

молвакцины против паратифа в костном мозгу поросят активизируется миелопоэз и увеличивается содержание клеток ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС), в то время как эритропоэз несколько угнетается.

Многократное введение поросят тетрациклина миелопоэз и эритропоэз существенно не изменяет, но содержание клеток РЭС в костном мозгу этих животных несколько увеличивается, в основном, за счет плазматических клеток.

Применение тетрациклина на фоне вакцинации на 5-е сутки после введения формолвакцины против паратифа вызывает в костном мозгу этих животных такие же изменения, как и введение одной вакцины. И в то же время примененный антибиотик за сутки до вакцинации угнетает в костном мозгу поросят миелопоэз, активизирует эритропоэз и незначительно увеличивает содержание клеток РЭС.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ТЕТРАЦИКЛИНОВ И МЕХАНИЗМА ИХ ДЕЙСТВИЯ НА ИММУНОГЕНЕЗ ПРИ ПАРАТИФЕ

КАРПУТЬ И. М.,
кандидат ветеринарных наук, доцент

Созданные в последние годы водорастворимые тетрациклины для парентерального применения значительно расширили возможность использования этих антибиотиков в медицинской и ветеринарной практике. Однако, если биологическая наука располагает обширным клинико-лабораторным материалом относительно механизма действия антибиотиков на микроорганизм, то мало изученным остается влияние их на макроорганизм, на неспецифическую и специфическую резистентность его.

В последнее десятилетие появился ряд работ (Н. А. Озерецковский, 1963; А. И. Николаев, М. Ш. Мильман, Г. А. Морозова, 1968; И. М. Карпуть, 1970; И. М. Карпуть, В. Д. Чернигов, В. М. Холод, 1970; Ottensooser, Mendes, 1958; Queng, Dukes, Mc. Govern,

1965, и др.), указывающих на возможность образования антител к некоторым антибиотикам. Антитела против медикаментов могут не только обусловить состояние повышенной чувствительности, но и в значительной мере нейтрализовать биологическую активность вводимых препаратов.

Вместе с тем к настоящему времени накопилось немало фактов, свидетельствующих о том, что антибиотики оказывают отрицательное действие на иммунологическую реактивность. Так, в литературе имеются сведения, что среди леченых антибиотиками больных людей увеличилось число затяжных и хронических форм заболеваний, особенно в раннем возрасте, возросло количество таких заболеваний, при которых ранее формировался стойкий, почти пожизненный иммунитет — скарлатина, брюшной тиф, паратиф и др. (А. К. Тихий, 1965).

На основании сообщений, имеющих в литературе, можно выделить несколько механизмов угнетающего действия антибиотиков на иммуногенез. Прежде считали, что антибиотики оказывают бактериостатическое действие, вследствие чего происходит уменьшение антигена и тем самым снижается иммунологический эффект. Но опыты с живыми и убитыми антигенами не подтвердили этого предположения. Имеются указания, что антибиотики влияют на химическую природу антигена. Однако большинство исследователей (Т. М. Кокушкина, 1963; А. К. Тихий, 1965; Н. В. Чумаченко, 1967, и др.) считают, что эти препараты оказывают угнетающее действие непосредственно на источник образования антител. По мнению В. Д. Чернигова (1972), антибиотики нарушают поступление специфической информации в продуцирующие антитела клетки.

Следовательно, данные литературы о механизме отрицательного действия антибиотиков на иммуногенез довольно противоречивы.

В связи с этим представляет большой интерес изучение влияния антибиотиков в процессе иммуногенеза на клеточные популяции органов, ответственных за выработку антител. Немаловажное значение в познании антигенности и отрицательного влияния антибиотиков на иммуногенез имеет также выяснение возможности соединения указанных препаратов с рецепторами антигенореактивных лимфоцитов, которые вступают в контакт со стволовой клеткой и образуют клон клеток синтезирующих антитела при антигенной стимуляции.

