

28-902
С 24

V+a

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

Ю. Д. СВИСТУН

РОЛЬ ЖЕЛЕЗА, МЕДИ, КОБАЛЬТА И ЦИНКА
В ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ
ОРГАНИЗМА

(Экспериментальное исследование)
(093 — Биологическая химия)

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ивано-Франковск
1969



Работа выполнена на кафедре медицинской химии Ивано-Франковского медицинского института (зав. кафедрой и ректор института — заслуженный деятель науки УССР, доктор медицинских наук, профессор **Г. А. Бабенко**).

Научные руководители:

заслуженный деятель науки УССР, доктор медицинских наук, профессор **Г. А. Бабенко**;

доктор медицинских наук, профессор **Т. И. Иванова**.

Диссертация изложена на 344 страницах машинописи, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка использованной литературы. Список литературы содержит 300 отечественных и 98 иностранных источников.

Работа иллюстрирована 79 рисунками, 86 таблицами и 20 микрофотографиями.

Постановлением Ученого Совета Ивано-Франковского медицинского института официальными оппонентами назначены:

доктор медицинских наук, профессор **Е. М. Нейко** и
кандидат медицинских наук, доцент **В. М. Витвицкий**.

Учреждение, давшее отзыв о диссертации, — Черновицкий государственный медицинский институт.

Защита диссертации состоится на заседании Ученого Совета Ивано-Франковского медицинского института « »
1969 г.

Автореферат разослан « »

1969 г.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2. Мединститут. Ученому секретарю.

Учение о биологической роли микроэлементов, научно обоснованное в трудах выдающегося русского ученого В. И. Вернадского, получило дальнейшее развитие в исследованиях его учеников и последователей.

Исследованиями в лабораториях, руководимых В. В. Ковальским, А. О. Войнаром, Ф. Я. Беренштейном, Г. А. Бабенко, В. А. Леоновым, А. И. Венчиковым, В. Стайлсом, Б. Валли и др., установлена важная роль микроэлементов в обмене белков, углеводов, жиров, гормонов, витаминов, минеральных солей; доказано их влияние на процессы роста, развития, размножения, тканевого дыхания и кроветворения.

Высокая физиологическая активность микроэлементов в обменных процессах позволяет предположить и их участие в формировании иммунологической реактивности организма. Однако широкого освещения этот вопрос еще не получил. В имеющихся единичных сообщениях показано влияние микроэлементов на выработку антител. Согласно данным L. Walbum, S. Schmidt (1925), Л. И. Лобзина (1962, 1963), Г. А. Бабенко (1965), Т. И. Ивановой (1968) марганец, железо, никель, йод, медь, кобальт и другие элементы способствовали повышению у иммунизированных животных титра агглютининов и комплементсвязывающих антител.

Работами А. В. Игнатович, И. Б. Короткова (1958) показано влияние солей магния, железа, меди, кобальта на образование антител, синтез общего белка и гемоглобина у иммунизированных животных.

Известно также, что микроэлементы в определенных концентрациях обладают способностью стимулировать фагоцитарную активность лейкоцитов животных и человека (Г. М. Каприелов, 1957; А. А. Непесов, 1959; А. И. Карасев, С. А. Джабиева, 1960; Ф. М. Гаджиев и З. М. Аликишибекова, 1960; А. И. Венчиков, 1962; Л. И. Лобзин, 1962, 1963; А. Н. Кособрюхов, 1963).

Для более полного объяснения механизма действия микроэлементов на иммунологическую реактивность организма необходимо иметь представление о влиянии иммунизации на содержание их в органах и тканях животных. Однако этот вопрос и по настоящее время остается мало изученным, а полученные данные немногочисленны, а порой и противоречивы (А. П. Кортев, К. В. Бежаева, 1965; С. М. Прегер, 1965, 1966; Е. Г. Ткаченко, 1965; С. М. Прегер, Л. И. Невзорова, 1966; Я. П. Пухова, 1967).

Исходя из вышеуказанного, цель и задача нашей работы состояла в выяснении физиологической роли железа, меди, кобальта и цинка в иммуногенезе. Нами изучались количественные изменения уровня этих микроэлементов в тканях и органах при иммунизации животных гретой вакциной из *S. typhimurium* и нормальной лошадиной сывороткой. В крови иммунизированных животных определяли активность медьсодержащего белка — церулоплазмينا и насыщенность трансферрина сыворотки крови железом. На отдельной группе вакцинированных животных изучалось влияние введенных сернокислых солей железа, меди, кобальта и цинка на выработку иммунных агглютининов.

Методики исследования.

Опыты были поставлены на 89 кроликах. Животных иммунизировали по следующей схеме: вакцину или нормальную лошадиную сыворотку вводили подкожно три дня подряд по 0,5 мл, а после трехдневного перерыва вакцину или сыворотку вводили внутривенно три дня подряд по 0,3 мл. Подопытных животных умерщвляли на 1-е, 4-е, 8-е, 12-е и 20-е сутки после последнего введения вакцины и на 1-й, 8-й, 20-й день после последнего введения сыворотки. Для исследования забирали кровь, печень, селезенку, легкие, костный мозг, кости и мышцы контрольных и иммунизированных кроликов.

Содержание микроэлементов, активность церулоплазмينا и насыщенность трансферрина сыворотки крови железом определяли по методикам, предложенным Г. А. Бабенко (1959, 1963, 1965, 1966, 1968). Для ведения массовых анализов экстракции микроэлементов нами совместно с Ю. М. Лабием и О. М. Лабием сконструирован пульсационный автоматический экстрактор (авторское свидетельство № 195197).

