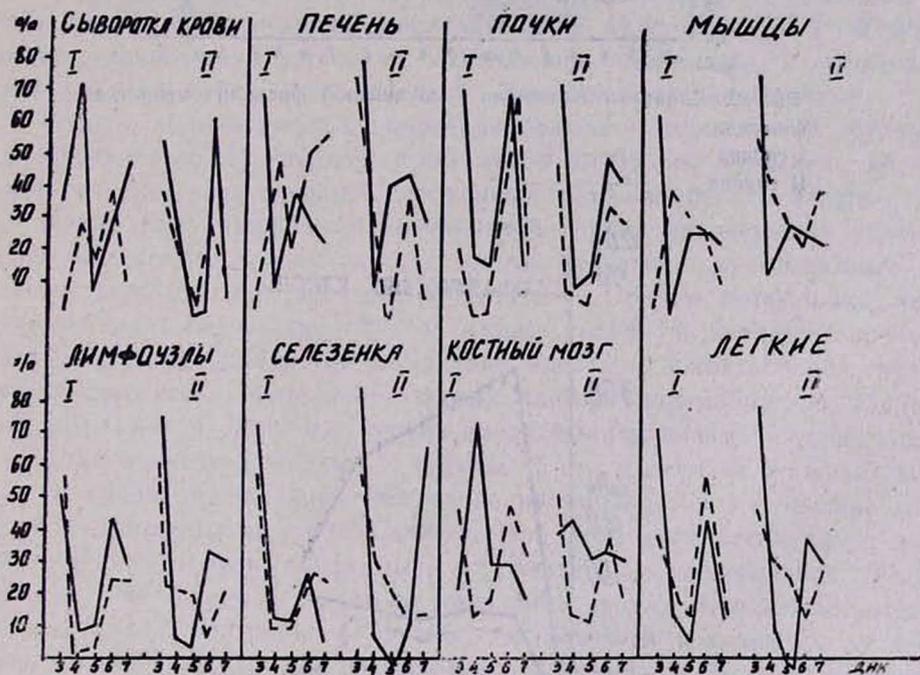


Рис. 1. Интенсивность накопления связанной и свободной фракций тетрациклина при многократном его введении.

I—связанная фракция — — — — —  
 II—свободная фракция || — || — ||

I группа — — — — —  
 II группа — — — — —

Как видно из рис. 1, кратность увеличения препарата в лимфоидных органах и сыворотке крови после 3—4-й инъекции антибиотика

достигала 1,26—68,5 раз. В костном мозге, печени и мышцах накопление препарата также было интенсивным, но в отличие от I группы после 3-й инъекции антибиотика отмечалась ингибиция комплексования препарата в костном мозге, а в печени и мышцах, наоборот, резкое его повышение. Следует отметить, что ингибиция процессов связывания в костном мозге отражалась и на адсорбции препарата в сыворотке крови, где, по сравнению с животными I группы, повышаются процессы связывания тетрациклина, по-видимому, под действием предыдущих инъекций антибиотика.

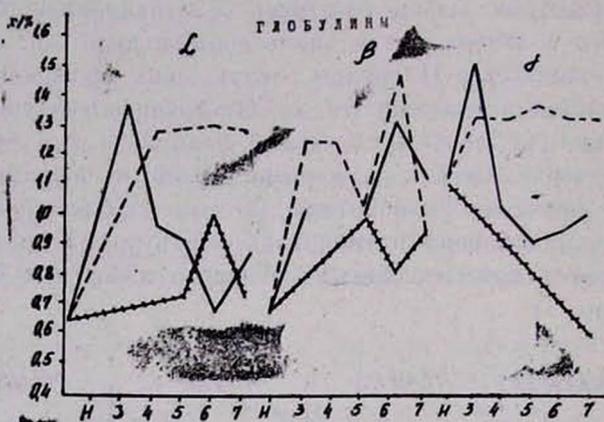


Рис. 2. Динамика изменения глобулиновой фракции сыворотки.

контроль — — —  
 I группа + — + — + —  
 II группа — — —

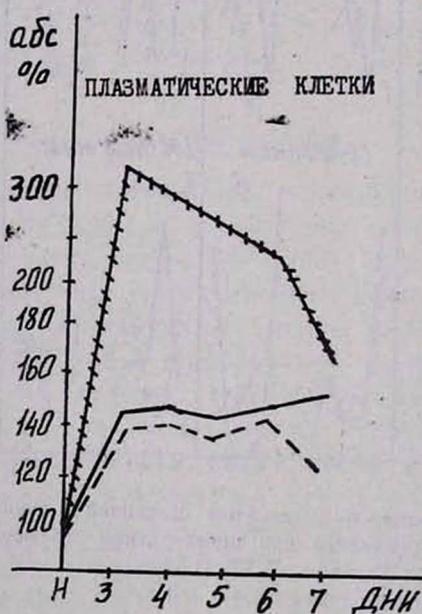


Рис. 3. Динамика нарастания общего количества плазматических клеток селезенки.