Для выяснения антигенности, а следовательно, и возможности образования антител к тетрациклинам и некоторых механизмов отрицательного действия их при паратифе нами проведены исследования на 36 кроликах и 36 свиньях. Часть исследований выполнялась совместно с В. Д. Черниговым и А. С. Вильчинской.

Животным I группы вводили антибиотики тетрациклин или окситетрациклин в течение 5, 7, 10 и 14 дней в дозах 10—20 мг на 1 кг веса 2 раза в сутки. Животным II группы инъецировали антибиотики через 3—5 дней после введения формолвакцины или культуры возбудителя паратифа. Животным III группы указанные препараты применяли заблаговременно или одновременно с введением антигена. Контролем служили здоровые неиммунизированные, иммунизированные и больные паратифом кролики и свиньи.

До и после введения антибиотиков и антигенов в различные сроки проводили цитологические и цитохимические исследования крови и костномозговых пунктатов. Сыворотками крови ставили реакцию пассивной гемагглютинации на обнаружение антител к антибиотикам и реакцию агглютинации на выявления антител к паратифозному антигену. Кроме того, определяли белки, белковые фракции и фагоцитарную активность лейкоцитов крови. В это же время по 2—3 животных из каждой группы убивали с целью изучения гистологических и гистоцитохимических изменений. РНК выявляли по методу Браше, гликоген — по методу Шабаша и витамин С — по методу Жира и Леблота. Активность кислой и щелочной фосфатазы определяли методом Гомори, распределение тетрациклинов в тканях и органах — с помощью люминесцентно-микроскопического исследования и обычной световой микроскопии препаратов, окрашенных по методу Браше. Для дифференциации антибиотиков от железосодержащих пигментов использовали метод Перлса. Кроме того, срезы из всех органов окрашивали гематоксилин-эозином, а мазки крови, костномозговые пунктаты и отпечатки — по Паппенгейму. Особое внимание обращалось на характер и степень выраженности клеточных реакций и других изменений в лимфоузлах, селезенке, костном мозгу и периферической крови. Весь цифровой материал обработали методом вариационной статистики.

Чтобы изучить возможность соединения тетрациклинов с белками организма, использовали 17 проб сыворот-

ки крови плодов и взрослого крупного рогатого скота, свиней, лошадей и кроликов. Пробы сывороток разгоняли на фракции, с каждой из них, а также с полученными иммуноглобулинами (*IgM* и *IgG*) ставили реакцию микропреципитации в агаровом геле. Одновременно выясняли действие тетрациклина и окситетрациклина на иммунные сыворотки подопытных животных и волов-продуцентов. С этой целью иммунные сыворотки обрабатывали большими дозами антибиотиков (по 100 000 ЕД на 3 мл) в течение 24—48 часов, после центрифугирования которых ставили реакции агглютинации с паратифозным антигеном.

Результаты исследований показывают, что тетрациклины при многократном внутримышечном введении появлялись в большом количестве в регионарных лимфоузлах, в почках и печени. Вначале они концентрировались преимущественно внеклеточно, а в последующем в большом количестве отмечались в ретикуло-эндотелиальных клетках, в эпителии извитых канальцев почек и печеночных клетках. У животных, которым антибиотики вводили на фоне паратифозной инфекции, поглощение их макрофагами значительно усиливалось.

У всех животных, получавших антибиотики, регионарные лимфоузлы (подколенные, поверхностные и глубокие паховые, а также надколенные) резко увеличивались в объеме (рис. 1). В них возрастало количество макрофагов, богатых полисахаридом, витамином С и с высокой активностью кислой фосфатазы, бластов с большим содержанием РНК в цитоплазме, а к 7—10-му дню появлялось много плазматических клеток. Несколько слабее плазмоцитарная реакция была выражена в отдаленных лимфоузлах. Значительное количество плазматических клеток было и в селезенке. В костном мозгу преобладала миелобластическая реакция. Одновременно уменьшалось число клеток эритробластического ряда, вследствие чего в периферической крови развивалась не резко выраженная эритропения. В печени, почках и миокарде животных, получавших антибиотики, резко возрастало содержание аскорбиновой кислоты.