В ходе исследований было произведено 2452 определения содержания микроэлементов в анализируемых пробах золы

из тканей животных и 351 определение активности церулоплазмينا, 308 определений насыщенности трансферрина железом.

О степени выраженности иммунологического ответа судили на основании определения в сыворотке крови подопытных кроликов агглютининов и преципитинов, а также по гистоморфологической картине органов РЭС иммунизированных животных.

Гистологические препараты из органов и тканей подопытных кроликов изготовлены на кафедре патологической анатомии Ивано-Франковского мединститута. Окраска препаратов — гематоксилин-эозин, по методу Фельгена на ДНК и по методу Браше на РНК.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что иммунизация подопытных животных как вакциной из *S. typhimurium*, так и нормальной лошадиной сывороткой сопровождается появлением в сыворотке крови специфических антител, титр которых постепенно нарастает. Наиболее высокое содержание агглютининов в сыворотке крови вакцинированных кроликов наблюдалось на 12-й день после последнего введения вакцины и составляло 1:5120—1:10240. При иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой титр преципитинов был выражен в разведении антигена 1:1280—1:2560. В лимфоидной ткани и соединительно-тканной строме органов РЭС возникает ряд изменений, указывающих на гиперплазию элементов ретикуло-эндотелиальной системы с выраженной пролиферацией макрофагов, плазматизация лимфоидной ткани с накоплением в клетках химически активных веществ, участвующих в биосинтезе белка и антителообразовательном процессе, миелоидная метаплазия лимфоидной ткани. Наиболее чувствительными структурами к антигенному воздействию оказываются элементы соединительной ткани и ретикуло-гистиоцитарной системы, в то время, как элементы паренхиматозных органов в большинстве морфологических наблюдений оставались неизменными.

Динамика содержания железа в органах и тканях иммунизированных кроликов.

В таблицах 1 и 2 приведены данные содержания железа в органах и тканях кроликов при иммунизации их гретой вакциной из *S. typhimurium* и нормальной лошадиной сывороткой.

Анализ полученных данных показывает, что при иммунизации кроликов как вакциной, так и лошадиной сывороткой

Динамика содержания железа в органах и тканях кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium* (в мг% на золу)

Таблица 1

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Конт-роль	В следующие сроки после последнего введения вакцины (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь (в процентах)	M	5,82	3,51	4,01	3,96	4,49	7,87
	±m	0,23	0,10	0,14	0,13	0,25	0,78
	n	30	30	24	18	12	5
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,02	<0,01
Печень	M	1311	1454	1656	1560	867	883
	±m	82,6	156,55	133,52	178,76	104	35,97
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,2	<0,05	>0,2	<0,01	<0,001
Легкие	M	719	255	291	383	317	371
	±m	56	12,71	22,59	26,92	36,03	29,28
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Селезенка (в процентах)	M	3,18	5,23	6,90	3,71	3,20	4,24
	±m	0,12	0,72	0,30	0,52	0,66	0,47
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,01	<0,001	>0,2	>0,5	<0,05
Костный мозг	M	924	749	831	700	636	513
	±m	63,94	53,00	57,41	74,96	51,49	53,40
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,05	>0,2	<0,05	<0,01	<0,001
Кости	M	17,58	15,34	15,62	14,85	15,97	16,31
	±m	0,74	1,25	1,04	0,99	1,20	0,83
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,1	>0,2	<0,05	>0,2	>0,2
Мышцы	M	65,45	56,53	51,03	51,52	52,15	68,03
	±m	5,19	3,26	3,31	3,12	3,17	4,22
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,1	<0,05	<0,05	<0,05	>0,5

Динамика содержания железа в органах и тканях кроликов при введении им нормальной лошадиной сыворотки (в мг% на золу)

Таблица 2

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Конт-роль	В следующие сроки после последнего введения сыворотки (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь (в процентах)	M	5,47	3,23	2,94	2,36	2,55	2,83
	±m	0,21	0,11	0,14	0,08	0,16	0,19
	n	18	17	12	12	6	6
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Печень	M	1311	760	—	917	—	652
	±m	82,6	66,43	—	100,44	—	81,01
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,001	—	<0,02	—	<0,001
Легкие	M	719	521	—	483	—	570
	±m	56	22,38	—	30,71	—	57,90
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,01	—	<0,01	—	>0,05
Селезенка (в процентах)	M	3,18	5,23	—	1,96	—	2,91
	±m	0,12	0,60	—	0,14	—	0,27
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,01	—	<0,001	—	>0,2
Костный мозг	M	924	569	—	654	—	889
	±m	63,94	54,55	—	76,88	—	86,07
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,001	—	<0,05	—	>0,5
Кости	M	17,58	13,89	—	15,27	—	9,37
	±m	0,74	1,28	—	1,39	—	1,04
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	>0,1	—	>0,1	—	<0,001
Мышцы	M	65,45	91,35	—	106,94	—	94,44
	±m	5,19	8,53	—	5,45	—	6,68
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,05	—	<0,001	—	<0,01

содержание железа в крови уменьшается. Причем более глубокие изменения в концентрации железа отмечены при воздействии растворимого антигена — нормальной лошадиной сыворотки.

В печени кроликов, иммунизированных гретой вакциной, концентрация железа к 4-му дню нарастает, составляя $1656 \pm 133,52$ мг%. Позже содержание железа начинает уменьшаться и на 20-й день оно на 33% ниже исходного уровня. При иммунизации животных сывороточным антигеном уровень железа в печени на протяжении всего исследования ниже и на 20-е сутки исследования содержание этого металла составляло $652 \pm 81,01$ мг.

