

ОДЕССКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ им. Н.И. ПИРОГОВА
/ректор - профессор С.И. КОРХОВ/
Кафедра биологии /зав.кафедрой-профессор П.Л. ИВАНЧЕНКО/

ОДЕССКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КУРОРТОЛОГИИ
/директор - профессор Г.А. ГОРЧАКОВА /
Лаборатория биохимии /зав.лабораторией-профессор Г.А. ГОРЧАКОВА/

БАЖОРА
ЮРИЙ ИВАНОВИЧ

ИЗУЧЕНИЕ АНТИТЕЛООБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ
В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Д и с с е р т а ц и я
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор биологических наук,
профессор П.Л. ИВАНЧЕНКО

старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук
Е.С. ПАВЛОВА

О д е с с а
1974

О Г Л А В Л Е Н И Е

	стр.
В в е д е н и е	1
Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	4
1. Современные представления о роли лимфоидных клеток в формировании иммунных реакций	4
2. Роль микроэлементов в обмене нуклеиновых кислот и белка.	15
3. Влияние микроэлементов на иммунологическую реактивность организма	19
Глава II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	31
Глава III. ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА АНТИТЕЛООБРАЗУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ	45
1. Плазмоцитарная реакция	45
2. Антителообразующие клетки	54
3. Гемолизины крови	63
Глава IV. ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ МЕДИ, МАРГАНЦА И КОБАЛЬТА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ	72
Глава V. ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН ЛИЗОСОМ КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ.	80
Глава VI. ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ПРОЦЕСС ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO	86
1. Влияние микроэлементов на трансформацию лимфоцитов здоровых лиц	86
2. Влияние микроэлементов на трансформацию "сенсibilизированных" лимфоцитов	92
Глава VII. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	101
В ы в о д ы	124
УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ	126
ПРИЛОЖЕНИЯ	152

В В Е Д Е Н И Е

Последние годы ознаменовались фундаментальными исследованиями в области теоретической и практической иммунологии, которые открывают определенные перспективы для целенаправленного воздействия на иммунологические функции организма как с целью стимуляции, так и подавления. К числу наиболее значительных исследований относятся установление роли тимуса в иммуногенезе, особенности формирования гиперчувствительности замедленного типа, трансплантационного иммунитета, явления аутоиммунизации и другие. В основе указанных иммунологических феноменов лежат процессы взаимодействия и кооперации различных клеток лимфоидной системы, причем центральной фигурой этих процессов является лимфоцит /П.Ф.Здродовский, 1963, 1969; J. Miller, 1963; Ф.Бернет, 1964; Л.Н.Фонталин, 1967; H. Claman et al., 1968; J. Miller, G. Mitchell, 1968; Р.В.Петров, 1970; T. Makinodan et al., 1970; J. Miller et al., 1971; Г.Носсел, 1973/.

В связи с этим действие факторов, направленных на стимуляцию либо подавление иммуногенеза, должно рассматриваться с позиций влияния на клеточные реакции на различных уровнях формирования иммунного ответа при антигенном раздражении /Р.В.Петров, А.Н.Чередеев, 1974/.

К стимуляторам иммуногенеза относятся различные биологически активные вещества /нуклеиновые кислоты, гормоны, витамины/. Подобным действием обладают и микроэлементы: медь, марганец, железо, кобальт, йод и другие, что связано с их высокой биологической активностью, участием в важных метаболических процессах. Микроэлементы входят в состав металлоферментов, гормонов, вита-

минов и других высокоактивных биополимеров /А.И.Войнар, 1960; А.И.Венчиков, 1962; Г.А.Бабенко, 1965/. Благодаря этим свойствам, микроэлементы используются в лечебной практике как терапевтические средства при ряде заболеваний: анемии, эндемическом зобе, некоторых болезнях детского возраста, атеросклерозе /Г.А.Бабенко, Л.Н.Решеткина, 1971/.

Установлено /А.И.Венчиков, 1962; С.М.Прегер с соавт., 1966, 1967; Т.И.Иванова с соавт., 1968; М.Г.Колодийцева с соавт., 1968, 1969, 1970; А.И.Николаев, 1969; Ю.Д.Свистун, 1969/, что микроэлементы обладают выраженным стимулирующим действием на систему неспецифического иммунитета, антителообразования и др.

В плане дальнейшего углубления исследований, направленных на раскрытие механизмов установленного эффекта, представляет интерес изучение влияния микроэлементов на различные этапы развития реакции со стороны лимфоидных клеток, участвующих в антителообразовании и других иммунологических реакциях; зависимость эффекта от экспозиции введения микроэлементов к фазе иммунного ответа и ряд других вопросов.

Проведение подобных исследований будет способствовать не только расширению существующих представлений о механизмах действия микроэлементов на иммуногенез, но и разработке рекомендаций по более эффективному и целенаправленному применению их в клинике.

В связи с этим в настоящей работе были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние меди, марганца и кобальта, как наиболее часто применяемых в медицинской практике микроэлементов, на антителообразующую функцию лимфоидной ткани, с учетом сдви-

гов со стороны плазмоцитарной реакции, содержания антителообразующих клеток в лимфоидных образованиях, а также уровня антител в крови при иммунизации животных эритроцитами барана.

2. Изучить влияние указанных микроэлементов на фагоцитарную активность макрофагов.

3. Исследовать функциональное состояние лизосомальных мембран клеток селезенки в условиях воздействия микроэлементами.

4. Исследовать влияние микроэлементов меди, марганца и кобальта на процесс трансформации нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов в культуре ткани.

5. В плане проведенных исследований дать сравнительную оценку влияния микроэлементов на отдельные звенья формирования иммунного ответа.

Г л а в а 1

ОБЗОР ЛИТУРАТУРЫ

1. Современные представления о роли лимфоидных клеток в формировании иммунных реакций организма.

Исследования, проведенные в последние годы, значительно расширили представления о роли лимфоидных клеток и тканей в иммунологических реакциях организма. Общепризнано, что иммунологическая активность лимфоидной ткани направлена на поддержание постоянства внутренней среды организма /Ф.Бернет, 1964; А.Н.Фриденштейн, 1964; П.Ф.Здродовский, 1971/, на защиту от веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности /Р.В.Петров, 1968/.

Участие тех или иных популяций клеток, а также их кооперация в развитии иммунного ответа были установлены благодаря применению специальных, высокочувствительных и специфических методов исследований: получение радиационных химер, выделение различных групп лимфоцитов, использование специфических антисывороток к ним, применение культур тканей *in vitro* и другие /Р.В.Петров, 1970/.

Наиболее полно изучено участие и взаимодействие лимфоидных клеток при таких важных иммунологических феноменах, как антителообразование, реакция гиперчувствительности замедленного типа, формирование трансплантационного иммунитета /Ф.Бернет, 1971/ и др.

В работах А.Ваггаеус /1948/, А.М.Игонина /1959, 1962/, П.Ф.Здродовского с сотр./1963/, Л.Н.Фонталины /1967/ было показано,

что морфологическим субстратом антителогенеза является лимфоидная ткань. Установлено, что при антигенной стимуляции появлению антител в сыворотке крови предшествуют цитологические сдвиги в лимфатических узлах и селезенке, наиболее характерной чертой которых является накопление большого числа молодых и зрелых плазматических клеток. Тщательное изучение этих клеток выявило наличие большого количества РНК в цитоплазме /Ж.Браше, 1950/ и хорошо выраженную эргастоплазму / W.Bernhard, N.Granboulon, 1960/. Это свидетельствует о том, что данные клетки являются активными продуцентами белка /Б.Д.Кедровский, 1951; A.Bussard, J.Binet, 1965/. Использование иммунофлюоресцентного метода Кунса подтвердило участие плазматических клеток в синтезе специфических иммуноглобулинов / A.Coops et al., 1955; К.А.Лебедев, 1965а, 1965б/.

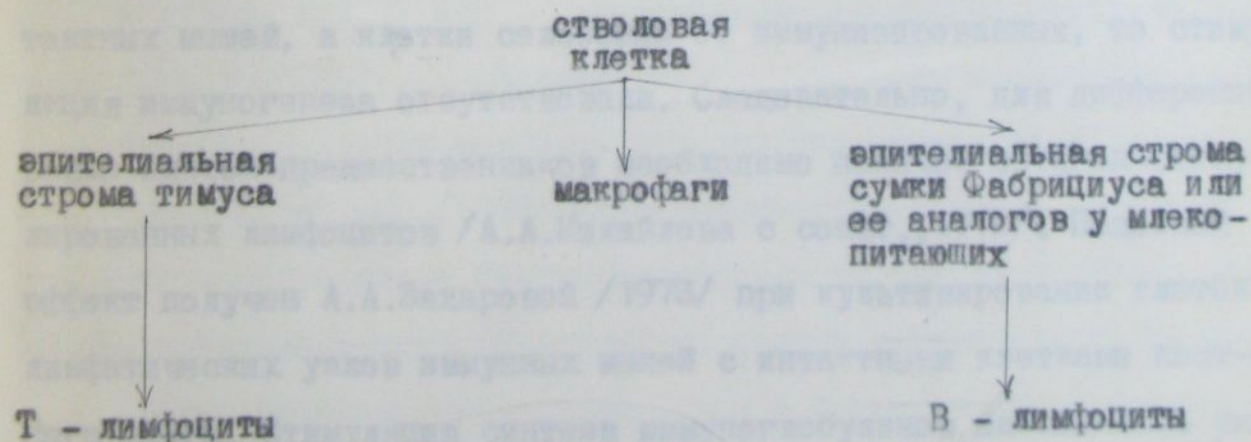
Детальное изучение характера клеточной реакции при антигенном стимулировании стало возможным благодаря внедрению в практику иммунологических исследований метода N.Jerne, A.Nordin /1963/, позволяющего выявить в клеточной популяции антителообразующие клетки. Широкое использование данного метода, а также его модификаций / A.Cunningham, 1965; Н.Н.Клемпарская, 1970; G.Nossal, A.Bussard, 1970/ послужило толчком для проведения многочисленных исследований по изучению роли различных клеток/плазматических, лимфоцитов, моноцитов и других/ в процессе антителообразования.

Дальнейшее изучение роли клеток в иммунном ответе показало, что плазмоцитарной реакции предшествуют сложные и многоступенчатые взаимодействия различных клеток. Так, в соответствии с последними данными, антителообразование является результатом сложного процесса, в котором принимают участие клетки ретикуло-

эндотелиальной системы, клетки, прошедшие через тимус, костно-мозговые клетки и макрофаги /А.Я.Фриденштейн, И.Л.Чертков, 1968а, 1972; Р.В.Петров, 1970; J.Roitt et al., 1969; T.Makinodan et al., 1971; J.Miller et al. 1971; М.Тайен, 1972/.

Родоначальником иммунокомпетентных клеток являются стволовые клетки, наличие которых было доказано благодаря использованию радиохимер и культивированию клеток *in vivo* / J.Till, E.Mc Culloch, 1961; Р.В.Петров, Ю.М.Зарецкая, 1965, 1970/. Стволовые клетки образуются в эмбриональной печени, откуда они переселяются в костный мозг /М.Тайен, 1972/. В последующем костный мозг является резервуаром стволовых клеток / G.Hanks, 1964/, откуда данные клетки "экспортируются" в другие органы и ткани. Морфология стволовых клеток до сих пор остается неустановленной. Существует предположение, что ими могут быть малые костномозговые лимфоциты / G.Cudkowicz et al., 1964а, 1964б; И.Л.Чертков, А.Я.Фриденштейн, 1966/.

Стволовая клетка дает начало всем типам иммунокомпетентных и вспомогательных клеток. В соответствии с данными Доклада группы экспертов ВОЗ/1971/ это можно представить в виде следующей схемы:



Первый тип клеток - клетки, мигрирующие из костного мозга в тимус, где они становятся функционально более зрелыми и переселяются в периферические лимфоидные ткани / O.Stattman, R.Good, 1969; M.Tuan, 1969/. Это так называемые тимусзависимые лимфоциты /Т-лимфоциты/. Они расположены в паракортикальной зоне лимфатических узлов, периартериальных муфтах селезенки и пейеровых бляшках, составляя большую часть /85%/ лимфоцитов грудного протока / J.Miller et al.1971/. Удаление тимуса приводит к снижению числа клеток в лимфоидных узлах и селезенке /Дж.Миллер, П.Дукор;¹⁹⁶⁷ J.Miller, 1969/. Как показали H.Claman et al. /1966/, J.Miller, G.Mitchell /1967, 1968/, данные клетки не образуют антител при переносе сингенным облученным мышам, хотя их участие в процессе антителогенеза обязательно. Так, установлено, что если в культуру *in vivo* добавить сингенные тимоциты и костномозговые лимфоциты, то наблюдается резкое увеличение числа антителообразующих клеток, которые образуются из клеток костного мозга / J.Miller, G.Mitchell, 1967, 1968; G.Mitchell, J.Miller, 1968/.

При культивировании клеток лимфоузлов иммунизированных мышей и клеток селезенки интактных мышей наблюдается трехкратная стимуляция антителогенеза. Если клетки лимфоузлов брали от интактных мышей, а клетки селезенки от иммунизированных, то стимуляция иммуногенеза отсутствовала. Следовательно, для дифференцировки клеток-предшественников необходимо наличие антиген-стимулированных лимфоцитов /А.А.Михайлова с соавт., 1970/. Подобный эффект получен А.А.Захаровой /1973/ при культивировании клеток лимфатических узлов иммунных мышей с интактными клетками костного мозга. Стимуляция синтеза иммуноглобулинов наблюдалась уже в первые часы совместной инкубации.

Таким образом, изложенные выше данные указывают на обязательное участие Т-лимфоцитов в синтезе антител. Большинство исследователей отводят им роль антиген-реактивных клеток /Р.В.Петров, 1970; Б.Д.Брондз, 1972/. Вместе с тем, для реализации иммунного ответа необходимо наличие лимфоцитов костномозгового происхождения, которые являются прекурсорами антителообразующих клеток. Это так называемые тимуснезависимые клетки /В-лимфоциты/. Данные клетки происходят из костного мозга и расселяются непосредственно во вторичные лимфоидные органы. При удалении сумки Фабрициуса у вылупившихся и в последующем облученных цыплят отсутствуют фолликулы и плазматические клетки /Доклад, гр. ВОЗ, 1971/. Существует мнение, что для своего созревания в предшественники антителообразующих клеток В-лимфоциты проходят через сумку Фабрициуса у птиц или ее аналоги у млекопитающих /слизистая кишечника/, либо подвергаются действию гуморального фактора, выделяемого эпителием фабрициевой сумки /J.Miller, 1963/.

Подтверждением того факта, что В-лимфоциты являются предшественниками антителообразующих клеток, могут служить опыты J.Miller /1969/. Предварительно облученным тимактомированным мышам /CBA x C57BL/F₁ вводили костномозговые клетки от мышей CBA, а спустя две недели - циркулирующие клетки из грудного протока /CBA x C57BL/F₁. Последующая иммунизация и изучение антителообразующих клеток выявили, что все они принадлежат мышам CBA. G.Nossal et al. /1968/ цитогенетическим методом доказали, что антителообразующие клетки происходят из клеток костного мозга при культивировании последних совместно с тимоцитами *in vivo*.

Таким образом, установлено, что в процессе формирования иммунного ответа при введении антигена /чаще это показано при ис-

пользовании эритроцитов барана и сывороточных белков/ необходимо взаимодействие Т- и В-лимфоцитов. По мнению Р.В.Петрова /1970/, антиген-активированный Т-лимфоцит воздействует на недифференцированную клетку-предшественник посредством "индуктора иммуногенеза", который информирует клетку о направлении дифференцировки. Предположительная функция может осуществляться продуцируемыми Т-лимфоцитами различными биологически активными веществами, так называемыми лимфокинами / D.Dumonde et al., 1969/. О возможности существования таких факторов свидетельствует следующее. После контакта сенсибилизированных лимфоцитов с антигенами через некоторое время выделяется растворимый фактор, ингибирующий миграцию макрофагов и получивший название МИФ-фактор. Показано, что данный фактор обладает высокой биологической активностью: он индуцирует бласттрансформацию лимфоцитов крови *in vitro* / D.Dumonde et al., 1969/, разрушает клетки-мишени в культуре / N.Rudde et al., 1968; T.Willams et al., 1968/, угнетает миграцию макрофагов / D.Thor et al., 1968/, повышает проницаемость сосудов / D.Willonghly, 1969/.