II группа — — —  
 I группа + — + — + —  
 контроль — — —

Определенная идентичность характера накопления связанной фракции антибиотика у животных обеих групп в зависимости от кратности введения препарата указывает на иммунологический ответ на введенный антибиотик.

Особенности, установленные в накоплении обеих фракций тетрациклина у животных II группы, обусловлены влиянием двух антигенных факторов (антибиотик+вакцина). Об этом свидетельствуют некоторые показатели иммунитета, представленные на рис. 2 и 3, указывающие на определенную взаимосвязь между процессами комплексования антибиотика и ответной реакцией организма.

В период интенсивного накопления антибиотика в кроветворно-лимфоидной системе у животных I группы отмечаются характерные изменения количества протеинов и их фракций, протекающие адекватно изменениям таковых у кроликов III группы. Наблюдается повышение количества протеинов за счет изменения соотношений альбуминовой и глобулиновой фракций. Повышение количества глобулинов, особенно альфа и бета, отмечалось после 3-й инъекции препарата, показатели которых превосходили исходные на 109—105,5%. После 4—5-й инъекции тетрациклина количество глобулинов уменьшается в основном за счет альфа и гамма-глобулинов, оставаясь при этом выше уровня исходного показателя на 45,4—38,8 и 47,2—25,5% соответственно дням инъекции. Небольшое повышение содержания этой фракции наблюдалось после 6—7-й инъекции антибиотика.

Однако количественные изменения белков у животных II группы, по сравнению с III группой, были менее выражены. Отмечена ингибция синтеза всех фракций глобулинов, особенно бета и альфа.

Кроме того, аналогично контрольной группе наблюдалось увеличение количества плазматических клеток селезенки, превышающее в значительной степени исходные показатели. При этом наибольшее количество их было у животных I группы после 3-й инъекции препарата за счет плазмобластов и незрелых клеток, а в контрольной группе—за счет всех антителообразующих клеток (плазмобластов, незрелых и зрелых). В меньшей степени пролиферация плазматических клеток установлена у животных II группы. У них в отличие от животных I и III групп наблюдалось увеличение плазмобластов и снижение количества незрелых и зрелых клеток. При этом показатели титра агглютининов II группы животных, по сравнению с контрольной, были ниже в 1,66—1,2 раза, антитела появлялись позже и нарастали медленнее. Так в контрольной группе агглютинины появляются на 4-й день в титре  $1:24 \pm 1:122$ , а у животных II группы на 5-й день иммуногенеза в титре  $1:72 \pm 1:762$  против контроля  $1:120 \pm 1:401$ . На 7-й день титр агглютининов достигал разведения  $1:221 \pm 1:1164$  против  $1:256 \pm 1:1330$ , а на 8-й день— $1:590 \pm 1:7687$  против  $1:731 \pm 1:15034$ .

Из изложенного видно, что в силу влияния обоих агентов усиливаются процессы адсорбции и комплексования препарата, ведущие к ингибции процессов иммуногенеза у животных, получавших вакцину и антибиотик многократно, где антибиотик оказывает отрица-

тельное действие вследствие комплексования его с иммунокомпетентными клетками и сывороточными глобулинами.

Следует отметить, что в период трехкратного введения антибиотика в организме животных I и II группы формируются и стимулируются морфологические сдвиги и синтез белков, обуславливающие резкое повышение комплексования антибиотика при последующих инъекциях препарата, что приводит к ингибции пролиферации кроветворно-лимфоидной системы и синтезу белка.

Таким образом, данные исследования показывают, что метод непосредственного определения связанной фракции введенного препарата позволяет определить не только закономерности его распределения, но выяснить в некоторой степени механизм действия антибиотика на процессы иммуногенеза.

Кафедра микробиологии и вирусологии  
Ереванского зооветеринарного института

Поступила 6/VI 1988 г.