Параллельно с реактивными изменениями в кровеносно-лимфоидных органах в крови увеличивалось содержание гамма-глобулинов (табл. 1), гликогена — в нейтрофилах и РНК — в лимфоцитах. Накопление в нейтрофилах и ретикуло-эндотелиальных клетках гликогена, витамина С и повышение активности кислой фосфатазы

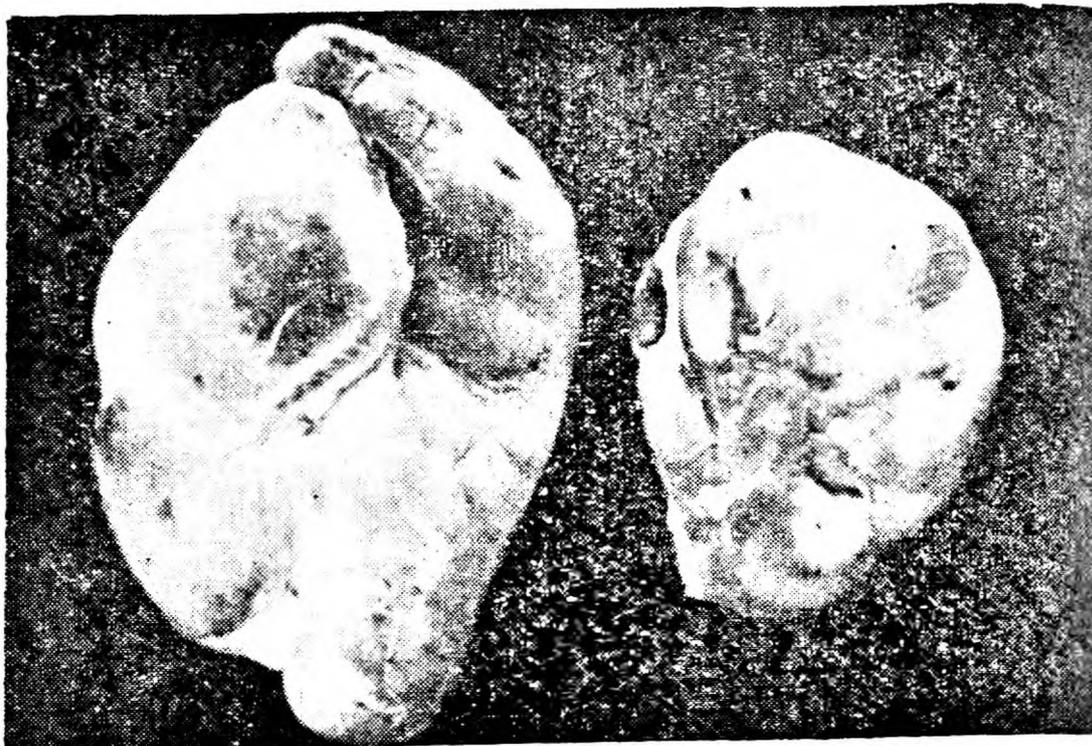


Рис. 1. Увеличение регионарного глубокого пахового лимфоузла на введение тетрациклина.

Таблица 1

Общий белок и белковые фракции в сыворотке крови свиней, получавших тетрациклин

Показатели	До введения	После введения антибиотика		После прекращения введения
		через 7 дней	через 14 дней	через 7 дней
Общий белок, г%	6,37 ± 0,42	6,05 ± 0,50	5,37 ± 0,56	5,68 ± 0,82
Белковые фракции				
Альбумины	40,2 ± 0,69	34,18 ± 1,74	28,15 ± 2,95	32,4 ± 4,40
Альфа-глобулины	21,33 ± 1,1	20,12 ± 2,26	21,12 ± 1,15	23,4 ± 1,10
Бета-глобулины	12,27 ± 0,52	9,56 ± 1,24	11,98 ± 0,70	11,5 ± 0,61
Гамма-глобулины	26,2 ± 1,22	36,14 ± 4,06	38,75 ± 4,60	32,7 ± 4,91

способствовало значительному усилению фагоцитарной активности этих клеток (табл. 2).