Не исключена возможность, что во всех случаях конечные результаты обусловлены синтезом МИФ'а и выделением его во внешнюю среду активированными лимфоцитами. Действие этого вещества или группы веществ неспецифично. Механизм воздействия МИФ'а может быть связан с активацией лизосомальных ферментов клеток-мишеней /В.Д.Брондз, 1971б/, что обосновывается опытами, проведенными *in vitro* на фибробластах крыс; добавление МИФ'а повышает активность лизосомальных ферментов. Стабилизатор лизосомальных мембран хлорохин и ингибитор ферментов трипан-блау снимает цитотоксическое действие иммунных лимфоцитов.

Следует отметить, что в процессе взаимодействия антиген-

реактивных клеток с клетками-предшественниками образуется еще одна категория клеток - клетки памяти. По своим свойствам они представляют собой долго живущие рециркулирующие лимфоциты, реагирующие на антиген пролиферацией и дифференцировкой / E.Jakobson et al., 1970/. Иммунологической памятью обладают Т- и В-лимфоциты / S.Avrameas, E.Ledue, 1970; J.L'Age-Stenhr et al., 1970; T.Takahashi et al., 1970; S.Strober, J.Dilley, 1973/.

По существующим в настоящее время представлениям, важная роль в процессе антителигенеза, помимо лимфоцитов, принадлежит макрофагам /Б.В.Пинегин, Б.С.Утешев, 1971; И.С.Фрейдлин, 1971/. Еще И.И.Мечниковым /1950/ было доказано, что чужеродные частицы в организме захватываются макрофагами. Им было высказано следующее предположение: макрофаги, поглотив антиген, вырабатывают антитела. Однако дальнейшие исследования установили, что роль макрофагов ограничивается поглощением антигена, его переработкой и передачей антигенной информации на клетки-предшественники антителообразующих клеток / M.Fishman, F.Adler, 1963; G.Nessel et al., 1963; E.Unanue, B.Askonas, 1968; E.Unanue, 1968/.

Большое значение в переработке антигена и его сохранении в макрофагах отводится лизосомам /И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1969; И.Я.Учитель, 1970а/. При сопоставлении иммуногенности различных фракций макрофагов было обнаружено, что наибольшей иммуногенностью обладает лизосомная фракция / R.Franzl, 1962; H.Friedman, 1964/. При обработке лизосомальными ферментами таких антигенов, как эритроциты барана и брюшнотифозный антиген, значительно повышается их иммуногенность / E.Unanue, B.Askonas, 1968; И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1969/.

Имеются работы, указывающие на образование в макрофагах

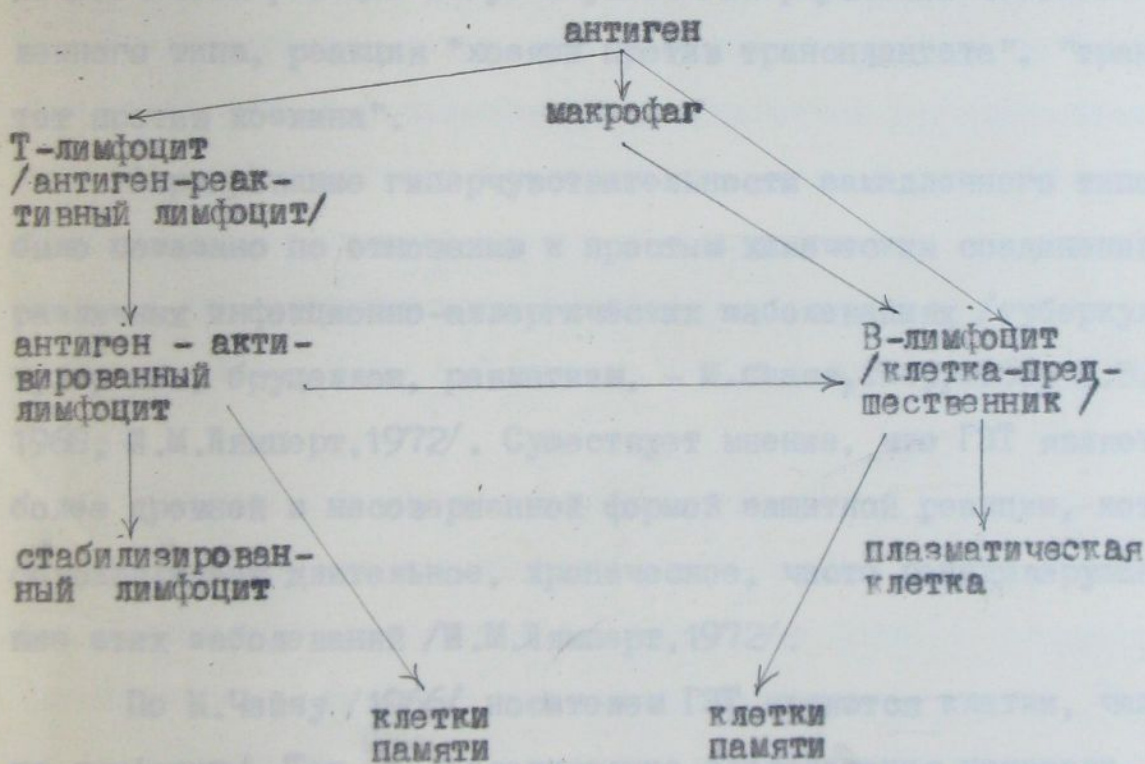
комплексных соединений антиген-РНК. Существует предположение, что комплексом антиген-РНК передается антигенная информация предшественникам антителообразующих клеток / В. Askonas et al., 1966/. Подтверждением этому могут служить сообщения о наличии цитоплазматических мостиков между макрофагами и лимфоцитами, макрофагами и плазматическими клетками / М. Aronson, 1963/. Высказано предположение, что по этим отросткам может передаваться антигенная информация / J. Clarke et al., 1970/. Однако последнее предположение отрицается исследованиями Б.Б.Фукса и Л.Ф.Ванько /1970/.

Макрофаги могут индуцировать иммунный ответ в культуре ткани / R.C.Thierry, 1971; M.Feldman, 1972/. Добавление антисыворотки против макрофагов к системе клеток, ответственных за антителообразование, подавляло формирование иммунного ответа / Н. Cosenza, L. Leserman, 1972/. Авторы высказывают предположение, что макрофаги являются активными участниками клеточного взаимодействия, ведущего к антителообразованию как при первичном, так и при вторичном ответе *in vitro*.

Таким образом, изложенные выше данные позволяют предположить, что в процессе формирования иммунного ответа наблюдается взаимодействие между антиген-реактивными клетками /Т-лимфоциты/, клетками-предшественниками /В-лимфоциты/, макрофагами. В результате такого взаимодействия клетка-предшественник получает антигенную информацию от макрофагов и "индуктор иммуногенеза" от антигенактивированной клетки, что приводит к превращению клетки-предшественника в плазматическую клетку. В процессе дифференцировки иммуноцита в плазматическую клетку происходит несколько клеточных делений, причем на ранних этапах ее /плазмобласт/ пре-

обладают процессами синтеза РНК, а на более поздних /зрелая плазматическая клетка/ синтез белка /А.Я.Фриденштейн, И.Л.Чертков, 1968/.

Исходя из данных о взаимодействии клеток в процессе формирования иммунного ответа была сформулирована гипотеза трехклеточной кооперации / J. Roitt et al., 1969; Р.В.Петров, 1970; T. Makinodan et al., 1970; J. Miller et al., 1971/. Схематично такое взаимодействие можно представить следующим образом:



Согласно этой схеме, антиген, поглощаясь макрофагами, обрабатывается и передается на клетки-предшественники и, кроме того, взаимодействуя с антиген-реактивными лимфоцитами, активирует их. В свою очередь, антиген-активированные лимфоциты вырабатывают фактор, влияющий на клетки-предшественники. Конечным эффектом взаимодействия клеток является выработка антител. В данном

случае рассматривается один из возможных вариантов кооперативного взаимодействия клеток. Предложенная гипотеза предполагает и другие пути кооперации клеток, в результате чего происходит синтез неспецифических γ -глобулинов, наступает толерантность /Р.В. Петров, 1970; Р.В.Петров, А.Н.Чередеев, 1974/.

Образованием антител не ограничивается разнообразие ответных реакций организма на антигенное раздражение, в которых принимают участие лимфоидные клетки. В качестве примера такой иммунологической реакции могут служить гиперчувствительность замедленного типа, реакция "хозяин против трансплантата", "трансплантат против хозяина".

Формирование гиперчувствительности замедленного типа /ГЗТ/ было показано по отношению к простым химическим соединениям, при различных инфекционно-аллергических заболеваниях /туберкулез, туляремия, бруцеллез, ревматизм, - М.Chase, 1945, 1966; Р.В.Петров, 1968; И.М.Лямперт, 1972/. Существует мнение, что ГЗТ является наиболее древней и несовершенной формой защитной реакции, которая обуславливает длительное, хроническое, часто рецидивирующее течение этих заболеваний /И.М.Лямперт, 1972/.

По М.Чейзу /1966/ носителем ГЗТ являются клетки, чаще всего лимфоциты. Так, гистологические исследования показали, что клеточную основу инфильтрата в месте инъекции туберкулина, при наличии ГЗТ, составляют лимфоциты и моноциты /Р.В.Петров, 1968/. Перенос ГЗТ невозможен с помощью сыворотки, но осуществляется лимфоцитами / Н.Lawrence, 1949; М.Чейз, 1966; Н.Lawrence, T.Valentine, 1970/. Перенос ГЗТ возможен также с помощью выделенного из этих клеток фактора переноса / Р.Варам, W.Condonlis,

1970/. Предварительная обработка животных антисывороткой против лимфоцитарного фактора снижала степень выраженности реакции / D.Willonghly, 1969/.

Реакцию ГЗТ можно подавить введением антилимфоцитарной сыворотки /А.Я.Фриденштейн, И.Л.Чертков, 1969/ или удалением тимуса в неонатальном периоде /Н.В.Медуницин, 1971/.

В настоящее время считается общепризнанным существование при ГЗТ и трансплантационных реакциях сенсibilизированных лимфоцитов, несущих на своей поверхности антителоподобные структуры. Предполагается также, что поверхностная мембрана лимфоцитов может быть комплементарной к антигенным детерминантам. Большинство исследователей придерживаются первой точки зрения, в пользу которой говорят данные об идентификации клеточных рецепторов с иммуноглобулинами / C.Walters, H.Wigrell, 1970; E.Villetta et al., 1971; Б.Д.Брондз, 1972; J.Goldschneider, R.Cogan, 1973/.

Наличие сенсibilизированных лимфоцитов, полученных от лиц с аллергическими заболеваниями, подтверждается способностью данных клеток трансформироваться в бластные формы в присутствии специфических антигенов при культивировании *in vitro* /И.А.Брауде, И.А.Гольдман, 1967/. Последнее показано по отношению к бактериальным и тканевым антигенам / G.Rearman et al., 1963; H.Cooper, A.Rubin, 1966; Л.С.Когосова, Е.Ф.Чернушенко, 1970; А.М.Форисова, С.М.Рачков, 1972 и др./.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что лимфоцит является главной клеткой в основных иммунологических реакциях организма. Он выполняет разнообразные функции /клетка-эффектор, клетка-предшественник, клетка, включающая в иммуноповоз другие

клетки/ в процессе формирования иммунного ответа.

На основе последних данных о кооперативном взаимодействии различных клеточных типов в иммунном ответе выдвигаются принципиально новые подходы к решению как проблемы иммунодепрессии, так и стимуляции иммуногенеза /Р.В.Петров, А.Н.Чередеев, 1974/. Принципы этих подходов заключаются в изыскании новых средств, влияющих на процессы кооперации клеток, в случае с иммунодепрессией - разобщение, в случае с иммуностимуляцией - содействие кооперативному эффекту.

2. Роль микроэлементов в обмене нуклеиновых кислот и белка.

Как видно из вышеизложенных данных, в ответ на введение антигена в организме происходят существенные сдвиги в лимфоидных тканях. В плане воздействия на различные этапы пролиферативных процессов, имеющих место при развитии иммунной реакции, рассматривается влияние различных веществ, ингибирующих либо стимулирующих иммуногенез.

По данным литературы, наиболее эффективно применение стимуляторов и иммунодепрессоров при введении их до антигенного раздражения или непосредственно после него /П.Ф.Здродовский, 1963; И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1964, 1965, 1968; Л.А.Певницкий с соавт., 1969; Б.С.Утешев с соавт., 1970; Р.В.Петров с соавт., 1971/. Это можно объяснить тем, что после введения антигена /период от нескольких часов до 1-2 суток/ происходит интенсивное клеточное взаимодействие, которое сменяется рядом превращений клеток и их дифференцировкой. Это так называемая индуктивная фаза иммуногенеза / F.Dixon et al., 1952/. В указанный период в лимфоидной ткани наблюдается усиление синтеза ДНК, РНК и новых

видов белка /Б.С.Утешев с соавт., 1970/.

Известно, что имеющиеся в настоящее время стимуляторы иммуногенеза /В.Н.Земсков, 1969/, как и иммунодепрессоры /Р.В.Петров, 1968/, влияют на различные этапы синтеза нуклеиновых кислот и белка.

В связи с этим в плане проведения настоящей работы, посвященной изучению механизма стимулирующего действия микроэлементов на процессы иммуногенеза, представляет интерес проанализировать данные литературы о влиянии микроэлементов на обмен нуклеиновых кислот и белка.

Анализ выполненных в этом направлении работ свидетельствует о том, что микроэлементы повышают активность ферментов, непосредственно участвующих в синтезе ДНК и РНК, или угнетают активность ферментов, усиливающих распад нуклеиновых кислот. Так, Zittle /1946/ установлено, что медь и цинк угнетают активность РНК-азы /фермента, усиливающего распад РНК/. Позднее работами E. Breslow, A. W. Girrotti /1966/ было показано, что активность этого фермента снижается под влиянием целого ряда металлов /Fe, Zn, Mo, Mn, Pb/. Предполагается, что механизм ингибирующего действия на РНК-азу меди и железа связан с их способностью изменять конформацию молекулы фермента.

Металлы магний и марганец необходимы для активации ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы / В. Zimmerman, 1966/.

Как указывает T. Nakamoto et al. /1964/, для синтеза комплементарной РНК с ДНК-матрицы, помимо всех необходимых компонентов, требуется наличие ионов Mn^{+2} , Mg^{+2} , Co^{+2} . Ионы магния и марганца ускоряют биосинтез ДНК, причем действие Mn^{+2} равно совместному действию Ca^{+2} и Mg^{+2} / R. Matsavinos, E. S. Cannelakis, 1959

По данным Дж.Кросби /1962/, в биосинтезе пиримидиннуклеотидов участвует фермент, активируемый марганцем, а образование глицинрибонуклеотида катализируется ферментом, чувствительным к меди.

Возможен также иной путь участия микроэлементов в обмене нуклеиновых кислот. В последние годы установлено, что многие металлы способны образовывать комплексные соединения с нуклеиновыми кислотами / W.Wacker, B.Vallee, 1959; А.И.Белокобыльский с соавт., 1968/. В составе высокоочищенных РНК, выделенных из различных органов млекопитающих, обнаружены Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni и др. Найдены металлы и в составе ДНК / W.Wacker, B.Vallee, 1959; А.И.Белокобыльский с соавт., 1968; Е.Т.Захаренко, Ю.Ш.Машковский, 1966/.