Լ. Տ. ԴԱՆԵԼՈՎԱ

### ՀՅՈՒՍՎԱՍԹԱՅԻՆ ԵՎ ՇՃԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒՅՆԵՐԻ ՀԵՏ ԿԱՊԱԿՑՎԱԾ ՀԱԿԱՐԻՈՏԻԿԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆԵԶԻ ՎՐԱ

Ուսումնասիրվել են օրգանիզմում ազատ և կապակցված տետրացիկլինի ֆրակցիաների բաշխման առանձնահատկությունները բազմանվազ առանձին, ինչպես նաև հակաբուցելոգային վակցինայի հետ զուգակցված ձևով ներարկելիս: Հաստատված են հակաբուցելի կապման ինտենսիվությունը՝ արյունաստեղծ-լիմֆոիդային համակարգում, նրա կապված ֆրակցիաների տեղաբաշխման օրինաչափությունը, կախվածությունը դեղամիջոցի ներմուծման բազմապատկությունից և օրգանիզմի ֆունկցիոնալ վիճակից:

L. T. DANIELOVA

### THE EFFECT OF ANTIBIOTIC, CONNECTED WITH THE TISSUE AND SERUMAL ALBUMINS ON IMMUNOGENESIS

The peculiarities of distribution of the connected and free fractions of tetracycline in the organism have been studied at its repeated injection as well as at its combination with simultaneous administration of antibru-cellous vaccine. There are established the intensity of the antibiotic's connection in the hemopoietic-lymphoid system, the objective laws of the distribution of the antibiotic's connected fractions, their dependence on the quantity of injections and functional state of the organism.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963.
2. Даниелова Л. Т. Авт. свид. № 341834. Бюлл. № 19, 1972.
3. Даниелова Л. Т. Антибиотики, 1974, 11, с. 1032.
4. Даниелова Л. Т., Амбарцумян Л. А. Там же, 1975, 1, с. 18.
5. Даниелова Л. Т., Амбарцумян Л. А. Там же, 1976, 2, с. 147.
6. Дмитриева В. С., Семенов С. М. Микробиологический контроль активности антибиотических препаратов. М., 1965.

7. Карпуть И. М. Ветеринария, 1973, 4, с. 44.
8. Карпуть И. М. Антибиотики, 1976, 1, с. 71.
9. Коваленко Я. Р., Сидоров М. А. В кн.: Иммуитет с. х. животных. М., 1973, с. 22.
10. Микаелян Н. П. Антибиотики, 1975, 1, с. 40.
11. Плаксина А. Н., Плаксин А. И. Там же, 1977, 4, с. 340.
12. Покровская М. П., Краснова В. И. и др. ЖМЭИ, 1965, 3, с. 8.

УДК 612.127

К. А. МАРКОСЯН, Н. А. ПАЙТЯН, Р. М. НАЛБАНДЯН

## ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НА РЕАКЦИЮ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ЦИТОХРОМОКСИДАЗОЙ

Изучено влияние нитропрусида натрия на реакцию восстановления молекулярного кислорода цитохромоксидазой из митохондрий сердца. Показано, что препарат вызывает ингибирование цитохромоксидазы. Установлено, что при клиническом применении нитропрусида натрия его концентрация в крови не должна превышать 50 мг/мл.

Нитропруссид натрия ( $\text{Na}_2 [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) является одним из наиболее эффективных быстродействующих гипотензивных препаратов, вводимых путем внутривенной инфузии [8, 10]. Фармакологический эффект нитропрусида, основанный на релаксации гладкой мускулатуры артериального участка сосудистого русла, обусловлен железисто-нитрозной группой, Fe-NO, активирующей растворимую форму гуанилатциклазы [4, 9]. Однако взаимодействие нитропрусида с сульфгидрильными группами тканей сопровождается высвобождением цианидных групп, что может приводить при нарушении процесса детоксификации к цианидному отравлению [3, 5]. Имеются данные, что нитропруссид ингибирует поглощение кислорода митохондриями [6]. Известно также, что цианид, NO и NO-содержащие соединения являются сильными ингибиторами терминального фермента дыхательной цепи митохондрий, цитохром *c* оксидазы, катализирующей реакцию восстановления молекулярного кислорода [7, 13]. Ингибирование фермента может вызвать клеточную гипоксию.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния нитропрусида на реакцию восстановления молекулярного кислорода цитохромоксидазой.

### Материал и методы

Исследования выполнены на препаратах цитохромоксидазы, полученных из митохондрий сердца крупного рогатого скота по методу Yu et al. [14]. Концентрацию цитохромоксидазы определяли, исходя из миллимолярного коэффициента экстинкции  $\Delta\epsilon$  605 (восст.-окисл.)—24,0 [11]. Субстрат цитохромоксидазы (цитохром *c*) получали из сердца крупного рогатого скота, как было описано ранее [1]. Восстановление цитохрома *c* аскорбатом проводили в присутствии 0,1 мМ ЭДТА, избыток восстановителя удаляли гель-фильтрацией через сефадекс G-25. Концентрацию цитохрома *c* определяли из миллимоляр-