Одновременно в сыворотке крови животных, получавших антибиотики, появлялись специфические к ним антитела, которые в больших титрах обнаруживались на 7—14-й день (табл. 3) и удерживались на относительно

высоком уровне до полутора месяцев после введения указанных препаратов. Через 2 месяца после прекращения инъекции тетрациклинов антитела к ним не обнаруживались.

Таблица 2

Фагоцитарная активность лейкоцитов крови свиней, получавших тетрациклин

Показатели	До введения	После введения антибиотика		После прекращения введения
		через 7 дней	через 14 дней	через 7 дней
Процент фагоцитоза	39,0 ± 3,87	56,0 ± 1,74	55,25 ± 3,63	59,0 ± 3,0
Фагоцитарный индекс	1,38 ± 0,24	1,96 ± 0,10	1,69 ± 0,56	1,99 ± 0,42
Фагоцитарное число	3,65 ± 0,80	3,47 ± 0,31	3,05 ± 0,23	3,34 ± 0,54
Процент переваривания	24,5 ± 3,26	48,21 ± 3,09	67,79 ± 3,43	78,77 ± 2,97
Индекс переваривания	0,32 ± 0,06	0,92 ± 0,1	1,14 ± 0,09	1,58 ± 0,39

Применение тетрациклинов с лечебной целью при экспериментальной паратифозной инфекции или при введении формолвакцины против паратифа существенно не влияло на развитие специфической резистентности. В кроветворно-лимфоидной системе развивались характерные для иммуногенеза цитологические и цитохимические изменения. При этом антибиотикотерапия вела к усилению плазмоцитарной реакции в регионарных местах введения этих препаратов лимфоузлах.

Таблица 3

Реакция пассивной гемагглютинации с иммунными против антибиотиков сыворотками крови свиней

Название антибиотика	Титр антител	
	на 5—7-й день	на 10—14-й день
Окситетрациклин	1:64	1:256—1:512
Тетрациклин	1:256—1:512	1:64—1:128

Введение окситетрациклина и тетрациклина заблаговременно или одновременно с инъекцией паратифозного антигена, несмотря на общую выраженность плазмаци-

тарной реакции, отрицательно сказывалось на развитии специфической резистентности. По данным В. Д. Чернигова (1972), в сыворотке крови у таких животных резко снижался титр агглютининов и при контрольном заражении они нередко заболевали. В то же время в сыворотке крови их в высоких титрах появлялись специфические к антибиотикам антитела.

Тетрациклины оказывали сильное отрицательное действие и на реакцию агглютинации паратифозного антигена в пробирке. Так, при обработке иммунных сывороток антибиотиками реакция агглютинации была положительной в малых разведениях или вообще отрицательной (табл. 4).

Таблица 4

Влияние тетрациклина на реакцию агглютинации паратифозного антигена

Сыворотки		Разведение сывороток			
		1:10	1:20	1:40	1:80
Без тетрациклина	Гипериммунная	++++	++++	++++	++++
	Иммунная	++++	+++	++	+
С тетрациклином	Гипериммунная	++	+	+	—
	Иммунная	—	—	—	—

Сыворотки		Разведение сывороток			
		1:160	1:320	1:640	1:1280
Без тетрациклина	Гипериммунная	++++	+++	++	+
	Иммунная	—	—	—	—
С тетрациклином	Гипериммунная	—	—	—	—
	Иммунная	—	—	—	—

С помощью реакции преципитации в агаровом геле установлено, что угнетающее действие на реакцию агглютинации связано с возможностью антибиотиков вступать в соединение со всеми фракциями белка сыворотки крови, в том числе и иммуноглобулинами (рис. 2). В то же время тетрациклины, как показывают исследования (А. К. Тихий, 1965; В. Д. Чернигова, 1972), не влияют на антигенные свойства возбудителя паратифа.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют, что развивающиеся изменения при парен-