Согласно предположениям В.И.Иванова /1965/, биосинтез ДНК связан с окислительно-восстановительными превращениями ионов железа и меди при их хелатировании с ДНК, причем окисление ионов металлов вызывает ослабление связей между комплементарными парами оснований ДНК, а восстановление - стабилизацию двухтяжевой конформации ДНК.

Установлена взаимосвязь между количеством поступающей с пищей меди и синтезом ДНК и РНК в организме /Г.И.Гиреев, 1968; J.Skorkowska-Zieleniewska, 1968/. Кобальт способствует повышению содержания ДНК и РНК в клетках культуры тканей / T.Niebroj, 1966; В.В.Ковальский, А.Ф.Пенькова, 1968/.

В связи с отмеченной ролью микроэлементов в обмене нуклеиновых кислот определенный интерес представляет вопрос об их влиянии на биосинтез белка. Как известно, синтез белка является сложным процессом, начальные этапы которого протекают при участии

нуклеиновых кислот. Поэтому всякое изменение в обмене нуклеиновых кислот отражается на синтезе белка.

В литературе представлено значительное количество работ, указывающих на взаимосвязь между поступлением в организм тех или иных микроэлементов и синтезом белка. Так, введение меди, кобальта, марганца и других микроэлементов в физиологических концентрациях приводит к увеличению усвояемости азота в организме, повышению содержания белков в сыворотке крови, органах и тканях /М.Я.Школьник, 1959; Ф.М.Гаджиев, 1966/, повышению концентрации незаменимых аминокислот в крови, печени, селезенке, сердечной мышце /Е.Ф.Дымко, М.Я.Шахматов, 1970/.

С другой стороны, найдена зависимость между содержанием меди в организме и интенсивностью синтеза белков в печени /А. Halbrich, E. Wissenberg, 1967/. Параллельно снижению концентрации меди в организме снижается содержание АТФ. Авторы считают, что синтез белков нарушается из-за недостатка АТФ в печени на фоне дефицита меди. Как известно, основная масса энергии, выделяемая в процессе тканевого дыхания, замыкается в макроэргические связи /АТФ/. При недостатке меди в организме страдает один из конечных дыхательных ферментов - цитохромоксидаза, что приводит к снижению энергетического уровня клетки. Медь является специфическим активатором фермента /Э.Фриден, 1969/. Естественно, что нарушение процессов тканевого дыхания влияет на обмен веществ. При этом в первую очередь страдают процессы биосинтеза, требующие большой затраты энергии /С.Е.Манойлов, 1966/.

Марганец так же, как и медь, широко участвует в реакциях окислительного фосфорилирования, куммулируясь, в основном, в мито-

хондриях клетки / R. Miller et al., 1968; L.S. Hurley et al., 1970; M. Grander, E.J. Harris, 1971/.

Биологическая активность микроэлементов дополняется взаимодействием их с витаминами. Так, найдена зависимость между содержанием меди и витаминами B_1 , B_{12} и аскорбиновой кислотой /В.А. Вальдман с соавт., 1965; Ж.З. Гуде, 1965, 1970; С.Е. Hunt et al., 1970/. Марганец входит в состав рибофлавина. Кобальт является незаменимой составной частью витамина B_{12} /Л. Смит, 1962/. Кроме того, он способствует усилению синтеза фолиевой кислоты /В.В. Ковальский, 1962; Ковальский В.В., Дмитроченко А.П., 1962/. Все вышеперечисленные витамины принимают участие в синтезе нуклеиновых кислот. Их тесное взаимодействие с микроэлементами, очевидно, способствует стимуляции биосинтеза нуклеиновых кислот и белка.

Таким образом, данные литературы указывают на участие микроэлементов в обмене нуклеиновых кислот и белка.

Так как главным моментом иммунологического ответа является синтез информационной РНК и белка, а также целый ряд последовательных делений активированных клеток с последующей трансформацией в высокодифференцированные клетки, то не исключено, что именно с влиянием на эти процессы связан эффект стимулирующего действия микроэлементов на иммуногенез.

3. Влияние микроэлементов на иммунологическую реактивность организма.

Данные литературы, освещающие влияние микроэлементов на иммунологическую реактивность организма, немногочисленны. При этом основная часть работ посвящена изучению их воздействия на факторы неспецифического иммунитета.

Показано, что соли меди, цинка, йода, ртути, других элементов оказывают стимулирующее влияние на фагоцитоз /Н.В.Гончарова, 1950; Е.В.Черкасова, 1955, 1956, 1957; А.А.Непесов, 1955; Г.М.Каприелов, 1957; А.И.Венчиков, 1959; Л.Я.Ванаг, Э.Р.Ланге, 1968/. Эти работы позволили А.И.Венчикову /1960, 1962/ сформулировать положение о физиологических дозировках, вводимых в организм микроэлементов. Была показана четкая зависимость биологического эффекта от дозы вводимого микроэлемента. При этом автор выделяет три этапа в действии микроэлементов на организм:

- зона бездействия, когда физиологический эффект отсутствует /наблюдается при введении очень низких концентраций микроэлементов/;

- зона биотического действия, когда отмечается выраженный физиологический эффект /наблюдается при введении небольших доз микроэлементов/;

- зона токсико-фармакологическая, когда отмечается угнетающее действие вводимого элемента на функции организма /наблюдается при введении больших доз микроэлементов/.

Результаты исследований А.И.Венчикова и его сотрудников /1962/ были подтверждены работами других авторов, применявших медь, кобальт, марганец, молибден, вольфрам и другие микроэлементы парентерально или добавляя их в рацион /А.Н.Кособрухов, 1963; Т.Ф.Кошик, 1964; Е.М.Малеванная, 1965; Ж.М.Сак, 1966; Ж.М.Сак, В.Н.Сытько, 1969; П.А.Удрис, Р.Лиедианс, 1966; М.С.Балаева, 1972/.

Как известно, важным фактором неспецифической реактивности являются бактерицидные свойства крови. Все работы в этом направлении можно разделить на две группы. Первая посвящена изучению суммарной бактерицидности сыворотки крови, вторая - изучению от-

дельных бактерицидных систем /лизозим, комплемент, пропердин/.

Бактерицидность сыворотки крови изучалась в опытах на крысах, получавших биотическое, сниженное и повышенное количество микроэлементов в рационе /М.Г.Коломийцева и Р.Д.Габович, 1970/. По интенсивности роста кишечной палочки на среде Эндо было отмечено, что при добавлении сыворотки животных, получавших нормальное количество микроэлементов, наблюдалось угнетение колониеобразования не только с цельной сывороткой, но и при разведении ее 1:2. В то же время сыворотка животных, не получавших с рационом микроэлементов или получавших их в избытке, не подавляла рост кишечной палочки.

Под влиянием биотических доз кобальта, меди и железа в организме иммунизированных животных повышается титр комплемента /Д.М.Алхутова, 1963, 1969/.

Стимулирующее влияние на активность комплемента вводимого в малых дозах йодистого калия отмечено Т.И.Ивановой, Г.А.Мирским /1961/. Подобные результаты получены и К.В.Ишимовым /1967/, который применял соли йода, кобальта и селена.

Селен в дозе 0,05 мг/кг вызывает повышение уровня комплемента и лизоцима в сыворотке крови кроликов /Т.Ф.Беренштейн с соавт., 1968, 1971, 1972/. Цезий и литий на фоне иммунизации кроликов и морских свинок способствовали повышению титра комплемента, содержанию лизоцима в сыворотке крови. Параллельно увеличивалось количество лейкоцитов крови, процент их аттракции, активность фагоцитарной реакции /С.Д.Алиев, А.В.Рейш, 1971; С.Д.Алиев, 1972а, 1972б/.

И.К.Мусабаев с соавт. /1972а, 1972б/ применяли медь, марганец, кобальт, цинк, железо для повышения неспецифической резистент-

ности организма больных инфекционным гепатитом на фоне общепринятой терапии. Исследования показали, что при введении указанных микроэлементов больным комплементарная активность крови и общая гемолитическая активность значительно повышались и достигали нормального уровня в периоде реконвалесценции, чего не наблюдалось у больных, получавших общепринятое лечение.

При дефиците в рационе ряда микроэлементов / Ni, Cu, Zn, Fe / наблюдается снижение активности лизоцима сыворотки крови и слюны /Ю.Н.Пахомов, 1969, 1970; М.П.Кирпичев, Ю.Н.Пахомов, 1971, 1972/. Параллельно падала фагоцитарная активность лейкоцитов. Снижение общей бактерицидности крови лизоцима выявлено также при дисбалансе в рационе животных меди и марганца /М.В.Антонова, 1968; М.Г.Коломийцева, Ф.М.Вознесенская, 1968а/.

При парентеральном введении кобальта в течение двух недель четыре раза по 6 мг/кг резко увеличивался уровень пропердина уже через 48 часов после первого введения /Х.Ф.Басс-Шадхан с соавт., 1966/. В.Г.Михайловская, И.Г.Мухамедова /1965/ вводили комплексный препарат кобальта - коамид больным с тифо-паратифозными заболеваниями. При этом отмечалось выраженное увеличение титра пропердина. Значительное повышение титра пропердина происходило также при введении больным с подобными заболеваниями медьсодержащего препарата - медь-трилона /И.К.Мусабаев, 1966/.

При недостаточном содержании микроэлементов в рационе наблюдается снижение титра пропердина. Так, при медном голодании в течение месяца у белых крыс титр пропердина был значительно ниже, чем у контрольных животных /М.Е.Зельцер, 1972/.

Механизм действия микроэлементов на систему факторов неспецифического иммунитета остается пока мало изученным. Имеются лишь единичные исследования, посвященные данному вопросу. Напри-

мер, М.Е.Зельцер /1972/, определяя гистохимическими методами содержание гликогена, пероксидазы и цитохромоксидазы в нейтрофилах крови, а также фагоцитарную активность данных клеток у животных на дефицитном по йоду рационе, отмечает снижение содержания данных показателей в клетках. Указывая на роль гликогена, а также на активность окислительных ферментов в энергетических ресурсах клетки, автор предполагает, что нарушения в их обмене приводят к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов. Проведенные исследования представляют большой интерес, так как показывают значение йода, как микроэлемента, в биохимических процессах, происходящих непосредственно в клетках-фагоцитах.

Таким образом, введение небольших доз микроэлементов парентерально или перорально способствует повышению активности ряда факторов неспецифической защиты, играющих большую роль в восприимчивости организма к инфекциям. Повышается бактерицидность сыворотки крови, стимулируется активность пропердиновой системы, лизоцима и комплемента, значительно усиливается фагоцитарная активность нейтрофилов. Содержание же животных на рационе, дефицитном по составу микроэлементов, приводит к угнетению всех выше указанных показателей неспецифического иммунитета.

В меньшей степени изучено влияние микроэлементов на специфическую иммунологическую реактивность /антителообразование/.

Способность микроэлементов воздействовать на антителообразование впервые отмечена G.E.Walburn /1924, 1925/, G.Walburn, S.Schmidt /1925/, которые показали, что при иммунизации кроликов эритроцитами барана и одновременном введении солей марганца значительно повышается титр агглютининов по сравнению с контролем. Было также отмечено, что введение солей Mn, Ni, Co, Zn ло-

надям способствует усилению образования дифтерийного анатоксина.

Подобные результаты с применением солей марганца были получены Т.Madsen /1924/, A.Lumiere, R.Grange /1930/.

Многочисленные исследования позволили E.Walburn, S.Schmidt /1925/ построить ряд, в котором металлы расположены по эффективности воздействия на выработку антител в определенной концентрации: Mn, Pb, Hg, Ag, Cd, Cr, Cu, Zn, Co, Ni, Fe. Наряду с этим, исследованиями В.Н.Годун /1961/ было показано, что при одновременном введении с вакциной различных доз меди, цинка, кобальта, марганца наиболее высокий титр антител наблюдался у животных, которые получали хлористый кобальт в дозе 1000-1500 гамма на 1 кг веса в сутки.

По данным Ю.Д.Свистун /1969а, 1969б/ титр агглютининов в сыворотке крови вакцинированных животных, получавших железо и кобальт, увеличивался в 3-5 раз по сравнению с контролем; при введении меди и цинка титр агглютининов был в 1,5-2 раза выше, чем в контроле.

Изучая влияние солей кобальта, меди, цинка и марганца на выработку антител у вакцинированных животных, Г.А.Бабенко с соавт., /1965/ пришли к выводу о том, что введение меди сказалось преимущественно на повышении содержания агглютининов и комплементсвязывающих антител в крови, кобальта - только на уровень комплементсвязывающих антител. Применение солей цинка и марганца давало меньший эффект.

Таким образом, представленные результаты исследований указывают на повышение содержания антител в крови иммунизированных животных, которым вводили микроэлементы.

В литературе имеются данные, свидетельствующие, что различ-

ные способы введения микроэлементов и их дозы в неодинаковой степени влияют на процесс антителообразования. Так, внутривенное введение сернокислой меди оказывало стимулирующее влияние на образование антител-преципитинов, в то время как пероральное введение меди, а также железа и кобальта повышало уровень преципитинов в значительно меньшей степени /А.В.Игнатович, Н.Д.Короткова, 1958/. Титр агглютининов у иммунизированных крыс, которым дополнительно вводился хлористый кобальт, был значительно выше, чем у иммунизированных крыс, содержащихся на нормальном или сниженном по кобальту рационе /Л.И.Лозбин, 1962, 1963, 1967/.

Зависимость между уровнем антител в крови иммунизированных животных и способом, местом введения, а также дозой применяемого микроэлемента изучали С.М.Прегер с соавт./1966, 1967, 1969/. Авторами было показано, что при выборе дозы имеет значение способ, а также кратность введения микроэлемента. Так, оптимальный стимулирующий эффект марганца на антителообразование был получен при парентеральном его введении в дозе 5-50 мкг/кг; при пероральном - в дозе 50-1000 мкг. На величину дозы оказывает влияние также кратность введения элемента. При разовых инъекциях раствора меди стимулирующий эффект был от дозы 50-100 мкг/кг, а при многократном - от дозы 0,15-1,5 мкг/кг.

Усиление образования антител наблюдалось при введении йодистого калия животным в дозах 1,5-5,0 мг/кг /О.П.Кушнирова, 1968/. Способность препаратов йода повышать титр специфических агглютининов крови при иммунизации кроликов отмечена Т.И.Ивановой с соавт./1968/. Подобное действие оказывает молибден при дополнительном введении с пищей /Д.Г.Девятка с соавт., 1971/. На фо-

не парентерального введения молибдена и молибдена с аскорбиновой кислотой значительно увеличивался титр антител у животных, иммунизированных брюшнотифозной вакциной /Г.А.Кардович, 1972/. Кадмий при парентеральном введении также способствовал повышению специфических антител в крови у иммунизированных животных /R.M.Jones et al., 1971/.

Перспективным представляется использование для специфической стимуляции иммуногенеза комплексных препаратов микроэлементов. Отмечено, что применение таких препаратов /Со-30, коамид и других/ оказывает более выраженное действие на образование антител, чем соли тех же металлов /Х.Р.Мухаммаджанов, 1966/.

А.И.Николаев с сотр. /1964, 1969/ изучали влияние микроэлементов на неспецифическую и специфическую иммунологическую реактивность в условиях лучевого воздействия. В частности, было установлено, что введение комплексного препарата кобальта, витамина В₁₂, иммунизированным и облученным животным способствовало увеличению титра агглютининов в 2 раза по сравнению с контрольными иммунизированными и облученными животными. При введении препарата кобальта Со-30 титр указанных антител был в 3 раза выше, чем в контроле.