В легких обеих групп животных концентрация железа уменьшается. Во все сроки исследования более глубокие изменения концентрации железа наблюдаются в легочной ткани кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium*.

На протяжении всего периода исследования концентрация железа в селезенке иммунизированных кроликов изменяется неодинаково. У вакцинированной группы кроликов содержание железа в селезенке повышалось и наивысшего уровня оно достигало на 4-е сутки ($6,90 \pm 0,30$ %). В последующие дни уровень железа постепенно уменьшался, однако и в эти дни он был выше исходного. При иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой содержание железа на 1-й день увеличивалось до $5,23 \pm 0,60$ %, а на 8-е и 20-е сутки оно было ниже контрольных величин.

Одинаковая направленность содержания железа при иммунизации различными антигенами наблюдается в костном мозгу кроликов. При введении вакцины с 1-го по 20-й день наблюдалось постепенное уменьшение концентрации железа, наименьшие величины которой наблюдались на 20-е сутки и составляли $513 \pm 53,4$ мг%. Пониженное содержание железа в костном мозгу наблюдалось и при иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой. Однако в этой группе животных минимальный уровень железа установлен на 1-й день и составлял $569 \pm 54,55$ мг%. А в последующие дни наблюдалось некоторое увеличение содержания железа и на 20-е сутки составляло $889 \pm 86,07$ мг% ($p > 0,5$).

Уменьшение уровня железа выявлено также и в костной ткани кроликов, иммунизированных как растворимым, так и корпускулярным антигенами. Однако в этой ткани статистически достоверные изменения были выявлены на 8-е сутки при иммунизации вакциной и на 20-е сутки при введении сыворотки.

Противоположная направленность в содержании железа наблюдалась в мышцах иммунизированных животных. Концентрация железа в мышечной ткани кроликов, иммунизированных вакциной из *S. typhimurium*, уменьшалась, а при введении кроликам нормальной лошадиной сыворотки в их мышечной ткани наблюдалось увеличение уровня железа.

В связи с изложенным определенным интерес представляло изучить насыщенность трансферрина сыворотки крови железом (металлопротеид, являющийся фактором переноса железа из крови в различные органы и депо организма). Проведенные в этом направлении исследования показали, что при иммунизации вакциной статистически достоверное уменьшение насыщенности железом трансферрина с $0,145 \pm 0,0029$ ус. ед. до $0,135 \pm 0,0035$ ус. ед. наблюдалось на 8-е сутки после последнего введения вакцины. В остальные дни этот показатель проявлял лишь тенденцию к понижению. При иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой во все сроки исследования отмечалось статистически достоверное уменьшение насыщенности железом трансферрина. Эти данные свидетельствуют о том, что при иммунизации изменяется способность крови, а также и печени включать железо в высокомолекулярные соединения.

Таким образом, полученные данные показывают, что под влиянием антигенного раздражения наблюдается перераспределение железа между органами и тканями, которое в определенной степени зависит и от вида антигена.

Динамика содержания меди в органах и тканях иммунизированных кроликов

Данные содержания меди в органах и тканях животных при иммунизации их различными антигенами представлены в табл. 3 и табл. 4.

Увеличенное содержание меди установлено в крови кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium*, максимальный уровень которой наблюдался на 8-е сутки и составлял $20,54 \pm 0,98$ мг%. Аналогичные изменения содержа-

Динамика содержания меди в органах и тканях кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium* (в мг% на золу)

Таблица 3

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Конт-роль	В следующие сроки после последнего введения вакцины (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь	M	10,63	15,54	19,55	20,54	16,41	18,67
	±m	0,59	0,68	0,67	0,98	0,99	1,28
	n	29	30	24	18	12	6
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Печень	M	25,89	31,05	35,35	38,60	38,29	37,48
	±m	1,03	4,97	3,72	2,63	2,25	1,47
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001
Легкие	M	15,46	19,13	16,96	17,75	27,70	19,93
	±m	0,95	0,98	1,21	1,08	1,59	1,45
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,02	>0,5	>0,1	<0,001	<0,05
Селезенка	M	15,81	13,55	14,93	20,95	18,46	21,68
	±m	0,84	0,64	1,27	1,49	1,38	1,31
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	=0,05	>0,5	<0,01	>0,1	<0,01
Костный мозг	M	9,80	10,32	3,82	4,77	7,1	8,21
	±m	0,72	0,81	0,46	0,32	0,83	0,61
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,5	<0,001	<0,001	<0,05	>0,05
Кости	M	3,45	2,08	2,78	1,88	2,55	3,19
	±m	0,23	0,20	0,31	0,17	0,18	0,24
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,001	>0,05	<0,001	<0,01	>0,2
Мышцы	M	7,01	8,24	7,63	9,34	8,29	9,04
	±m	0,30	0,58	0,45	0,69	0,46	0,81
	n	9	6	5	6	5	6
	P	—	>0,05	>0,2	<0,001	<0,05	<0,05

Динамика содержания меди в органах и тканях кроликов, при введении им нормальной лошадиной сыворотки (в мг% на золу)