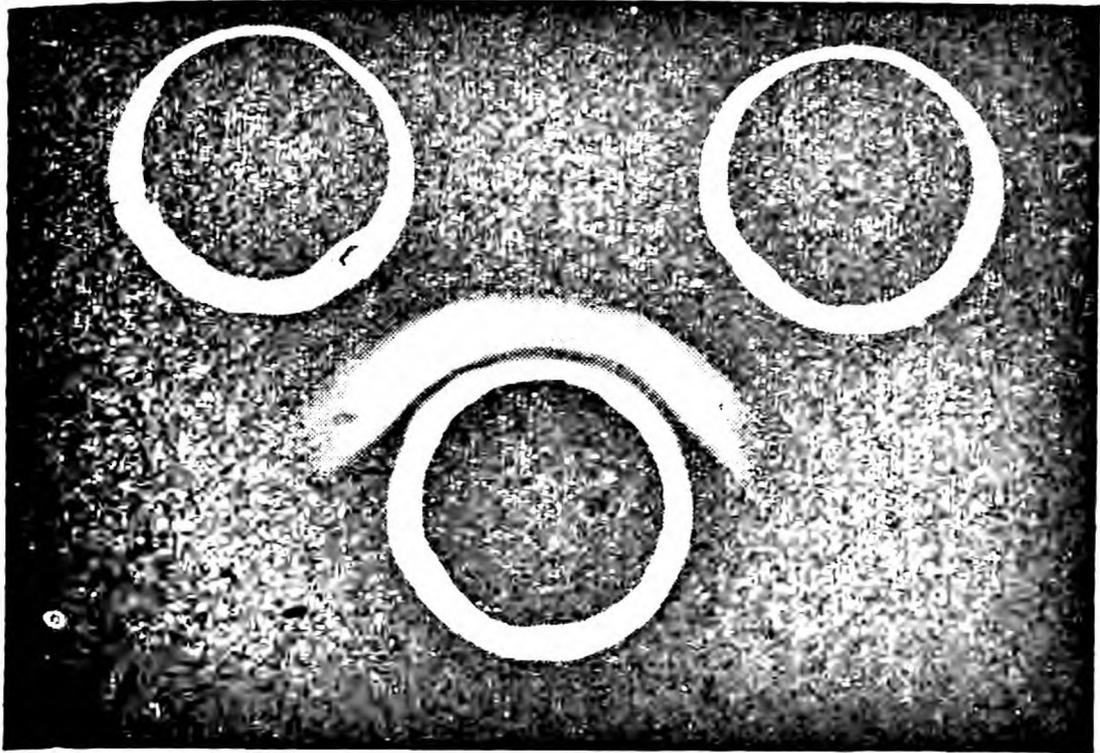


Рис. 2. Реакция микропреципитации в агаровом геле иммуноглобулина (*Ig G*) с окситетрациклином.

теральном введении антибиотиков тетрациклиновой группы сходны с иммуноморфологическими изменениями, возникающими в ответ на полноценные антигены, а в сыворотке крови появляются антитела к указанным препаратам. Принимая во внимание, что тетрациклины обладают малым молекулярным весом, необходимым для антигена, следует полагать, что свойство последнего они приобретают в соединении с белками организма.

Поскольку тетрациклины проявляют наиболее угнетающее действие на индуктивную фазу иммуногенеза и могут вступать во взаимодействие со всеми белковыми фракциями крови, в том числе и с иммуноглобулинами, можно думать, что антибиотики обладают широкой и высокой конкурентной способностью в борьбе за рецепторы (иммуноглобулины) антигенореактивных лимфоцитов. Блокада рецепторов ведет к задержке поступления антигенной информации к стволовым клеткам, вследствие чего нарушается пролиферация клона образующих антитела плазматических клеток к паратифозному антигену.