Следует также отметить, что микроэлементы, применяемые в комплексном лечении инфекционных заболеваний, снижают побочное действие антибиотиков и других препаратов, усиливают их антибактериальное действие. Так, применение тубазида в комплексе с кобальтом при лечении экспериментального туберкулеза давало больший эффект, чем использование одного тубазида. Применение микроэлементов в сочетании с противотуберкулезными препаратами стимулирует развитие специфического иммунитета /В.С.Содилов, 1966/.

Иммунодепрессивное действие стрептомицина снижается при введении кобальта и витамина В₁₂ /Н.И.Ильина, 1972/, комплексного препарата кобальта Со-30 /И.К.Мусабаев с соавт. 1972/.

Таким образом, судя по результатам приведенных работ, вводимые извне микроэлементы способствуют усилению одной из основных функций иммунитета - процесса антителообразования. Вместе с тем, необходимо отметить, что в большинстве из этих работ изучалось влияние микроэлементов на уровень гуморальных антител, без учета сдвигов, которые происходят в лимфоидной ткани. В этом отношении можно указать лишь единичные работы, появившиеся в последние годы, в которых исследовалось влияние отдельных микроэлементов на плазмоцитарную реакцию лимфатических узлов и селезенки.

Так, исследования Т.И.Ивановой и Т.Ф.Кошик /1964/, Т.И.Ивановой с соавт./1968/ показали, что при введении небольших доз йода повышается активность ретикуло-эндотелиальной системы, усиливается плазмоцитарная реакция и репродукция РНК в данных клетках по сравнению с таковыми в контрольной группе животных.

Введение собакам, инфицированным золотистым стрептококком, хлористого кобальта приводило к более выраженной плазмоцитарной реакции по сравнению с контролем /Л.Я.Фищенко, Е.Г.Ткаченко, 1969/. Количество плазматических клеток на третий день после заражения увеличивалось в сравнении с контролем в костном мозгу на 1%, в легком - на 70%, в печени - на 60%, в селезенке - на 30%. Увеличение числа клеток происходило, в основном, за счет плазмобластов и незрелых плазмоцитов.

Исследованиями А.М.Савченко /1971а, 1971б/ показано, что введение микроэлементов в комплексе с вакциной способствовало

увеличению числа плазматических клеток в регионарных лимфоузлах в 2-3 раза сравнительно с данными контрольных, только иммунизированных животных. При этом уровень специфических антител значительно возрастал и сохранялся более длительное время, чем у контрольных животных. Параллельно наблюдалось увеличение γ -глобулиновой фракции сыворотки крови.

Таким образом, введение животным небольших доз йода, кобальта и никеля в сочетании с витамином B₁ стимулировало анти-телообразующую функцию лимфоидной системы, что проявлялось в усилении плазмодитарной реакции в исследуемых органах; наряду с этим, отмечалось повышение титра специфических антител.

Сведений о влиянии других микроэлементов на морфологические сдвиги в лимфоидной системе мы в литературе не нашли.

В появившихся в последние годы сообщениях /И.К. Мусабаев с соавт., 1972/ указывается на усиление пролиферативных процессов в лимфоидной ткани при введении комплексного препарата кобальта Со-30 /увеличение числа антителообразующих клеток в селезенке и нарастание титра гемагглютининов в сыворотке крови/. Как указывает М.Е. Зельцер /1972/, при дефиците йода в диете иммунизированных животных наблюдается снижение числа антителообразующих клеток в селезенке и падение уровня антител в крови. Одновременно снижалось содержание суммарного белка и РНК в лимфоидных органах подопытных животных по сравнению с контрольными. При дефиците йода в рационе животных значительно уменьшается содержание гликогена и РНК в лимфоцитах, которые, как известно, играют значительную роль в иммуногенезе /И.С. Ников, 1972/.

Таким образом, при введении в организм иммунизированных животных йода, кобальта или его комплексного препарата Со-30 на-

обладаются существенные сдвиги в лимфоидной ткани. В частности, усиливается плазмоцитарная реакция, увеличивается число антителообразующих клеток и нарастает титр специфических антител. Гистохимические исследования позволили установить увеличение количества НК в плазматических клетках, что также свидетельствует об усилении протеосинтеза. Противоположные результаты получены при дефиците йода в рационе животных. При этом снижается антителообразующая функция лимфоидной ткани.

Ценность таких работ состоит в том, что в отличие от ранее выполненных исследований, в которых стимулирующий эффект микроэлементов был показан в отношении гуморальных антител, в этих экспериментах впервые была сделана попытка связать действие микроэлементов с непосредственным влиянием на процессы пролиферации в лимфоидной ткани.

Показанный в многочисленных исследованиях стимулирующий эффект вводимых микроэлементов на отдельные факторы иммунитета свидетельствует о перспективном использовании их как стимуляторов иммуногенеза. Однако, для решения этой практической задачи необходимы более углубленные экспериментальные исследования.

В литературе в настоящее время отсутствуют систематические сравнительные исследования влияния наиболее изученных микроэлементов меди, марганца, кобальта и некоторых других на формирование иммунологических реакций. В опытах применялись различные дозы микроэлементов, вводимых разнообразными путями в организм; использовались различные антигены /корпускулярные и растворимые/, реакция организма на которые существенно отличается; изучались различные виды антител и так далее.

Следует также отметить, что большинство работ посвящено изу-

чению влияние микроэлементов на конечный этап иммуногенеза - уровень антител в крови. В то же время, по современным воззрениям важным представляется исследовать клеточные сдвиги, происходящие в лимфоидной ткани, что позволяет раскрыть некоторые механизмы влияния используемых веществ на формирование иммунного ответа, а также определить эффективные сроки их введения.

Задачей настоящей работы было изучить влияние дополнительного введения микроэлементов меди, марганца и кобальта, как наиболее часто применяемых в медицине, на антителообразующую функцию лимфоидной ткани животных в условиях иммунизации их эритроцитами барана. При этом предполагается проследить за клеточными реакциями и уровнем антител в крови.

Поскольку важное место в формировании ответной реакции на введенный антиген отводится и вспомогательным клеткам, например, макрофагам, участвующим в кооперативном взаимодействии, то одной из задач послужило изучение влияния микроэлементов на поглотительную активность макрофагов. Данные исследования будут дополнены изучением проницаемости лизосомальных мембран клеток селезенки, что особенно важно с точки зрения последних данных об участии гидролитических лизосомальных ферментов в процессах иммуногенеза/И.Я.Учитель, 1970г/.

Главная роль в клеточных реакциях иммунитета отводится лимфоциту. В связи с этим предполагается изучить влияние микроэлементов на функциональное состояние лимфоцитов периферической крови, используя метод культивирования клеток *in vitro*.

Проведенные исследования дадут представления о влиянии микроэлементов меди, марганца и кобальта на функциональную активность различных лимфоидных клеток; представится возможность провести сравнительную оценку используемых стимуляторов, что в конечном итоге создаст теоретические предпосылки направленного влияния на иммуногенез с помощью данных стимуляторов.

Глава II

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для решения поставленных задач нами были использованы современные иммунологические методы, позволяющие оценить как состояние лимфоидной системы в целом, так и отдельных типов клеток в условиях воздействия микроэлементами.

В качестве показателей, характеризующих влияние микроэлементов на антителообразующую функцию, нами использовались: плазмоцитарная реакция в регионарных лимфоузлах и селезенке, накопление антителообразующих клеток /АОК/ в указанных лимфоидных образованиях, печени и почках, уровень гемоглобинов в сыворотке крови. При этом мы руководствовались следующими. В многочисленных исследованиях / A. Fagraeus, 1948; Г.А. Гурвич, Г.В.Шумакова, 1957; А.М.Игонин, 1959, 1961; П.Ф.Здродовский, 1963, 1969; М.П.Покровская с соавт., 1965/ указывалось, что под влиянием антигенного раздражения в органах, богатых лимфоидными клетками, имеет место пролиферация клеток /молодые и зрелые плазматические клетки/, с которыми связывают появление антител.

Учет количества молодых и зрелых плазматических клеток дает, в определенной мере, количественную оценку развивающейся при этом иммунологической реакции.

Определение плазмоцитарной реакции проводили по методу П.Ф.Здродовского /1963/ в мазках-отпечатках, приготовленных из регионарных /мезентериальных/ лимфоузлов и селезенки иммунизированных крыс. Препараты фиксировали метанолом и окрашивали азур-эозином. Дифференциацию клеточных элементов проводили с учетом числа молодых и зрелых плазматических клеток /фото 1, 2/ в 50 полях зрения одинаковой плотности.

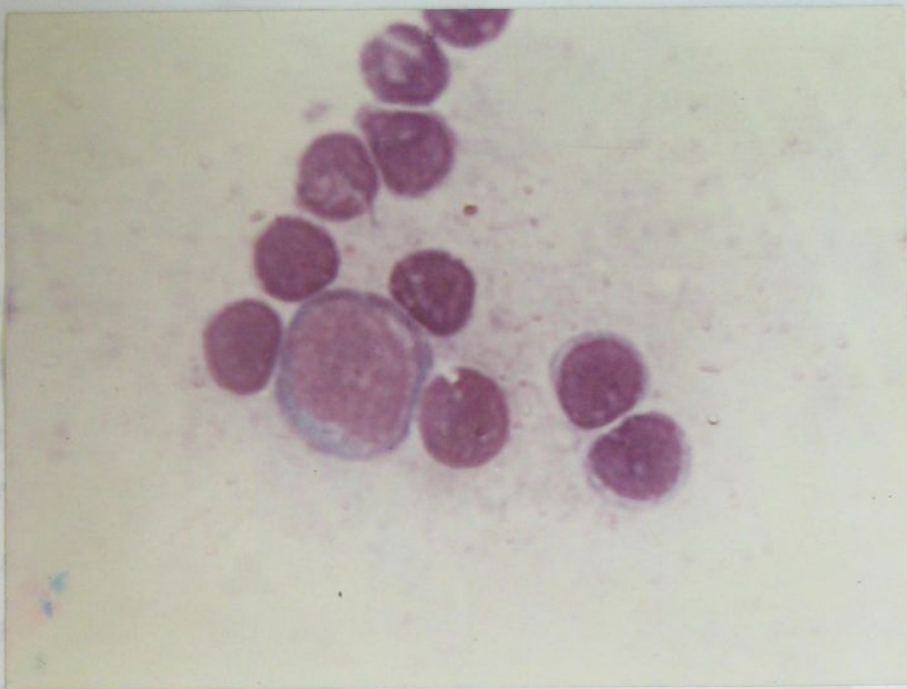


Фото 1. Мазок-отпечаток регионарного лимфатического узла. Незрелая плазматическая клетка. Окраска по Романовскому-Гимза. $\times 1200$.

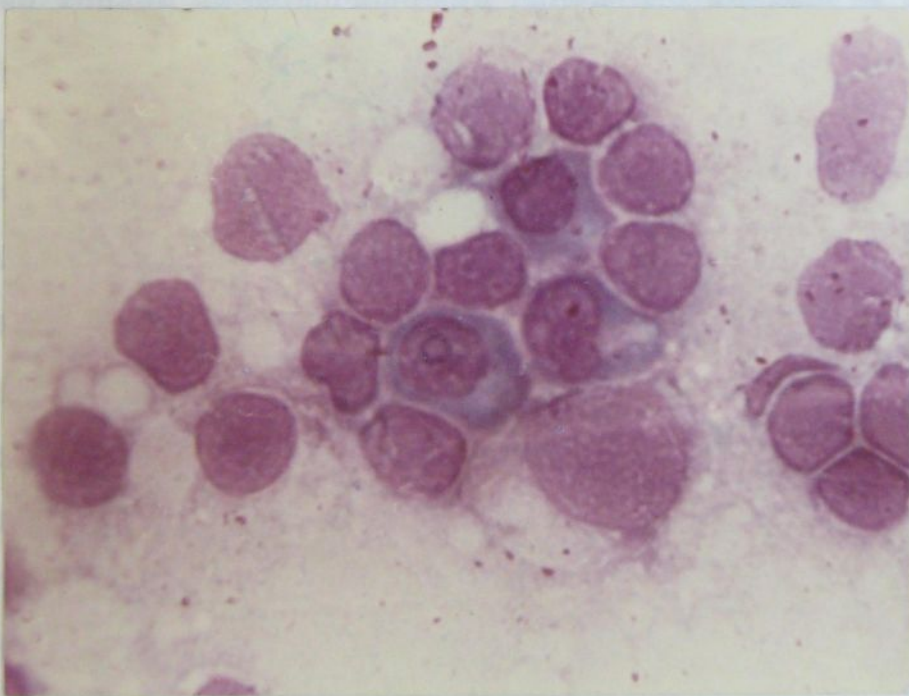


Фото 2. Мазок-отпечаток регионарного лимфатического узла. Зрелые плазматические клетки. Окраска по Романовскому-Гимза. $\times 1200$.

В связи с имеющимися в литературе данными /А.А.Воробьев, Н.Н.Васильев, 1969; П.А.Вершилова с соавт., 1970; Ф.Бернет, 1971/ о том, что не все плазматические клетки являются антителообразующими, нами был использован количественный метод определения непосредственно антителообразующих клеток /АОК/. Прямым методом обнаружения АОК является метод N.Jerne, A.Nordin /1963/, а также целый ряд его модификаций / A.Cunningham, 1965, 1966; Н.Н.Клемпарская, 1970; G.Nossel, A.Bussard, 1970/.

Как показано в многочисленных исследованиях, с помощью этого метода удается получить количественную оценку процесса антителообразования на клеточном уровне.

В своей работе для выявления АОК мы использовали модификацию метода по Н.Н.Клемпарской /1969, 1970/. На четвертый день после иммунизации эритроцитами барана животных забивали и после перфузии теплым физиологическим раствором извлекали исследуемые органы, измельчали их на льду в среде 199. Взвесь клеток фильтровали через четырехслойный капрон. В пробирке смешивали равные части /по 3 капли/ взвеси клеток в среде 199, комплемента /Московский НИИ эпид.микробиол. им.И.И.Мечникова/ в разведении 1:10 и отмытых в комплементе эритроцитов барана. Указанную смесь в количестве 0,02 мл вносили в две камеры. В одну из них добавляли 0,01 мл 5% уксусной кислоты для разрушения эритроцитов, что облегчает подсчет ядерных клеток. В другую - такое же количество среды 199.