Таблица 4

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Конт-роль	В следующие сроки после последнего введения сыворотки (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь	M	11,06	28,17	23,26	24,06	21,24	18,56
	±m	0,47	1,35	1,54	2,05	1,87	2,21
	n	18	18	12	12	6	6
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,02
Печень	M	25,89	26,35	—	19,34	—	20,24
	±m	1,03	0,57	—	1,28	—	0,85
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,5	—	<0,01	—	<0,001
Легкие	M	15,46	22,41	—	20,16	—	21,87
	±m	0,95	2,13	—	0,81	—	0,91
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,02	—	<0,01	—	<0,001
Селезенка	M	15,81	21,81	—	29,06	—	28,61
	±m	0,84	1,31	—	2,63	—	2,12
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,01	—	<0,001	—	<0,001
Костный мозг	M	9,80	0,59	—	5,59	—	7,01
	±m	0,72	0,48	—	0,44	—	0,62
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	>0,5	—	<0,001	—	<0,01
Кости	M	3,45	3,05	—	2,78	—	2,93
	±m	0,23	0,19	—	0,16	—	0,18
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	>0,1	—	<0,05	—	>0,1
Мышцы	M	7,01	5,73	—	4,99	—	7,61
	±m	0,30	0,38	—	0,42	—	0,51
	n	9	6	—	6	—	6
	P	—	<0,05	—	<0,01	—	>0,1

ния меди были отмечены и в крови кроликов, которых иммунизировали нормальной лошадиной сывороткой. Однако абсолютные величины концентрации меди, как это видно из табл. 4, у этой группы животных были выше, чем при введении вакцины. Кроме того, в крови иммунизированных кроликов исследовали активность медьсодержащего фермента — церулоплазмينا. На протяжении всего периода исследования активность церулоплазмينا сыворотки крови возрастала как при иммунизации корпускулярным, так и растворимым антигенами. В отдельные дни исследования медьоксидазная активность сыворотки крови (4-е, 8-е сутки) в три раза превышала исходные величины.

Проведенные исследования показывают, что при иммунизации животных нормальной лошадиной сывороткой сдвиги в изменении содержания меди в крови выражены сильнее, в то же время более высокие величины активности церулоплазмينا наблюдались при введении кроликам вакцины из *S. typhimurium*.

Антигенное раздражение приводит к изменению содержания меди в тканях иммунизированных животных по сравнению с контрольной группой. В печени кроликов, иммунизированных вакциной из *S. typhimurium*, нами отмечено повышенное содержание меди, наивысшие концентрации которой наблюдались на 8-й и 12-й дни.

При введении кроликам нормальной лошадиной сыворотки концентрация меди на 1-е сутки была такой же, как и в печени контрольных животных. В последующие сроки исследования уровень меди уменьшался и на 8-й день составлял $19,34 \pm 1,28$ мг%, а на 20-й день — $20,24 \pm 0,85$ мг%.

В легочной ткани обеих подопытных групп наблюдалось увеличение содержания меди. Однако, более выраженные изменения в первые дни исследования наблюдались при введении растворимого антигена, а позже более глубокие сдвиги уровня меди в легочной ткани были отмечены при иммунизации животных корпускулярным антигеном.

На 1-й и 4-й дни в селезенке экспериментальных животных наблюдалась противоположная направленность в содержании этого микроэлемента; при введении корпускулярного антигена оно понижалось, а растворимый антиген вызывал увеличение содержания меди. Начиная с 8-го дня и до конца исследования, направленность изменений уровня меди одинаковая. Необходимо отметить, что при иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой концентрация

меди в селезенке значительно выше, чем при введении вакцины.

Аналогичная направленность изменений содержания меди была выявлена в костном мозгу кроликов иммунизированных как вакциной, так и сывороткой. На 1-е сутки после последнего введения антигена уровень меди в костном мозгу обеих подопытных групп был таким же, как у контрольных животных. А начиная с 4-го дня исследования, концентрация этого элемента в костном мозгу иммунизированных животных падает. На 4-й день в костном мозгу вакцинированных животных концентрация меди составляла 39% от контроля. При иммунизации нормальной лошадиной сывороткой на 8-е сутки этот показатель составлял 57%. На 20-й день он был значительно выше, однако нормы не достигал.

Однотипные изменения концентрации меди были выявлены в костной ткани обеих групп животных. Из табл. 3 следует, что в костях вакцинированных животных содержание меди постепенно уменьшалось и на 8-е сутки составляло $1,88 \pm 0,17$ мг%. Позже наблюдалось некоторое увеличение уровня меди, который нормализовался на 20-й день. Изменение обмена меди в костной ткани кроликов, иммунизированных нормальной лошадиной сывороткой, было выражено несколько в меньшей степени.

Противоположное изменение концентрации меди установлено в мышечной ткани кроликов, иммунизированных различными антигенами. Гретья вакцина на протяжении всего эксперимента вызывала увеличение концентрации меди в мышцах, а сывороточный антиген — уменьшение ее количества.

Приведенные данные показывают, что под влиянием антигенного раздражения в тканях организма наступают определенные сдвиги обмена меди.

Динамика содержания кобальта в органах и тканях иммунизированных кроликов

Из таблиц 5 и 6 видно, что содержание кобальта в крови кроликов, иммунизированных как гретой вакциной из *S. typhimurium*, так и нормальной лошадиной сывороткой, повышено. Своеобразно изменяется концентрация кобальта в некоторых органах иммунизированных кроликов (печень, легкие, селезенка). При иммунизации кроликов гретой вакциной из *S. typhimurium*, как это видно из табл. 5, наиболее высокий уровень кобальта наблюдается на 1-й день в легких, а в печени и селезенке — на 4-е сутки. В последующие дни

Динамика содержания кобальта в органах и тканях кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium* (в мг% на золу)