Камеры /фото 3/ готовили следующим образом. На предметное стекло приклеивалась фольга толщиной 10 мк., в которой предварительно были сделаны два отверстия /D = 10 мм/. Клей представляет собой смесь равных частей клея ВФ-6, спирта и эфира. Такой

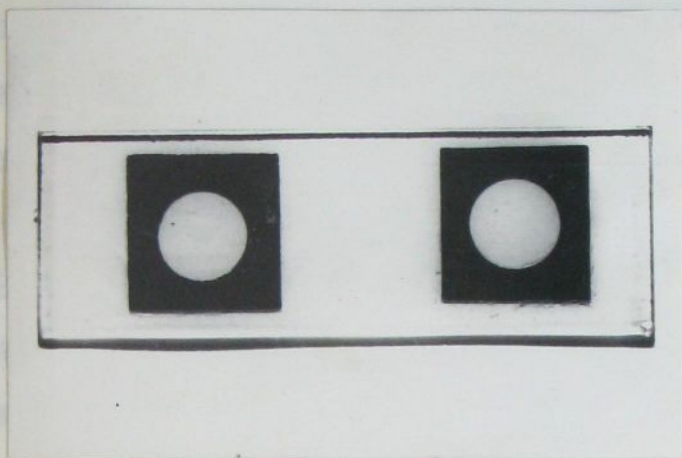


Фото 3. Камера для подсчета антителообразующих клеток по методу Н.Н.Клемпарской

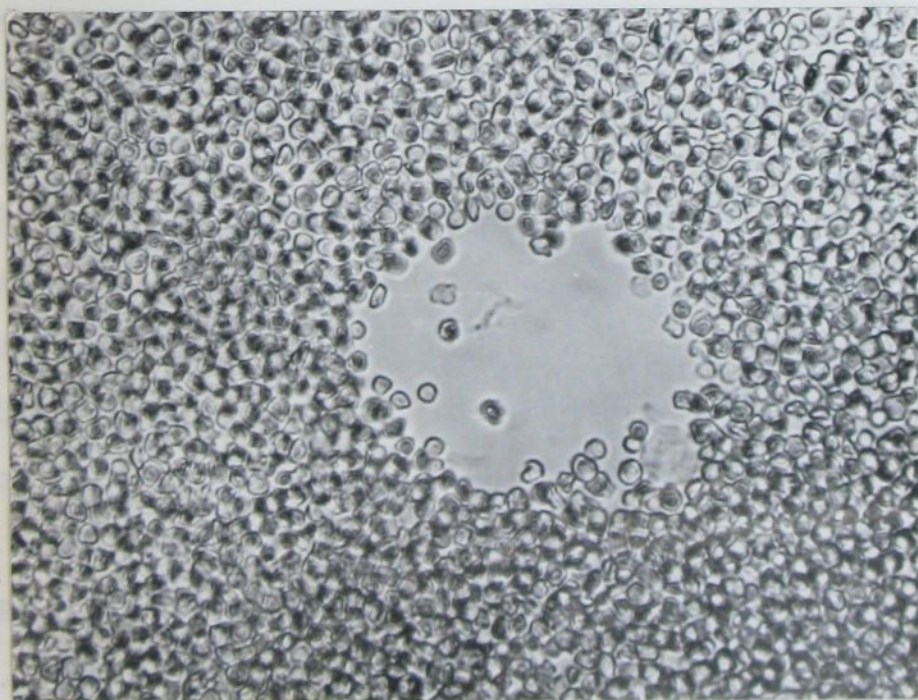


Фото 4. Бляшка гемолиза. Нативный препарат. $\times 800$

состав обеспечивает равномерное распределение клея по стеклу, а также быстрое высыхание и довольно прочное приклеивание фольги.

После помещения смеси клеток, комплемента и эритроцитов барана в камеры, последние накрывали покровными стеклами, края которых заливали расплавленным парафином. Камеры оставляли на 1-2 часа при комнатной температуре, а затем помещали в рефрижератор на 20-24 часа при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.

Учет бляшек гемолиза /фото 4/ и ядерных клеток в препаратах производили путем подсчета их в 25 полях зрения в каждой камере. Процентное содержание бляшек определяли по следующей формуле:

$$X = \frac{\text{БГ} \cdot 100}{\text{ЯК}}, \text{ где}$$

X - количество бляшек гемолиза в %

БГ - количество бляшек гемолиза в 25 полях зрения

ЯК - количество ядерных клеток в 25 полях зрения.

Кроме изучения клеточных реакций в лимфоидных образованиях, в специальных опытах определяли гемолизины сыворотки крови по общепринятой методике на 5 и 10 сутки после инъекции антигена.

С этой целью сыворотки крови контрольных и опытных животных прогревали при температуре 56°C в течение 30 мин. и использовали в реакции. Готовили двойные разведения исследуемой сыворотки на физиологическом растворе хлористого натрия в объеме 0,2 мл. Далее в каждую пробирку добавляли по 0,2 комплемента разведенного 1:10, по 0,4 мл физиологического раствора и 0,2 мл 3% взвеси эритроцитов барана. Смесь инкубировали в течение часа. Результаты оценивали по четырехбалльной системе:

- эритроциты в осадке, жидкость над осадком не окрашивается;

+ эритроциты в осадке, жидкость над осадком слегка окрашивается;

- ++ незначительный осадок, жидкость интенсивно окрашена;
- +++ при встряхивании небольшая муть, интенсивное окрашивание жидкости;
- ++++ отсутствие осадка, жидкость интенсивно окрашена, прозрачна полный гемолиз.

Реакцию считали положительной при оценке +++ и ++++.

Контроли:

1. Контроль спонтанного лизиса - 0,8 мл 0,8% раствора хлористого натрия + 0,2 мл 3% взвеси эритроцитов барана.
2. Контроль комплемента - 0,6 мл 0,8% раствора хлористого натрия + 0,2 мл комплемента + 0,2 мл взвеси эритроцитов барана.
3. Контроль полноты инактивации сыворотки - 0,2 мл исследуемой сыворотки + 0,6 мл раствора хлористого натрия + 0,2 взвеси эритроцитов барана.

Антителообразующая функция лимфоидной ткани исследовалась у 300 белых крыс обоего пола. Животные содержались в условиях вивария на полноценном пищевом рационе.

Иммунизацию животных производили внутрибрюшинным введением 0,5 мл 50% взвеси эритроцитов барана, отмытых в физиологическом растворе. Использование этого антигена является общепринятым в исследованиях по количественному учету АОК.

В указанных сериях опытов мы использовали микроэлементы в дозе 0,5 мг/кг веса /в расчете на чистый металл/, которая по литературным данным является биотической и при дополнительном введении повышает показатели неспецифических и специфических факторов иммунитета /Г.А.Бабенко с соавт., 1965; Ж.М.Сак и В.Н.Сытько, 1966; С.М.Прегер, 1969; Ю.Д.Свистун, 1969; С.Д.Алиев, 1972; Г.А. Кардович, 1972.

Микроэлементы использовались в виде солевых растворов сернокислой меди, сернокислого марганца и хлористого кобальта.

Для изучения влияния микроэлементов на антителообразующую функцию лимфоидной ткани в отдельные фазы иммуногенеза были проведены следующие варианты опытов:

I вариант - микроэлементы вводили в течение четырех дней до иммунизации;

II вариант - микроэлементы вводили за два дня до иммунизации, в день иммунизации и один день после иммунизации;

III вариант - микроэлементы вводили в день иммунизации и в течение трех дней после иммунизации.

В каждом варианте опытов животные были разделены на три группы, каждой из которых вводили соответственно медь, марганец и кобальт. Отдельную группу составляли крысы, которым микроэлементы дополнительно не вводили /контроль/.

Для изучения влияния микроэлементов на один из важнейших этапов иммуногенеза - поглощение антигена - нами была использована методика определения фагоцитарной активности макрофагов.

Изучение макрофагального фагоцитоза под влиянием различных веществ может проводиться как *in vivo*, так и *in vitro*. Последнее дает важные сведения для оценки действия различных веществ на сами клетки, исключая гуморальные и клеточные воздействия окружающей среды /О.В. Чахава, 1972/. Следует отметить, что макрофаги, являясь подвижными клетками, гораздо более привычны к изменениям окружающей среды, чем клетки других типов /неподвижные/; следовательно, изучение функций макрофагов *in vitro* довольно надежный метод /В. Уимлер, 1963/.

В своих опытах мы использовали макрофаги из экссудата перитонеальной полости. Для получения экссудата животным внутрибрюшинно-

но вводили мясо-пептонный бульон, что приводило к накоплению в брюшной полости экссудата, состоящего на 3-4 сутки преимущественно из мононуклеаров /Z. Sohn, 1964/. Брюшную полость промывали на четвертые сутки физиологическим раствором с добавлением гепарина /5 ед. на 1 мл раствора/.

Реакцию фагоцитоза ставили по следующей методике /Ю.И. Донец, 1957/. В пробирку к двум объемам экссудата /0,1 мл/ прибавляли один объем /0,05 мл/ взвеси суточной культуры стафилококка /штамм 209/ в физиологическом растворе /плотность по стандарту 1 млрд/ и один объем /0,05 мл/ раствора соли соответствующего микроэлемента. В контрольные пробирки вместо растворов микроэлементов добавляли физиологический раствор хлористого натрия /0,05 мл/.

Опытные и контрольные пробирки помещали в термостат на 30 мин. при 37°C. После инкубации пробирки тщательно встряхивали и готовили мазки, фиксировали их метанолом и окрашивали азуроэозином. Фагоцитарную способность макрофагов учитывали, определяя фагоцитарную активность и фагоцитарное число. Фагоцитарную активность выражали в процентах активных макрофагов к общему числу подсчитанных макрофагов. Фагоцитарное число определялось средним количеством фагоцитарных микробов на один макрофаг.

Опыты по изучению влияния микроэлементов на фагоцитарную активность макрофагов были проведены на 17 морских свинках и 70 мышах-гибридах /CBA X C57BL / F₁.

В опытах по изучению влияния микроэлементов *in vitro* на фагоцитарную активность макрофагов использовали растворы сернистой меди, сернистого марганца и хлористого кобальта в конечной концентрации 0,01 мг%, 0,1 мг%, 1,0 мг%. В опытах по изучению влияния микроэлементов *in vivo* на фагоцитарную активность

макрофагов их вводили в течение четырех дней подкожно по 0,5 мг/кг.

В последние годы возрос интерес к изучению роли лизосомального аппарата лимфоидных клеток в процессе иммуногенеза. Среди многочисленных исследований, посвященных выяснению различных аспектов проблемы лизосом, важное место занимают работы, направленные на изучение проницаемости лизосомальных мембран. Было испытано действие различных веществ, стабилизирующих и лабилизирующих мембрану лизосом / A.Tappel et al. 1960, 1963; A.Gajdos, 1966/. При этом была установлена четкая зависимость между влиянием некоторых веществ на проницаемость мембран и действием данных веществ на иммуногенез. Так, глюкокортикоиды / G.Weissman, L.Thomas, 1963/, салицилаты / W.Miller, J.Smith, 1966/ стабилизируют лизосомальные мембраны и обладают иммунодепрессивным действием. В то же время такие вещества, как витамины А и С лабилизируют мембраны и стимулируют иммуногенез / A.Tappel et al., 1963/.

Для изучения вопроса о том, не связано ли действие микроэлементов на иммуногенез с влиянием на проницаемость лизосомальных мембран, нами были поставлены специальные серии опытов, в которых изучалось изменение проницаемости лизосомальных мембран клеток селезенки под влиянием микроэлементов меди, марганца и кобальта *in vitro*.

Использование данной модели позволяет оценить непосредственное взаимодействие изучавшихся микроэлементов с субклеточными структурами. При этом устраняется также ряд вторичных метаболических изменений, затрудняющих анализ эффектов, вызванных микроэлементами в условиях целостности организма.

Для проведения этих опытов были использованы мыши-гибриды (CBA X C57BL) F_I /260 животных/ у родительских линий которых отме-

чена четкая зависимость между уровнем антителообразования и проницаемостью лизосомальных мембран клеток селезенки /И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1972/.

Ввиду малого веса селезенки в каждый опыт брали по 4 мыши.

Селезенку извлекали и гомогенизировали в холодной 0,25 М сахарозе /1:10 вес/объем/ в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Гомогенизацию проводили осторожно для предупреждения повреждения мембранных структур.

Исследования проводили на свежеприготовленных гомогенатах. В качестве показателя, характеризующего состояние проницаемости лизосомальных мембран, использовали активность кислой фосфатазы /А.Новиков, 1963/. При этом определяли свободную, общую и связанную активность /П.В.Сергеев с соавт., 1973/.

Свободную активность кислой фосфатазы изучали в гомогенатах после 30-минутной преинкубации с катионами Cu^{++} , Mn^{++} , Co^{++} при температуре 0°C . Катионы металлов применяли в конечной концентрации 0,01 Мм, 0,1 Мм, 1,0 Мм; В опытах использовали хлористые соединения меди, марганца и кобальта /М.Švvaril et al., 1972/.

Общую активность фермента исследовали в гомогенатах в условиях полного разрушения субклеточных структур после добавления в среду инкубации детергента тритона X-100 в конечной концентрации 0,2 %.

Связанную активность кислой фосфатазы /фермент, связанный с мембранными структурами, не проявляет своей активности/ рассчитывали по разнице между показателями общей и свободной форм активности.

Активность кислой фосфатазы определяли по гидролизу p-нитрофенилфосфата натрия / E.King, K.Jeatheesan ; руководство В.С.Асатиани, 1969/.

Для постановки реакции готовили растворы:

- раствор 1: цитратный буфер 0,05 M/pH 4,8/ разбавляют в 100мл дистиллированной воды;
- раствор 2: 1 таблетку р-нитрофенилфосфата натрия растворяли в 10 мл раствора 1;
- раствор 3: титрат натрия 0,2 M разбавляли в 5 мл дистиллированной воды;
- раствор 4: 0,02 M NaOH /0,4 г. NaOH в 500 мл дистиллированной воды/.

Ход определения:	контроль	опыт 1	опыт 2
раствор 2	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
раствор 3	-	-	0,1 мл
гомогенат	-	0,2 мл	0,2 мл

Пробирки тщательно встряхивали и ставили в водяную баню на 30 минут при температуре 37°C. По истечении этого времени пробирки встряхивали и добавляли:

	контроль	опыт 1	опыт 2
раствор 4	10,0 мл	10,0 мл	10,0 мл
гомогенат	0,2 мл	-	-

После повторного встряхивания проводили спектрофотометрию на спектрофотометре ОФ-4 при длине волны 405 мк.

Для расчета удельной активности фермента определяли содержание белка по O.Louri et al. /1951/. Спектрофотометрию проводили при длине волны 750 мк.

Активность фермента выражали в р-нитрофенола/мин на 1 мг белка.

Для оценки влияния микроэлементов на функциональное состояние лимфоцитов мы использовали реакцию бласттрансформации лимфоцитов периферической крови *in vitro*. В последнее время данный ме-

тод используется для оценки функционального состояния Т-лимфоцитов / G.Jannogy, M.Greaves, 1971; J.Andersson et al., 1972; В.Т.Смит, 1972; Б.Б.Фукс, И.В.Константинова, 1973/, а также В-лимфоцитов / J.Andersson et al., 1973; G.Elfenbein et al., 1973 /, что расширяет возможности его применения и оценки в экспериментальных и клинических условиях, так как именно этим клеткам отводится большая роль в кооперативном взаимодействии при формировании иммунных реакций.

Ценность этого метода повышается в связи с предположением, что морфологические и биохимические изменения лимфоцитов в культуре *in vitro* очень сходны с теми, которые возникают в организме при антигенном воздействии / M.Elves et al. 1963; Н.И.Брауде, 1969; Л.И.Чертков, А.И.Фриденштейн, 1968/.

Н.И.Брауде полагает, что культивирование лимфоцитов *in vitro* является хорошей моделью иммунологической системы и открывает перспективность для широкого моделирования различных иммунологических состояний, позволяет более глубоко изучить иммунокомпетентные клетки и влияние на эти процессы различных веществ.

Реакцию бласттрансформации ставили по модифицированному методу, описанному Н.И.Брауде и И.Л.Гольдман /1967/.

В опытах использовали лимфоциты, полученные от практически здоровых лиц, прошедших клиническое обследование /нормальные лимфоциты/ и лимфоциты от больных с ревматизмом /"сенсibilизированные лимфоциты"/.

Кровь в объеме до 10 мл вносили в стерильную пробирку, содержащую 1 мл 10% желатины, 1 мл среды 199 и 25 ед. гепарина. Пробирки ставили в термостат в вертикальном положении на 30-40 мин. при температуре 37°C. В течение этого времени эритроциты оседали и в надосадочном слое оставалась плазма с клетками белой крови.

Надосадочный слой переносили в стерильные пробирки. Подсчитывали количество ядерных клеток в 1 мл и доводили средой 199 до концентрации $8 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл.

После этого разливали разведенную плазму в стерильные пенициллиновые флаконы. 1 флакон служил контролем, во 2-й добавляли ФГА /НИЕМ, София, серия 1 в количестве 0,05 мл/: Для изучения влияния микроэлементов меди, марганца и кобальта на процесс трансформации лимфоцитов к взвеси клеток добавляли по 0,2 мл растворов солей меди, марганца и кобальта в концентрации 1,0 мг%, 0,1 мг% и 0,01 мг%. В ряде случаев культивировали лимфоциты с одновременным добавлением ФГА и микроэлемента.

В каждый флакон вносили по 1-2 капли аутоэритроцитов. Флаконы плотно закрывали резиновыми пробками и помещали в термостат при 37°C .

На шестые сутки культивирования содержимое флаконов переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 12-15 мин. Из осадка готовили мазки, фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому-Гимза.

В каждой мазке подсчитывали не менее 500 ядерных клеток, учитывая малые лимфоциты, переходные клетки в бласты, макрофаги, бласты и митозы.

Статистическую обработку материала /Н.Бейли, 1962; И.А.Одвин, 1960; И.Т.Шевченко с соавт., 1970/ проводили, вычисляя среднюю арифметическую величину \bar{M} , квадратическую ошибку σ /:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum a^2}{n-1}}$$

где $\sum a^2$ - сумма квадратов отклонений каждой величины от средней \bar{M} ; n - число опытов, среднюю ошибку средней арифметической / m /:

$$m = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

и показатель существенной разницы / t /:

$$t = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

с последующим определением на таблице Стьюдента показателя вероятности различий p. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

В ряде случаев для сравнения результатов опытов, полученных от одного и того же объекта, применяли разностный метод обработки результатов, вычисляя среднюю арифметическую /M/, среднюю ошибку /m /:

$$m = \pm \sqrt{\frac{\sum \varnothing^2}{(n-1)n}}$$

где \varnothing - величина отклонения каждой разности от средней разности, и показатель средней разности / t /:

$$t = \frac{\mu}{m}$$

Для статистической обработки данных по содержанию антител применяли метод расчета средней геометрической величины /А.А.Воробьев с соавт., 1969/.

Г л а в а Ш

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА АНТИТЕЛООБРАЗУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

В этой главе представлены данные о влиянии микроэлементов на антителообразующую функцию лимфоидной ткани при иммунизации крыс эритроцитами барана. Как указывалось во второй главе, в качестве показателей, характеризующих уровень антителогенеза, нами использовались плазмоцитарная реакция в регионарных лимфоузлах и селезенке, количество антителообразующих клеток в регионарных лимфоузлах, селезенке, печени и почках, а также уровень антител /гемолизинов/ в сыворотке крови.

П л а з м о ц и т а р н а я р е а к ц и я

В наших опытах было обнаружено, что иммунизация крыс эритроцитами барана сопровождается увеличением содержания клеток плазмоцитарного ряда в лимфоидные ткани. На 4 сутки после внутрибрюшинного введения гетероэритроцитов в регионарных /мезентериальных/ лимфатических узлах число незрелых клеток возрастало до $96,6 \pm 6,6$ /у интактных животных $39,3 \pm 1,7$ /, зрелых - до $23,4 \pm 2,6$ /у интактных $6,6 \pm 0,8$ /; в селезенке: незрелых - до $79,1 \pm 4,7$ /у интактных $34,5 \pm 1,8$ /, зрелых - до $11,0 \pm 0,87$ /у интактных $5,5 \pm 1,0$ /.

Подкожное введение крысам микроэлементов в течение 4 дней оказывало выраженное влияние на плазмоцитарную реакцию в исследуемых органах. Ниже излагаются результаты опытов, полученные при использовании каждого микроэлемента.

М е д ь. Как видно из таблицы 1, плазмоцитарная реакция у крыс, которым вводили медь, характеризовалась существенным уве-

личением содержания в селезенке и лимфатических узлах как незрелых, так и зрелых плазматических клеток по сравнению с данными, полученными у контрольных /только иммунизированных/ животных. Увеличение количества плазматических клеток обнаруживалось во всех вариантах опытов, однако выраженность эффекта была различной. Так, в первом варианте опытов, когда медь вводили до инъекции антигена, в регионарных лимфатических узлах число незрелых клеток превышало контрольный уровень на 39%, а количество зрелых клеток - на 46%. В селезенке животных этой группы так же, как и в лимфоузлах, отмечалось значительное усиление плазмоцитарной реакции. Число незрелых клеток увеличивалось на 37%, зрелых - на 62%.

Во втором варианте опытов, когда медь вводили до и после антигенной стимуляции, в регионарных лимфоузлах увеличение содержания незрелых плазматических клеток составило 40% по сравнению с контролем; в то же время число зрелых плазматических клеток практически не изменялось /различия между опытной и контрольной группой незначительны $p > 0,2$ /. В селезенке наблюдалось увеличение числа незрелых и зрелых плазмоцитов в 2 раза.

При введении меди после антигенной стимуляции крыс /III вариант/, как и в предыдущих опытах, отмечалось усиление плазмоцитарной реакции по сравнению с контрольными иммунизированными животными. Следует, однако, отметить, что повышение содержания молодых клеток, хотя и имело место, но было несколько менее выражено, чем в первых двух вариантах экспериментов. Особенно это относится к содержанию незрелых форм клеток в регионарных лимфоузлах, где различия с контрольными опытами незначительны / $p > 0,2$ /. В то же время число зрелых плазматических клеток и в лимфоузлах, и в

селезенке увеличивалось по сравнению с данными контрольных опытов в 2 раза.

Таблица 1

Плазмочитарная реакция в регионарных лимфоузлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении меди

Варианты опытов	Число плазматических клеток в 50 п/ар			
	регионарные лимфоузлы		селезенка	
	незрелые	зрелые	незрелые	зрелые
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
I	$134,6 \pm 4,0$ $p < 0,001$	$34,2 \pm 2,3$ $p < 0,01$	$108,4 \pm 7,1$ $p < 0,01$	$18,0 \pm 0,8$ $p < 0,001$
II	$137,3 \pm 12,2$ $p < 0,001$	$27,0 \pm 2,2$ $p > 0,2$	$142,5 \pm 6,5$ $p < 0,001$	$22,8 \pm 4,8$ $p < 0,05$
III	$112,4 \pm 10,6$ $p > 0,2$	$50,7 \pm 4,4$ $p < 0,01$	$105,5 \pm 8,7$ $p < 0,02$	$23,3 \pm 4,6$ $p < 0,02$
контроль	$96,6 \pm 6,6$	$23,4 \pm 2,6$	$79,1 \pm 4,7$	$11,1 \pm 0,87$

Сравнительный анализ данных различных вариантов опытов в зависимости от сроков введения меди по отношению к иммунизации, а также выраженность реакции в регионарных лимфоузлах и селезенке обнаружил следующее.

Введение меди до антигенной стимуляции вызывало в целом односторонний сдвиг в сторону увеличения числа зрелых и незрелых плазматических клеток со стороны лимфоузлов и селезенки.

Отчетливая стимуляция имела место и в том случае, если микроэлемент вводили за два дня до и через два дня после введения антигена. Причем, в этом случае большее увеличение числа молодых и зрелых плазматических клеток обнаруживается в селезенке.

Несколько иные результаты были получены при введении меди,

начиная с 0 дня после введения антигена /III вариант опытов/. В этих условиях, при сохранении общей тенденции к стимуляции плазмоцитарной реакции, все же наиболее выраженные изменения были в содержании зрелых плазматических клеток в селезенке и в лимфоузлах. В лимфоузлах их содержание превышало контроль в 2 раза.

Сравнение уровней плазмоцитарной реакции свидетельствует о том, что больший эффект при введении меди наблюдается в первом и во втором вариантах опытов, чем в третьем. Так, при введении меди до иммунизации в регионарных лимфатических узлах число как незрелых, так и зрелых плазматических клеток больше, чем при введении меди после иммунизации / $p < 0,05$ /. В селезенке в первом варианте опытов было больше незрелых клеток, чем в третьем варианте / $p < 0,05$ /. Во втором варианте опытов в регионарных лимфоузлах и селезенке было больше незрелых плазматических клеток, чем в третьем / $p < 0,05$ />.

Преимущественный эффект меди на плазмоцитарную реакцию отмечался в селезенке по сравнению с регионарными лимфоузлами.

Таким образом, при подкожном введении меди отмечается значительное увеличение плазмоцитарной реакции в регионарных лимфатических узлах и селезенке иммунизированных крыс. Причем, стимулирующий эффект определялся сроками введения микроэлемента по отношению к фазе развития иммунного ответа.

М а р г а н е ц. При введении марганца также отмечается значительная плазматизация регионарных лимфатических узлов и селезенки у крыс по сравнению с контролями.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, при введении марганца до антигенной стимуляции в лимфоузлах число незрелых плазматических клеток превышало контроль на 40%; количество

зрелых плазмочитов статистически не отличалось от контрольных данных $/p > 0,1/$. В селезенке число незрелых плазматических клеток увеличивалось по сравнению с контролем на 5%, а число зрелых форм - на 63%.

Во втором варианте опытов, когда марганец вводили до и после антигенного воздействия, отмечалось еще большее увеличение плазмочитарной реакции у крыс. В регионарных лимфоузлах увеличение числа плазматических клеток происходило в основном за счет незрелых форм. Содержание последних увеличивалось по сравнению с контролем на 54%. Хотя число зрелых плазмочитов и превышало контрольные цифры, однако статистически достоверного различия не было выявлено $/p > 0,1/$. В селезенке усиление плазмочитарной реакции происходило за счет как незрелых, так и зрелых форм клеток. Количество незрелых плазмочитов увеличивалось по сравнению с контрольными данными на 80%, зрелых - более, чем в 2 раза.

При введении марганца после инъекции антигена в регионарных лимфоузлах увеличение количественного содержания клеток плазмочитарного ряда происходило за счет незрелых форм клеток. Число последних увеличивалось до $160,36 \pm 15,8$, что превышало контрольные данные на 66%. Содержание зрелых плазматических клеток практически не изменялось $/\text{опыт} - 24,1 \pm 2,6, \text{ контроль} - 23,4 \pm 2,6; p > 0,5$. В то же время в селезенке отмечалось, как и в предыдущих опытах, увеличение числа как незрелых, так и зрелых форм клеток. Так, количество незрелых плазматических клеток увеличивалось по сравнению с контролем в 1,6 раза, а число зрелых плазмочитов увеличивалось в 3 раза.

Таблица 2

Плазмоцитарная реакция в регионарных лимфоузлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении марганца

Варианты опытов	Число плазматических клеток в 50 полях зрения			
	регионарные лимфоузлы		селезенка	
	незрелые к-ки	зрелые к-ки	незрелые к-ки	зрелые к-ки
	M \pm m	M \pm m	M \pm m	M \pm m
I	135,9 \pm 4,0 p < 0,01	27,6 \pm 1,3 p > 0,1	107,1 \pm 4,1 p < 0,001	18,0 \pm 1,5 p < 0,05
II	149,0 \pm 16,0 p < 0,01	29,6 \pm 3,6 p > 0,1	145,0 \pm 12,3 p < 0,001	24,3 \pm 6,1 p = 0,05
III	160,4 \pm 15,8 p < 0,01	24,1 \pm 2,6 p > 0,5	146,8 \pm 10,9 p < 0,01	32,3 \pm 3,3 p < 0,01
контроль	96,6 \pm 6,6	23,4 \pm 2,6	79,1 \pm 4,7	11,1 \pm 0,87

Таким образом, введение иммунизированным крысам марганца способствовало усилению плазмоцитарной реакции со стороны регионарных лимфоузлов и селезенки.

Отмечается следующая закономерность. Во всех вариантах введения микроэлемента по отношению к инъекции антигена реакция со стороны регионарных лимфоузлов проявлялась в увеличении числа незрелых форм клеток. Содержание зрелых плазмоцитов хотя и увеличивалось, но статистически такое увеличение было недостоверным во всех случаях.

В селезенке повышалось число как зрелых, так и незрелых клеток плазмоцитарного ряда.

Сравнивая варианты введения микроэлемента по интенсивности плазмоцитарной реакции со стороны лимфоидной ткани /особенно се-

лезенки// следует отметить тенденцию к увеличению числа клеток плазматического ряда от первого варианта к третьему. Однако, в регионарных лимфоузлах достоверного различия нет. В селезенке число незрелых клеток во втором и третьем вариантах больше, чем в первом / $p < 0,05$ /. Существенные различия в содержании зрелых плазмоцитов наблюдаются между третьим и первым вариантами опытов / $p < 0,05$ /.

Плазмоклеточная реакция при введении марганца в селезенке была более выраженной, чем в регионарных лимфоузлах.

К о б а л ь т. Результаты исследований, проведенных на животных, которым вводился кобальт, несколько стлчались от результатов опытов, полученных при введении крысам меди и марганца.

Так, в первом варианте опытов, когда кобальт вводили до антигенного воздействия, реакция регионарных лимфатических узлов в последующем иммунизированных животных существенно не отличалась от данных контрольных исследований /таблица 3/. Реакция селезенки на антигенное воздействие при введении кобальта была более выраженной. Количество незрелых форм клеток превышало контрольные данные на 20%, зрелых - на 33%.

Во втором варианте опытов, когда кобальт вводили до и после антигенной стимуляции, наблюдалась тенденция к снижению числа молодых форм клеток в регионарных лимфоузлах, однако статистически достоверного различия между опытной и контрольной группами не было. В то же время уровень зрелых плазмоцитов увеличивался по сравнению с данными контроля на 45%. Число незрелых плазматических клеток в селезенке в данных условиях опытов не отличалось от результатов контроля / $p > 0,5$ /. Содержание зрелых плазмоцитов значительно увеличивалось и превышало контроль более чем в 2 раза.

При введении кобальта после антигенной стимуляции в регионарных лимфоузлах отмечается тенденция к увеличению числа незрелых плазмочитов, однако статистического различия между опытной и контрольной группой животных не выявлено. Содержание зрелых плазматических клеток существенно уменьшается ($p < 0,05$). В селезенке содержание незрелых форм клеток превышало контроль на 40%. Количество зрелых плазматических клеток не изменялось по сравнению с данными контрольных исследований ($p > 0,2$).

Таблица 3

Плазмоцитарная реакция в регионарных лимфоузлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении кобальта

Варианты опытов	Число плазматических клеток в 50 полях зрения			
	регионарные лимфоузлы		селезенка	
	незрелые к-ки M ± m	зрелые к-ки M ± m	незрелые к-ки M ± m	зрелые к-ки M ± m
I	102,8 ± 2,5 $p > 0,2$	26,5 ± 1,3 $p > 0,2$	94,1 ± 4,0 $p = 0,05$	14,8 ± 0,84 $p < 0,01$
II	82,5 ± 7,0 $p > 0,5$	34,0 ± 1,8 $p < 0,01$	82,6 ± 8,4 $p > 0,5$	24,7 ± 2,6 $p < 0,001$
III	110,3 ± 6,4 $p > 0,1$	14,8 ± 3,1 $p < 0,05$	109,7 ± 4,2 $p < 0,001$	12,7 ± 1,4 $p > 0,2$
контроль	96,6 ± 6,6	23,4 ± 2,6	79,1 ± 4,7	11,1 ± 0,87

Анализ результатов исследования влияния подкожного введения кобальта на плазмоцитарную реакцию в лимфоидных органах при антигенной стимуляции везевью эритроцитов барана показал, что имеются различия в реакции регионарных лимфоузлов и селезенки. Так, если в лимфоузлах при всех вариантах применения микроэлемента

число незрелых клеток изменялось несущественно, то в селезенке отмечается значительное увеличение их числа при введении кобальта до антигенной стимуляции /I вариант/ и после антигенной стимуляции /III вариант/.

Однонаправленность изменений обнаруживается в селезенке и лимфоузлах в отношении содержания зрелых клеток. Только в третьем варианте опытов в лимфоузлах число зрелых форм клеток существенно снижается, в то время как в селезенке число данных клеток не изменяется по сравнению с контрольными результатами

X X
X

Приведенные данные свидетельствуют о том, что введение микроэлементов меди, марганца и кобальта крысам вызывает изменения со стороны плазмоцитарной реакции в регионарных лимфоузлах и селезенке на четвертые сутки после антигенной стимуляции по сравнению с результатами контрольных исследований /только иммунизированные животные/. При этом существенное увеличение числа клеток наблюдалось лишь при введении меди и марганца. Введение кобальта не всегда способствовало усилению плазмоцитарной реакции, а в некоторых случаях вызывало снижение числа плазмоцитов.