Таблица 5

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Контроль	В следующие сроки после последнего введения вакцины (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь	M	0,469	0,598	0,408	0,616	0,620	0,581
	±m	0,03	0,002	0,013	0,025	0,027	0,064
	n	30	30	23	18	12	6
	P	—	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05
Печень	M	1,522	1,739	2,049	1,901	1,727	1,176
	±m	0,099	0,11	0,142	0,153	0,134	0,069
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,1	<0,01	>0,05	>0,1	<0,02
Легкие	M	1,231	1,528	1,450	0,823	0,956	1,115
	±m	0,08	0,094	0,110	0,07	0,09	0,096
	n	10	6	6	6	5	6
	P	—	<0,05	>0,1	<0,01	<0,05	>0,2
Селезенка	M	0,84	1,03	1,20	0,74	0,62	0,67
	n	5	4	4	3	4	3
	P	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—
Костный мозг	M	1,089	0,861	0,685	0,646	0,637	0,866
	±m	0,093	0,068	0,063	0,049	0,047	0,066
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	>0,2	<0,01	<0,001	<0,001	>0,05
Кости	M	0,469	0,352	0,401	0,298	0,310	0,373
	±m	0,036	0,033	0,03	0,032	0,029	0,037
	n	10	6	6	6	6	6
	P	—	<0,05	>0,1	<0,01	<0,01	>0,05
Мышцы	M	0,612	0,469	0,753	0,392	0,411	0,424
	±m	0,038	0,064	0,069	0,031	0,024	0,036
	n	9	6	6	6	6	6
	P	—	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	<0,01

Динамика содержания кобальта в органах и тканях кроликов, при введении им нормальной лошадиной сыворотки (в мг% на золу)

Таблица 6

Исследуемая ткань	Статистич. показатель	Контроль	В следующие сроки после последнего введения сыворотки (в сутках)				
			1	4	8	12	20
Кровь	M	0,466	0,605	0,598	0,623	0,620	0,570
	±m	0,024	0,026	0,025	0,03	0,045	0,041
	n	18	18	12	12	6	6
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,05
Печень	M	1,522	1,963	—	1,692	—	1,193
	±m	0,099	0,11	—	0,085	—	0,077
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,01	—	>0,2	—	<0,05
Легкие	M	2,31	1,708	—	1,382	—	1,007
	±m	0,08	0,086	—	0,08	—	0,067
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	<0,001	—	>0,2	—	<0,05
Селезенка	M	0,84	1,10	—	0,64	—	0,60
	n	5	4	—	3	—	3
	P	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—
Костный мозг	M	1,089	1,266	—	0,690	—	0,756
	±m	0,093	0,11	—	0,07	—	0,06
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	>0,2	—	<0,01	—	<0,01
Кости	M	0,469	0,414	—	0,309	—	0,351
	±m	0,036	0,025	—	0,024	—	0,027
	n	10	6	—	6	—	6
	P	—	>0,2	—	<0,01	—	<0,02
Мышцы	M	0,612	0,487	—	0,358	—	0,445
	±m	0,038	0,036	—	0,037	—	0,034
	n	9	6	—	6	—	6
	P	—	<0,05	—	<0,001	—	<0,01

концентрация кобальта постепенно уменьшается и, начиная с 8-го дня в легких и селезенке, а на 20-й день и в печени, содержание изучаемого микроэлемента ниже, чем уровень кобальта в аналогичных органах контрольных животных.

Такая же направленность изменений содержания кобальта в названных органах наблюдается и у кроликов, которых иммунизировали нормальной лошадиной сывороткой. В печени и легких на 1-е и 8-е сутки, на 1-е сутки в селезенке концентрация кобальта значительно выше, чем в контроле. На 20-й день уровень кобальта во всех указанных тканях был ниже нормы.

В ткани костного мозга подопытных кроликов корпускулярный и растворимый антигены вызывают на протяжении всего исследования аналогичные изменения. Концентрация кобальта в этом органе постепенно уменьшается и минимальное содержание его установлено на 8-е и 12-е сутки после окончания иммунизации. На 20-й день содержание кобальта несколько выше, чем в предыдущие сроки, но и оно значительно ниже исходного уровня.

На протяжении всего периода исследования уменьшается концентрация кобальта в костной и мышечной тканях обеих групп подопытных кроликов.

Таким образом, исследование содержания кобальта в органах и тканях иммунизированных кроликов показывает, что только в крови животных концентрация кобальта повышена во все сроки исследования. В остальных органах и тканях (в одних — на 4-е и 8-е сутки, в других — на 12-е сутки, а в третьих — на протяжении всего эксперимента) концентрация кобальта значительно ниже нормы. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что растворимый и корпускулярный антигены вызывают в большинстве органов и тканей сходные изменения, хотя по глубине в некоторых тканях (печень, легкие, костный мозг) может быть отмечена определенная зависимость содержания кобальта от вида антигена.

Динамика содержания цинка в органах и тканях иммунизированных кроликов

Результаты, полученные при изучении содержания цинка в органах и тканях кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium*, приведены в табл. 7, а при иммунизации нормальной лошадиной сывороткой — в табл. 8. Анализ представленных данных показывает, что в крови кроликов, которым вводили как вакцину, так и нормальную ло-

376

Динамика содержания цинка в органах и тканях кроликов, иммунизированных грейной вакциной из *S. typhimurium* (в мг% на золу)