Сопоставляя результаты опытов с применением меди и марганца, можно отметить, что в первом и втором вариантах введения микроэлементов существенных различий плазмоклеточной реакции в лимфоузлах и селезенке нет. В третьем варианте опытов при введении марганца содержание незрелых клеток в лимфоузлах и селезенке больше, чем при введении меди / $p < 0,05$ /; при введении меди преобладает число зрелых форм клеток / $p < 0,05$ /.

Изменения в содержании плазматических клеток у иммунизированных крыс при введении микроэлементов были более выражены в селезенке, чем в регионарных лимфоузлах.

Анти телообразующие клетки

Определение содержания анти телообразующих клеток /АОК/ в наших опытах подтвердило известные данные о появлении в лимфоидной ткани большого числа клеток, синтезирующих гемолизины, при иммунизации крыс эритроцитами барана.

Число АОК в регионарных лимфоузлах составило $19,3 \pm 1,7\%$ от числа ядросодержащих клеток; в селезенке - $19,2 \pm 2,3\%$.

Необходимо отметить, что у интактных животных и в мезентериальных лимфоузлах, и в селезенке также содержатся клетки, вырабатывающие гемолизины против эритроцитов барана, однако в очень незначительном количестве: мезентериальные узлы - $1,4 \pm 0,22\%$, селезенка - $0,53 \pm 0,12\%$.

При введении микроэлементов меди, марганца и кобальта иммунизированным животным содержание АОК в исследуемых лимфоидных образованиях увеличивалось. Ниже представлены результаты опытов, полученные при введении каждого микроэлемента.

М е д ь. Как видно из данных таблицы 4, при введении меди до антигенного воздействия /I вариант опытов/ число АОК в регионарных лимфоузлах больше, чем в контроле на 58%, а в селезенке - на 42%.

При введении меди до и после инъекции антигена /II вариант опытов/ содержание АОК в регионарных лимфоузлах превышало контроль почти в 2 раза. В то же время в селезенке число АОК существенно не отличалось от данных контрольных опытов / $p > 0,2$ /.

Введение меди после антигенной стимуляции /III вариант опытов/ так же, как и в предыдущих опытах, способствовало существенному увеличению числа АОК в регионарных лимфоузлах /87%/ по сравнению с контролем. В селезенке содержание АОК превышало контрольные ре-

зультаты на 40%.

Таблица 4

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в регионарных лимфатических узлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении меди

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим	
	регионарные лимфоузлы	селезенка
	$M \pm m$	$M \pm m$
I	$30,6 \pm 2,0$ $p < 0,01$	$27,3 \pm 1,5$ $p < 0,02$
II	$36,0 \pm 2,8$ $p < 0,001$	$22,6 \pm 1,4$ $p > 0,2$
III	$36,4 \pm 1,9$ $p < 0,001$	$27,1 \pm 1,2$ $p < 0,02$
контроль	$19,3 \pm 1,7$	$19,2 \pm 2,3$

Таким образом, при введении крысам, иммунизированным эритроцитами барана, меди наблюдается существенное увеличение числа АОК в регионарных лимфоузлах и селезенке.

Сравнивая результаты всех вариантов опытов, можно отметить, тенденцию к преимущественному влиянию меди на накопление АОК в регионарных лимфоузлах во втором и третьем вариантах, а в селезенке - в первом и III вариантах опытов. Однако, статистически достоверного различия не выявлено.

Следует также подчеркнуть, что более выраженная реакция на антиген при введении меди наблюдалась со стороны регионарных лимфатических узлов, чем селезенки.

М а р г а н е ц. Результаты опытов /таблица 5/ свидетельствуют о том, что введение марганца, так же как и введение меди,

иммунизированным животным сопровождалось увеличением числа АОК в исследуемых органах.

Так, при введении марганца до антигенной стимуляции /I вариант опытов/ содержание АОК в регионарных лимфоузлах увеличивалось по сравнению с контролем на 36%. В селезенке статистически достоверного увеличения не выявлено / $p > 0,1$ /.

При введении марганца до и после антигенного воздействия /II вариант опытов/ в регионарных лимфоузлах число АОК превышало контрольные результаты на 50%, в селезенке - на 4%.

При введении марганца после инъекции антигена /III вариант опытов/ число АОК в регионарных лимфоузлах увеличивалось на 49%, в селезенке - на 37% по сравнению с контролем.

Таблица 5

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в регионарных лимфатических узлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении марганца

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим	
	регионарные лимфоузлы	селезенка
	$M \pm m$	$M \pm m$
I	$26,3 \pm 1,6$ $p < 0,02$	$23,5 \pm 1,5$ $p > 0,1$
II	$29,0 \pm 2,4$ $p < 0,01$	$27,7 \pm 1,1$ $p < 0,05$
III	$28,7 \pm 2,5$ $p < 0,02$	$25,4 \pm 1,1$ $p < 0,05$
контроль	$19,3 \pm 1,7$	$19,2 \pm 2,3$

Таким образом, при введении марганца крысам, иммунизированным эритроцитами барана, содержание АОК в регионарных лимфоузлах

и селезенке значительно увеличивалось по сравнению с уровнем этих клеток у контрольных животных.

Сравнивая данные различных вариантов введения микроэлементов по отношению к инъекции антигена, можно отметить следующее.

В первом варианте опытов, когда марганец вводили до инъекции антигена, существенное увеличение числа АОК наблюдалось лишь в регионарных лимфоузлах. Во втором варианте опытов, когда марганец вводили до и после антигенной стимуляции, содержание АОК в регионарных лимфоузлах было несколько большим, чем в предыдущем опыте. Существенно увеличивалось число АОК и в селезенке. В третьем варианте, когда марганец вводили после антигенного воздействия, также наблюдалось значительное увеличение числа АОК как в регионарных лимфоузлах, так и в селезенке.

Таким образом, при введении марганца иммунизированным крысам, так же как и при введении меди, наблюдается тенденция преимущественного влияния микроэлемента на накопление АОК в лимфоидных образованиях во втором и третьем вариантах опытов.

Следует также отметить, что более выраженная реакция отмечается со стороны регионарных лимфатических узлов, чем селезенки.

К о б а л ь т. Результаты исследований, полученных при введении кобальта /таблица 6/, показывают, что существенных сдвигов содержания АОК в лимфоидных образованиях не наблюдалось. Уровень АОК в селезенке и регионарных лимфоузлах животных, получавших микроэлемент, не отличался от наблюдаемого в контрольных исследованиях.

х х
х

Результаты проведенных опытов показали, что при введении микроэлементов меди и марганца крысам, иммунизированным гетероэри-

Таблица 6

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в регионарных лимфатических узлах и селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана при введении кобальта

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим-			
	регионарные лимфоузлы		селезенка	
	М	\pm m	М	\pm m
I	21,0	\pm 1,0	22,5	\pm 1,1
	p > 0,5		p > 0,5	
II	21,4	\pm 2,2	21,4	\pm 1,1
	p > 0,2		p > 0,2	
III	20,7	\pm 1,9	21,6	\pm 1,7
	p > 0,5		p > 0,2	
контроль	19,3	\pm 1,7	19,2	\pm 2,3

троцитами, наблюдается увеличение числа антителообразующих клеток в регионарных лимфоузлах и селезенке по сравнению с контролем.

Более выраженная реакция на введение меди и марганца в виде увеличения содержания АОК была в регионарных лимфоузлах, чем в селезенке.

Сопоставляя эффективность применения меди и марганца, можно констатировать, что в первом варианте опытов существенных различий между опытными группами нет. Во втором варианте опытов при введении марганца содержание АОК в селезенке было большим, чем при введении меди /p < 0,05/. В третьем варианте опытов при введении меди в регионарных лимфоузлах число АОК превышало данные группы крыс, получавших марганец.

По данным ряда авторов / Н. Friedman, 1964; Л.А.Фонталин, 1967; Г.Носсел, 1973/ антителиобразование наблюдается не только в лимфоидных образованиях / лимфоузлы, селезенка/, но и в других органах / легкие, печень, почки и др./.

Известно, что микроэлементы медь, марганец и кобальт при парентеральном введении максимально накапливаются в печени и почках / N. Berlin, 1950; A.O. Войнар, 1953; В.А. Ставничук, 1967/. Поэтому представляло интерес изучить накопление АОК в данных органах при иммунизации животных и введении меди, марганца и кобальта.

Как и в предыдущих опытах, микроэлементы вводили в различные сроки по отношению к инъекциям антигена. Результаты исследований с каждым микроэлементом представлены ниже.

М е д ь. Введение меди приводило к значительному увеличению числа АОК в печени и почках по сравнению с результатами контрольных опытов. Так, при введении меди до антигенной стимуляции содержание АОК в печени увеличивалось по сравнению с контролем в 2 раза, а в почках - в 3 раза.

При введении меди до и после антигенной стимуляции /II вариант опытов/ число АОК возрастало еще больше, чем в предыдущем опыте. В печени содержание их превышало контроль в 3,3 раза, в почках - 3,7 раза.

При введении меди после антигенной стимуляции /III вариант опытов/ наблюдался наиболее выраженный эффект. Как в печени, так и в почках животных опытной группы число АОК увеличивалось по сравнению с контролем в 5,6 раза.

Таблица 7

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в печени и почках крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении меди

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим					
	печень			почки		
	М	\pm	ш	М	\pm	ш
I	11,1	\pm	1,5	13,0	\pm	2,1
	p < 0,01			p < 0,01		
контроль	5,6	\pm	0,36	4,29	\pm	0,54
II	14,2	\pm	1,2	15,0	\pm	1,3
	p < 0,001			p < 0,001		
контроль	4,34	\pm	0,43	3,95	\pm	0,39
III	21,4	\pm	1,1	21,5	\pm	1,54
	p < 0,01			p < 0,001		
контроль	3,82	\pm	0,32	3,77	\pm	0,32

М а р г а н е ц. Введение марганца крысам, иммунизированным гетероэритроцитами, также приводило к существенному увеличению содержания АОК в почках и печени /таблица 8/.

Так, в первом варианте опытов число АОК превышало контрольные данные в 3,4 раза в печени и в 2,5 раза - в почках.

При введении микроэлемента до и после иммунизации /II вариант опытов/ количество АОК в печени возрастало в 3,6 раза, в почках - в 2,3 раза по сравнению с контрольными результатами.

При введении марганца после антигенного воздействия /III вариант опытов/ в печени содержание клеток, образующих бляшки гемолиза, превышало контроль в 4 раза, в почках - в 3 раза.

Таблица 8

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в печени и почках крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении марганца

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим			
	печень		почки	
	М	\pm m	М	\pm m
I	19,1	\pm 3,27	11,2	\pm 2,3
	p < 0,01		p < 0,01	
контроль	5,6	\pm 0,36	4,9	\pm 0,54
II	15,8	\pm 2,3	9,3	\pm 0,38
	p < 0,0001		p < 0,001	
контроль	4,34	\pm 0,43	3,95	\pm 0,39
III	15,3	\pm 2,1	12,1	\pm 3,2
	p < 0,001		p < 0,05	
контроль	3,87	\pm 0,32	3,77	\pm 0,32

К о б а л ь т. При введении кобальта иммунизированным животным не наблюдалось столь выраженного увеличения числа АОК в печени и почках /таблица 9/.

Так, в первом варианте, когда кобальт вводили до антигенной стимуляции, увеличение числа АОК в печени было статистически недостоверным / $p > 0,1$ /. В почках количество клеток превышало контрольные данные на 83%.

При введении кобальта до и после антигенного воздействия /1 вариант опытов/, число АОК увеличивалось по сравнению с контролем в печени в 2,5 раза, в почках - в 2 раза.

При введении кобальта после антигенной стимуляции был получен примерно такой же эффект, как и в предыдущем варианте опытов.

Таблица 9

Содержание антителообразующих клеток /АОК/ в печени и почках крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении кобальта

Варианты опытов	Число антителообразующих клеток в % к ядросодержащим			
	печень		почки	
	М	\pm m	М	\pm m
I	8,29	$\pm 0,4$	7,9	$\pm 0,42$
		$p > 0,1$		$p < 0,01$
контроль	5,6	$\pm 0,36$	4,29	$\pm 0,54$
II	11,13	$\pm 0,79$	8,45	$\pm 0,72$
		$p < 0,001$		$p < 0,001$
контроль	4,34	$\pm 0,43$	3,95	$\pm 0,39$
III	9,23	$\pm 0,66$	8,41	$\pm 0,72$
		$p < 0,001$		$p < 0,001$
контроль	3,87	$\pm 0,32$	3,77	$\pm 0,32$

x x

x

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что при введении иммунизированным крысам микроэлементов меди, марганца и кобальта наблюдается существенное увеличение числа АОК не только в лимфоидных образованиях, но и в органах, содержащих небольшое количество лимфоидных клеток /печень, почки/.

Следует отметить, что, как и в предыдущих экспериментах, более выраженный эффект накопления АОК наблюдался при введении меди и марганца. Однако, введение кобальта, хотя и в меньшей степени, также способствовало увеличению числа АОК в исследуемых органах, что не наблюдалось в предыдущих экспериментах.

Сопоставление результатов различных вариантов введения микроэлементов по отношению к инъекции антигена показало, что медь и кобальт оказывают несколько больший эффект во втором и третьем вариантах опытов. В отношении марганца такой закономерности не выявлено.

Преимущественного накопления АОК в печени или в почках при введении всех микроэлементов не установлено.

Г е м о л и з и н ы к р о в и

Вышеизложенные результаты наших исследований показывают, что введение микроэлементов меди, марганца и кобальта иммунизированным животным всегда приводит к усилению плазмоцитарной реакции и увеличению числа антителообразующих клеток.

Представляло интерес сопоставить полученные данные с динамикой накопления в сыворотке крови антител в условиях введения микроэлементов.

С этой целью у отдельной группы крыс изучалось содержание антител к эритроцитам барана на 5 и 10 сутки после иммунизации. На 5 сутки титр гемолизина составлял в $\lg \bar{X}$: $2,41 \pm 0,07$, на 10. сутки исследований - $2,37 \pm 0,05$.

Микроэлементы вводили по вышеописанной схеме. Ниже представлены результаты проведенных опытов при введении каждого микроэлемента.

М е д ь. Данные таблицы 10 показывают, что при введении меди значительно повышается титр гемолизина в сыворотке крови иммунизированных крыс по сравнению с контролем. Так, в первом варианте опытов, когда микроэлемент вводили до антигенного воздей-

Таблица 10

Динамика содержания гемолизинов в сыворотке крови крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении меди

Варианты опытов	Титры гемолизинов в X геометр.			
	5 сутки после иммунизации		10 сутки после иммунизации	
	М ±	p	М ±	p
I	2,83 ± 0,07	<0,001	2,68 ± 0,045	<0,05
II	2,88 ± 0,11	<0,01	2,76 ± 0,09	<0,01
III	2,94 ± 0,1	<0,01	2,71 ± 0,07	<0,05
контроль	2,41 ± 0,08		2,37 ± 0,05	

ствия, титр антител против эритроцитов барана на 5 сутки составлял $2,83 \pm 0,07$ / $p < 0,05$ /. На 10 сутки после иммунизации наблюдалось некоторое снижение уровня антител / $2,68 \pm 0,045$ /, однако титр их все же существенно превышал результаты контрольных опытов / $p < 0,05$ /.

При введении меди до и после антигенной стимуляции также наблюдалось увеличение титра гемолизинов. Так, на 5 сутки инъекции антигена уровень их составлял $2,88 \pm 0,1$ / $p < 0,05$ /. На 10 сутки содержание антител снижалось / $2,76 \pm 0,09$ /, однако превышал контроль / $p < 0,01$ /.