Таблица 7

Исследуемая ткань	Статистический показатель	Конт. роль	В следующие сроки после последнего введения вакцины (в сутках)							
			1	4	8	12	17	21		
Кровь	M	57,77	36,03	36,80	34,33	39,11	39,33			
	±m	1,37	1,63	1,23	1,27	2,52	3,09			
	n	30	29	24	18	12	6			
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001			
Печень	M	244,64	386,76	452,47	325,38	471,87	366,25			
	±m	12,95	41,52	52,01	35,88	38,46	31,19			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	<0,01	<0,01	>0,05	<0,001	<0,01			
Легкие	M	173,14	218,07	205,19	179,42	193,55	203,65			
	±m	4,8	11,13	6,77	7,36	3,99	5,34			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	<0,01	<0,01	>0,5	<0,01	<0,001			
Селезенка	M	158,57	107,28	102,06	169,49	121,41	197,28			
	±m	2,96	5,91	5,51	10,49	9,23	20,52			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	<0,001	<0,001	>0,2	<0,01	>0,05			
Костный мозг	M	76,43	77,09	95,20	58,07	73,61	65,89			
	±m	4,01	6,25	6,03	2,19	2,97	2,49			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	>0,5	<0,05	<0,01	>0,5	<0,05			
Кости	M	25,24	29,99	30,45	27,88	27,98	31,57			
	±m	0,91	1,37	1,20	1,58	1,03	0,98			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	<0,05	<0,01	>0,2	>0,05	<0,001			
Мышцы	M	136,37	161,70	183,93	197,73	126,88	109,33			
	±m	6,02	6,73	10,13	13,27	6,02	5,83			
	n	10	6	6	6	6	6			
	P	—	<0,02	<0,01	<0,001	>0,2	<0,02			

Динамика содержания цинка в органах и тканях кроликов
при введении им нормальной лошадиной сыворотки (в мг % на золу)

Таблица 8

Исследуемая ткань	Стати- стич по- казатель	Конь: роль	В следующие сроки после последнего введения сыворотки (в сутках)					
			1	4	8	12	30	
Кровь	M	55,67	40,00	38,88	38,77	47,67	50,32	
	±m	1,97	1,37	1,18	1,46	3,46	2,88	
	n	18	18	12	12	6	6	
	P	—	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	>0,1	
Печень	M	214,64	321,71		337,91		339,01	
	±m	12,95	29,55		26,21		17,15	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,05		<0,01		<0,001	
Летние	M	173,14	134,76		130,40		148,11	
	±m	4,80	6,70		8,30		9,80	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,001		<0,001		<0,05	
Селезенка	M	158,57	115,94		171,16		136,13	
	±m	2,96	7,91		12,15		6,64	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,001		>0,2		<0,01	
Костный мозг	M	76,43	89,38		95,08		77,24	
	±m	4,01	4,12		7,39		4,50	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,05		<0,05		>0,5	
Кости	M	25,24	33,34		32,83		31,89	
	±m	0,91	1,54		1,49		1,47	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,001		<0,001		<0,01	
Мышцы	M	136,37	159,97		158,66		158,61	
	±m	6,02	2,31		3,77		5,18	
	n	10	6		6		6	
	P	—	<0,01		<0,01		<0,01	

шадиною сыворотку, содержание цинка уменьшается. У животных обеих подопытных групп наименьшая концентрация указанного элемента наблюдается на 8-й день исследования.

Увеличение содержания цинка отмечено нами в печени животных. При этом более высокие абсолютные величины наблюдались при иммунизации животных корпускулярным антигеном.

В легочной ткани кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium*, содержание цинка возрастает. Наибольшая концентрация установлена на 1-й день исследования и составляет $218,07 \pm 11,33$ мг%. Хотя в последующие дни содержание цинка несколько снижается, оно значительно превышает исходные величины. Введение же нормальной лошадиной сыворотки приводит к уменьшению содержания цинка в легочной ткани.

Как это видно из табл. 7 и табл. 8, в селезенке обеих групп кроликов наблюдается однотипный характер изменений уровня цинка. Однако на протяжении всего исследования содержание цинка изменялось неодинаково. Если в первые дни после окончания иммунизации содержание цинка понижено, то на 8-е сутки оно нормализуется. В последующие сроки исследования снова наблюдается уменьшение уровня цинка в селезенке.

Противоположная направленность содержания цинка отмечена в ткани костного мозга. При иммунизации кроликов нормальной лошадиной сывороткой концентрация цинка увеличена на протяжении всего периода исследования, в то время, как в костном мозгу вакцинированных животных содержание цинка повышено только на 4-й день, а в дальнейшем понижено.

Уровень цинка в костной ткани иммунизированных животных повышается. При этом более высокая концентрация цинка выявлена в костной ткани тех кроликов, которых иммунизировали нормальной лошадиной сывороткой.

В мышечной ткани кроликов, иммунизированных гретой вакциной из *S. typhimurium*, концентрация цинка увеличивается до 8-го дня включительно, а позже (12-е, 20-е сутки) уменьшается. При иммунизации же кроликов нормальной лошадиной сывороткой концентрация цинка во все сроки исследования увеличена.

Влияние микроэлементов на образование агглютининов у вакцинированных кроликов

Установленные изменения содержания железа, меди, кобальта и цинка в органах РЭС, крови, костях и мышцах под влиянием иммунизации свидетельствуют о том, что между концентрацией их в тканях и процессами иммуногенеза имеется взаимосвязь.

Для решения вопроса об участии микроэлементов в иммуногенезе нами изучено влияние железа, меди, кобальта и цинка на содержание агглютининов в крови вакцинированных кроликов. Сернокислые соли микроэлементов вводились подкожно на протяжении 10 дней из расчета: железо 2 мг/кг; медь — 0,2 мг/кг; кобальт — 0,2 мг/кг; цинк — 0,2 мг/кг. Начало их введения во времени совпадает с началом вакцинации. Полученные результаты представлены в табл. 9.

Из табл. 9 следует, что введение указанных микроэлементов вызывает увеличение содержания агглютининов в сыворотке крови иммунизированных животных. Однако титр антител под влиянием различных микроэлементов изменялся по-разному. На 1-е сутки после окончания вакцинации наиболее высокое содержание агглютининов наблюдалось у кроликов, получавших дополнительно медь. На 4-е, 8-е, 12-е сутки наиболее выраженное действие на выработку агглютининов оказывали соли кобальта и железа. У животных, получавших эти микроэлементы, титр антител был в 3—5 раз выше, чем в контроле. В то же время титр агглютининов под влиянием меди и цинка повышался всего в 1,5—2 раза.

Таблица 9

**Динамика агглютининов в сыворотке крови
вакцинированных кроликов, получавших микроэлементы**

Группа животных	Титр агглютининов в следующие сроки после последнего введения вакцины (в сутках)				
	1	4	8	12	20
Вакцинированные	1:400	1:3200	1:5689	1:7314	1:6400
Вакцинированные, получавшие железо	1:1600	1:9309	1:22775	1:18618	1:10240
Вакцинированные, получавшие медь	1:2560	1:8533	1:10240	1:9309	1:10240
Вакцинированные, получавшие кобальт	1:2133	1:12800	1:22775	1:29271	1:13653
Вакцинированные, получавшие цинк	1:1280	1:5688	1:8533	1:12800	1:8533

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты исследования интерпретируются исходя из того, что согласно современным взглядам образование антител можно рассматривать как частный случай синтеза белка, который подчиняется тем же закономерностям, которые регулируют синтез белка вообще с его матрично-генетическим механизмом репродукции (П. Ф. Здоровский, 1961, 1964; Р. Швит, Р. Оуэн, 1961)

В синтезе белка принимают участие и микроэлементы, благодаря тому, что обмен их находится в тесной связи с синтезом нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов (М. Я. Школьник, 1964; З. И. Благовещенская, 1965; Б. И. Гольдштейн и соавторы, 1966). Известно также, что микроэлементы (Fe, Cu, Co, Zn, Mn) могут влиять на активность ферментов, имеющих непосредственное отношение к обмену белков (Z. Wysokínska, 1964; T. Niebroj, M. Kozubská-Niebroj, 1964).

Основываясь на известных сведениях о том, что антитела вырабатываются в лимфатических узлах, селезенке, костном мозгу, печени и других органах, относящихся к ретикуло-гистиоцитарной системе, полученные нами сведения позволяют думать, что именно железо и кобальт наиболее необходимы для синтеза антител. Поэтому организм извлекает эти микроэлементы из других органов, не принимающих участие в выработке антител (кости и мышцы) и обеспечивает их высокий уровень, особенно на 1-й, 4-й день в органах, в которых совершается синтез антител. Однако постепенно и здесь запасы железа и кобальта истощаются, и на 8-й и 12-й дни уровень данных микроэлементов в названных органах значительно понижен.

Цинк и медь, по-видимому, в меньшей степени используются организмом в иммуногенезе. Поэтому их содержание снижается только в некоторых органах, в которых совершается синтез антител. Мобилизации их из других органов, по-видимому, не происходит. Что касается крови, то, являясь внутренней средой организма, она обеспечивает транспорт микроэлементов. Поэтому содержание микроэлементов в крови

является отражением тех сдвигов, которые отмечены в органах и тканях иммунизированных животных.

Сопоставляя изменения, которые наступают в содержании железа, меди, кобальта и цинка в тканях и органах иммунизированных животных, видим, что иммунизация, начиная с первых дней и до конца опыта, вызывает снижение содержания железа и цинка в крови, тогда как содержание кобальта и меди достоверно увеличивается.

Понижение концентрации железа в крови, по-видимому, связано с тем, что железо покидает кровеносное русло и переходит в некоторые ткани (селезенка, печень — при иммунизации вакциной, мышцы — при иммунизации сывороткой), где концентрация его в первые дни увеличивается. А уменьшение содержания цинка в крови можно рассматривать как следствие гипоальбуминемии (А. О. Войнар, 1960).

Наблюдаемое нами увеличение содержания меди в крови связано в основном с увеличением сывороточной меди. Этот факт подтверждается установленным нами увеличением активности церулоплазмينا. Повышение уровня кобальта, по-видимому, связано с тем, что процесс иммуногенеза сопровождается изменением белкового обмена, заключающегося в синтезе специфического белка. Изменение белкового обмена, в свою очередь, может оказывать влияние на характер связи кобальт-протеинового комплекса. Следует предполагать, что под влиянием антигенного раздражения в некоторых органах (кости, мышцы) происходит освобождение кобальта из органического комплекса и поступление его в кровь. Возможно также, что увеличение кобальта в крови при иммунизации обусловлено увеличением глобулиновых фракций, в химической связи с которыми находится значительное количество кобальта (А. О. Войнар, 1960).

Определенного внимания заслуживает факт противоположной направленности между медью и цинком в тканях иммунизированного организма (кровь, селезенка, легкие, мышцы, кости). Известно, что медь и цинк являются физиологическими антагонистами по отношению к синтезу ферментов тканевого дыхания (Р. Ван-Рин, 1953), к синтезу и депонированию аскорбиновой кислоты (Т. Г. Лемзякова, Г. Г. Лемзяков, 1961). Противоположная направленность в содержании этих микроэлементов установлена при лучевой болезни, голодамии, лейкозе (Г. А. Бабенко, 1962; Л. Т. Бойкова, 1965; В. К. Боднарчук, 1968; И. В. Мазепа, 1968). Поэтому устанавливающиеся различные соотношения между медью и цинком в тканях иммунизированных животных могут иметь опре-

деленное значение для физиологических процессов и химических превращений при иммунологической перестройке организма.

В органах и тканях иммунизированных животных, как это показали исследования С. М. Прегера и соавторов (1966), усиливаются процессы дыхания. Поэтому происходящие сдвиги в содержании таких микроэлементов как железо, медь, кобальт и цинк могут существенно повлиять на окислительные процессы в тканях, так как кобальт стимулирует тканевое дыхание (Л. Я. Фищенко, 1965), медь входит в состав цитохромоксидазы и специфически катализирует включение железа в структуру гема и является незаменимым активатором цитохрома А (Ц. Галлагер, П. Джуда, К. Ринс, 1956), цинк является специфическим металлокомпонентом карбонгидразы (Т. Мани, Д. Кейлин, 1939), карбоксипептидазы (Б. Валли, Г. Нейрат, 1954), алкогольдегидразы (Б. Валли, Ф. Хох, 1955). Железо входит в состав ряда окислительных ферментов, содержащих в своей структуре гем (М. Диксон, Э. Узбб, 1961).

Таким образом, на основании полученных данных об изменениях, происходящих в содержании изучаемых микроэлементов в крови и органах животных при иммунизации, а также, учитывая данные литературы о биологической роли микроэлементов, можно заключить, что наблюдаемые сдвиги в содержании микроэлементов играют определенную роль в формировании специфических факторов иммунитета. Можно полагать, что дальнейшее углубленное изучение этого вопроса будет иметь важное значение для овладения целенаправленным управлением процессами иммуногенеза.

ВЫВОДЫ

1. При изучении динамики уровня микроэлементов в тканях подопытных животных, иммунизированных гретой вакциной из культуры *S. typhimurium* или нормальной лошадиной сывороткой, мы установили существенные изменения в содержании железа, меди, кобальта и цинка.

2. В наших экспериментах под влиянием иммунизации крольчков гретой вакциной из культуры *S. typhimurium* отмечено:

а) содержание железа в крови, легких, костях и костном мозгу снижалось, а в селезенке и мышцах — увеличивалось. В печени содержание железа было повышенным до восьмого дня, а на 12-й и 20-й дни концентрация этого микроэлемента была пониженной;

б) содержание меди увеличивалось в крови, печени, легких, селезенке и мышцах, а в костях и костном мозгу подопытных животных — уменьшалось;

в) содержание кобальта на протяжении всего периода исследования увеличивалось в крови и уменьшалось в костях и костном мозгу. В печени, легких, селезенке содержание кобальта на первый, четвертый, восьмой день увеличивалось, а на 12-й и 20-й — снижалось;

г) содержание цинка повышалось в печени, легких, костях и уменьшалось в крови и селезенке подопытных кроликов. До четвертого дня в костном мозгу (а в мышечной ткани до 12-го дня) концентрация цинка была увеличенной. В последующие дни содержание цинка в названных органах снижалось.

3. Введение кроликам нормальной лошадиной сыворотки вызывало в изучаемых тканях изменения в содержании микроэлементов, напоминавшие те, которые наблюдались при иммунизации гретой вакциной из культуры *S. typhimurium*. В отличие от изменений, наступавших при введении вакцины, у кроликов, иммунизированных нормальной лошадиной сывороткой, на протяжении всего периода исследования содержание меди в печени и мышцах и цинка в легких уменьшалось. Концентрация железа снижалась в печени и повышалась в мышцах.

4. При иммунизации кроликов гретой вакциной из культуры *S. typhimurium* в сыворотке крови возрастала активность медьсодержащего белка — церулоплазмينا, а насыщенность трансферрина железом (по сравнению с контролем) не изменялась.

5. В сыворотке крови подопытных кроликов, иммунизированных нормальной лошадиной сывороткой, наблюдалось увеличение активности церулоплазмينا и понижение насыщенности трансферрина железом.

6. Титр агглютининов в сыворотке крови вакцинированных кроликов, получавших сернокислые соли железа, меди, кобальта и цинка, возрастал. На содержание агглютининов оказывали наиболее выраженное стимулирующее действие соли кобальта и железа. Титр агглютининов у вакцинированных кроликов, получавших кобальт или железо, в три—пять раз выше, чем в контроле. У подопытных кроликов, получавших медь или цинк, титр агглютининов был в полтора—два раза выше.

7. Полученные нами данные о стимулирующем влиянии кобальта на изучаемые иммунологические реакции и данные литературы о его физиологической роли дают основание полагать, что препараты кобальта могут быть использованы в клинической практике для повышения иммунологической реактивности организма.

СПИСОК

научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Установка для непрерывной жидкостной экстракции. Авторское свидетельство № 195197.

2. К вопросу об активности медьоксидазы у кроликов в период их иммунизации. Тезисы докладов. Конференция молодых ученых. Ивано-Франковск, 1966, с. 64 (на укр. языке).

3. Пневматический экстрактор. Сб. «Изобретательство и рационализация в медицине» (на укр. языке). Изд. «Здоровье», Киев, 1967, 28—30 (в соавт. с Ю. М. Лабием).

4. Влияние иммунизации на содержание железа в крови. Мат. юбил. научной сессии. Изд. «Здоровье», Киев, 1968, 69—70.

5. Импульсационный автоматический экстрактор. Заводская лаборатория, т. XXXIV, № 4, 1968, 494—496 (в соавт. с Ю. М. Лабием).

6. Динамика содержания кобальта в крови и органах иммунизированных животных. Материалы Первой Всесоюзной научной конференции «Микроэлементы в медицине». Ивано-Франковск, 1969, 144—147.

7. Влияние иммунизации на содержание цинка в крови животных. Тезисы III Сибирской конференции «Микроэлементы в биосфере и их применение в сельском хозяйстве и медицине Сибири и Дальнего Востока». Улан-Удэ, 1969, 181—182.