При введении меди после антигенной стимуляции титр антител на 5 сутки исследований был наиболее высоким по сравнению с данными контрольных опытов. На 10 сутки после введения гетеро-эритроцитов титр антител падал и был ниже, чем в предыдущем варианте опытов, однако оставался выше контроля: $2,71 \pm 0,07$ / $p < 0,05$ /.

М а р г а н е ц. При введении марганца, так же как и при введении меди, в сыворотке крови иммунизированных крыс сущест-

венно увеличивается содержание гемолизина /таблица 11/.

Таблица 11

Динамика содержания гемолизина в сыворотке крови крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении марганца

Варианты опытов	Титры гемолизина в lg X геометр.			
	5 сутки после иммунизации		10 сутки после иммунизации	
	M ± m	p	M ± m	p
I	2,74 ± 0,04	<0,01	2,57 ± 0,07	>0,1
II	2,83 ± 0,07	<0,001	2,69 ± 0,09	<0,05
III	2,85 ± 0,07	<0,001	2,62 ± 0,05	<0,05
контроль	2,41 ± 0,08		2,37 ± 0,05	

Так, при введении марганца до антигенного воздействия /I вариант опытов/ на 5 сутки после иммунизации уровень антител существенно превышал контроль, однако на 10 сутки он значительно снижлся и статистически не отличался от контроля / $p > 0,1$ /.

При введении марганца до и после антигенной стимуляции /II вариант опытов/ на 5 сутки после введения антигена титр антител значительно увеличивался по сравнению с результатами контрольных исследований /2,83 ± 0,07 при $p < 0,05$ / . На 10 сутки отмечалось некоторое его снижение /2,69 ± 0,09/, однако различие с контролем оставалось достоверным / $p < 0,05$ / .

При введении марганца после антигенной стимуляции наблюдалось существенное повышение титров гемолизина по сравнению с результатами контрольных опытов. Так, на 5 сутки после введения антигена уровень антител составил 2,85 ± 0,07 и существенно превышал контрольные данные. На 10 сутки титр их снижлся до 2,62 ± 0,05 и оставался примерно на таком же уровне, как и в предыдущем варианте опытов.

К о б а л ь т. Введение кобальта также способствовало увеличению титров специфических антител в периферической крови иммунизированных крыс /таблица 12/. Но столь выраженного эффекта, который наблюдался в опытах с медью и марганцем, не было обнаружено. Так, при введении данного микроэлемента до антигенной стимуляции /I вариант опытов/ на 5 сутки после иммунизации уровень антител в крови существенно не превышал результаты контрольных исследований / $p > 0,05$ /. На 10 сутки титры гемолизиннов существенно не изменились и поэтому превышали контроль / $p < 0,05$ /.

При введении кобальта до и после антигенной стимуляции /II вариант опытов/ на 5 сутки титр антител был выше, чем в предыдущем опыте / $2,68 \pm 0,1$ / и в контроле /различия статистически достоверны/. Однако на 10 сутки после иммунизации наблюдалось снижение их уровня и статистически достоверное различие с контрольными данными отсутствовало / $p > 0,2$ /.

Таблица 12

Динамика содержания гемолизиннов в сыворотке крови крыс, иммунизированных эритроцитами барана, при введении кобальта

Варианты опытов	Титры гемолизиннов в $1g$ X геометр.				
	5 сутки после иммунизации			10 сутки после иммунизации	
	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p	
I	$2,6 \pm 0,07$	$> 0,05$	$2,55 \pm 0,03$	$< 0,05$	
II	$2,68 \pm 0,1$	$= 0,05$	$2,51 \pm 0,88$	$> 0,2$	
III	$2,74 \pm 0,07$	$< 0,01$	$2,55 \pm 0,15$	$> 0,2$	
контроль	$2,41 \pm 0,07$		$2,37 \pm 0,05$		

При введении кобальта после антигенного воздействия /III вариант опытов/ на 5 сутки после иммунизации титр гемолизиннов существенно превышал контрольные результаты. На 10 сутки исследо-

ваний уровень антител значительно снижался и существенного различия с контрольными данными не было $/p > 0,2/$.

Таким образом, введение микроэлементов меди, марганца и кобальта крысам, иммунизированным эритроцитами барана, приводило к увеличению титров специфических антител в сыворотке периферической крови.

Более выраженный эффект наблюдался при введении меди и марганца, чем при введении кобальта.

Введение меди способствовало не только повышению уровня антител на 5 сутки после иммунизации, но и их поддержанию на более высоком уровне по сравнению с контролем на 10 сутки исследований. Подобное действие оказывал и марганец во втором и третьем вариантах опытов.

Введение кобальта иммунизированным крысам способствовало увеличению титров антител на 5 сутки после инъекции антигена во втором и третьем вариантах опытов, в то время как в первом варианте достоверного различия между контрольной и опытной группами не было; на 10 сутки исследований в последнем случае уровень гемолизина не изменялся и существенно превышал контрольные показатели. Во втором и третьем вариантах опытов к 10 суткам после иммунизации содержание антител в крови опытных животных значительно уменьшалось и достоверного различия не выявлено.

Полученные в этих сериях данные, касающиеся эффекта вводимых микроэлементов на уровень гуморальных антител, соответствуют выявленному в предыдущих сериях опытов стимулирующему эффекту этих микроэлементов на клеточную реакцию в лимфоидной ткани при иммунизации.

Результаты наших исследований, изложенные в настоящей главе, показали, что дополнительное введение меди, марганца и кобальта в течение 4 дней в дозе 0,5 мг на 1 кг веса животных способствовало усилению иммунного ответа на инъекцию эритроцитов барана. При этом отмечалась более выраженная плазмоцитарная реакция, увеличение числа АОК в исследуемых органах и уровня антител в сыворотке крови.

По эффективности воздействия на формирование иммунного ответа микроэлементы различались между собой. Так, статистически достоверное увеличение всех исследуемых показателей по сравнению с контролем в большинстве случаев наблюдалось при введении меди и марганца. При введении кобальта стимулирующий эффект был ниже либо вообще отсутствовал.

Сопоставляя результаты опытов с применением меди и марганца по данным плазмоцитарной реакции и содержанию АОК в лимфоидных образованиях, можно отметить, что в первом и во втором вариантах введения микроэлементов существенных различий по этим показателям не выявлено $/p > 0,05/$. Лишь в селезенке при введении марганца во втором варианте опытов число АОК было больше, чем в соответствующей группе крыс, которым вводили медь $/p < 0,05/$. В третьем варианте опытов при введении меди число зрелых плазмоцитов и содержание АОК в регионарных лимфатических узлах было больше, чем при введении марганца $/p < 0,05/$.

Анализ результатов опытов показывает, что при введении меди и марганца иммунизированным животным большее увеличение плазмоклеточной реакции было в селезенке, чем в лимфатических узлах.

В то же время со стороны регионарных лимфоузлов была более выраженная реакция в виде увеличения числа АОК.

Кобальт не оказывал преимущественного влияния на плазмочлеточную реакцию и содержание АОК ни в лимфоузлах, ни в селезенке.

Использование различных вариантов введения микроэлементов по отношению к инъекции антигена позволило получить следующие результаты.

При введении меди плазмочлеточная реакция усиливается во всех вариантах опытов. Однако в случае ее применения до иммунизации и в период индуктивной фазы иммуногенеза /I и II варианты/ наблюдалось преимущественное увеличение числа незрелых клеток; при введении меди в продуктивной фазе иммуногенеза в мазках отпечатках исследуемых лимфоидных образований преобладали зрелые плазматические клетки.

Полученные результаты собственных исследований показывают, что введение меди способствует скорейшему созреванию клеток плазмочлеточного ряда. Если микроэлемент вводили до антигенной стимуляции или сразу же после введения антигена /индуктивная фаза/, то ускорялось накопление молодых клеток; если медь вводили в индуктивной и в начале продуктивной фазы иммуногенеза, то увеличивалось содержание зрелых форм клеток.

Наряду с указанными изменениями плазмочлеточной реакции отмечались значительные различия в содержании АОК у животных опытных /введение меди/ и контрольных групп.

При сопоставлении результатов трех вариантов опытов можно отметить следующее. В регионарных лимфоузлах наблюдается тенденция нарастания числа АОК от первого к третьему варианту. В селе-

зенке несколько больший эффект получен в первом и третьем вариантах.

Указанные сдвиги в лимфоидной ткани при введении меди иммунизированным крысам соответствуют результатам исследования содержания специфических антител в крови. Дополнительно проведенные опыты показали, что на 5 сутки после иммунизации крыс, которым вводили медь, уровень антител значительно превышает контрольный /только иммунизированные животные/. Необходимо также отметить, что при введении меди титры антител поддерживаются на более высоком уровне по сравнению с данными контроля и на 10 сутки после иммунизации. Наблюдалась тенденция увеличения титров гемолизинов от первого к третьему варианту опытов, что совпадало с усилением плазматизации лимфоузлов и увеличением содержания в них АОК.

Полученные данные свидетельствуют о том, что больший эффект наблюдается при введении меди в индуктивную фазу иммуногенеза.

Суммируя результаты изучения плазмоцитарной реакции и содержание АОК в регионарных лимфоузлах и селезенке, а также уровня антител в сыворотке крови крыс, которым вводили марганец, можно констатировать следующее.

При введении марганца усиливалась плазмоцитарная реакция во всех вариантах опытов. Причем, увеличение содержания незрелых и зрелых плазматических клеток последовательно шло от первого к третьему варианту. Подобная тенденция наблюдалась и в отношении содержания АОК в лимфоидных образованиях.

Наряду с морфологическими изменениями отмечались сходные изменения в образовании гемолизинов у животных опытных групп.

Данные наших исследований показывают, что сроки введения марганца по отношению к инъекции антигена имеют определенное значение. Тенденция к усилению иммунного ответа наблюдалась от первого к третьему варианту опытов, и в последнем случае все показатели антителообразующей функции лимфоидной ткани были наиболее высокими по сравнению с данными контроля. Таким образом, в наших исследованиях выявлено, что марганец дает наибольший эффект при введении его после иммунизации.

При введении кобальта иммунизированным крысам не была получена столь выраженная стимуляция иммунного ответа, как в опытах с медью и марганцем.

При введении этого микроэлемента существенно не увеличивалось число АОК в лимфоидных образованиях.

Изучение содержания АОК в печени и почках, как в органах, накапливающих медь, марганец и кобальт, при парентеральном введении последних показало следующее. При введении меди, марганца и кобальта иммунизированным крысам в этих органах существенно увеличивается уровень АОК по сравнению с данными контрольных опытов. Как и в предыдущих исследованиях, несколько больший эффект стимуляции получен при введении меди и марганца, хотя кобальт также существенно повышал число АОК по сравнению с контролем.

Глава 1У

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ МЕДИ, МАРГАНЦА И КОБАЛЬТА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ

В этой главе представлены результаты исследований влияния микроэлементов на фагоцитарную активность макрофагов, полученных из перитонеального экссудата морских свинок и мышей.

1. Применение микроэлементов *in vitro*.

Исследование поглотительной функции макрофагов в контрольных опытах /без добавления в среду инкубации микроэлементов/ показало, что фагоцитарная активность /в %/ у морских свинок составила $30,6 \pm 3,3$, а фагоцитарное число - $0,40 \pm 0,01$; у мышей фагоцитарная активность - $31,2 \pm 2,28$, фагоцитарное число - $0,55 \pm 0,054$.

Добавление к инкубационной смеси солей микроэлементов оказывало, в основном, стимулирующее влияние на фагоцитоз макрофагов. Ниже приводятся результаты исследований с каждым микроэлементом в различных дозах.

М е д ь. Как видно из данных, представленных в таблице 13, добавление меди в среду инкубации способствовало существенному повышению фагоцитарной способности макрофагов /увеличивалась фагоцитарная активность и фагоцитарное число/.

При добавлении к опытным пробам меди в концентрации $0,01$ мг% фагоцитарная активность макрофагов морских свинок возросла на 77% по сравнению с контролем. Фагоцитарное число превышало данные контрольных исследований более, чем в $2,3$ раза. Подобные результаты были получены и в опытах с макрофагами мы-

шей. В этом случае наблюдалось повышение фагоцитарной активности на 42%, а фагоцитарного числа - в 1,4 раза по сравнению с контрольным уровнем.

С увеличением концентрации меди до 0,1 мг% не происходило повышения поглотительной способности макрофагов морских свинок по сравнению с результатами предыдущего опыта /процент активных клеток превышал контроль на 80%, а фагоцитарное число - в 2,3 раза/.

В то же время активность фагоцитоза макрофагов мышей повышалась при увеличении концентрации меди до 0,1 мг% как по сравнению с контрольными данными /фагоцитарная активность возрастала на 74%, фагоцитарное число - в 2 раза / $p < 0,001$ /, так и по сравнению с результатами опытов при концентрации меди 0,01 мг% / $p < 0,05$ /.

Дальнейшее увеличение концентрации меди до 1,0 мг% практически не приводило к повышению фагоцитоза макрофагов, полученных от морских свинок и мышей, по сравнению с результатами предыдущего опыта / $p > 0,05$ /.

Таблица 13

Влияние меди на поглотительную способность макрофагов х/

Концентрация меди в мг%	Показатели фагоцитоза			
	фагоцитарная активность		фагоцитарное число	
	M \pm m	p	M \pm m	p
	Перитонеальные макрофаги морских свинок			
0,01	54,2 \pm 3,4	<0,001	1,05 \pm 0,036	<0,001
0,1	55,4 \pm 3,2	<0,001	1,05 \pm 0,037	<0,001
1,0	56,0 \pm 1,34	<0,001	1,3 \pm 0,15	<0,001
контроль	30,6 \pm 3,4		0,4 \pm 0,01	
	Перитонеальные макрофаги мышей			
0,01	44,4 \pm 3,8	<0,001	0,8 \pm 0,16	<0,01
0,1	54,4 \pm 2,8	<0,001	1,14 \pm 0,08	<0,001
1,0	52,4 \pm 2,6	<0,001	1,1 \pm 0,09	<0,001
контроль	31,2 \pm 2,28		0,55 \pm 0,054	

х/ Здесь и в таблицах 14, 15 р вычисляли методом прямых разностей.

Таким образом, медь в концентрации 0,01 - 1,0 мг% оказывает стимулирующее влияние на поглотительную функцию макрофагов. При этом в опытах с макрофагами морских свинок изменение концентрации микроэлемента в указанных пределах не оказывало существенного влияния на активность фагоцитоза. Подобные результаты были получены в опытах с макрофагами мышей при изменении концентрации меди от 0,1 до 1,0 мг%. Увеличение концентрации микроэлемента от 0,01 мг% до 0,1 мг% сопровождалось статистически достоверным повышением показателей фагоцитоза макрофагов у данного вида животных / $p < 0,05$ /.

М а р г а н е ц. Введение в инкубационную среду марганца также приводило к повышению активности фагоцитоза перитонеальных макрофагов морских свинок и мышей /таблица 14/. Однако уровень этого повышения был не столь выраженным, как в опытах с медью.

Так, при добавлении марганца к пробам в концентрации 0,01 мг% фагоцитарная активность макрофагов морских свинок возрастала на 50%, а фагоцитарное число - в 2,7 раза по сравнению с контролем

= Повышение показателей активности фагоцитоза мышей хотя и имело место, но статистически было недостоверным / $p > 0,05$ /.

При увеличении концентрации марганца до 0,1 мг% также отмечалось усиление поглотительной способности макрофагов морских свинок по сравнению с результатами контрольных исследований. Однако показатели фагоцитоза были несколько ниже, чем в предыдущем опыте /концентрация меди 0,01 мг%/ . Фагоцитарная активность повышалась на 36%, фагоцитарное число - в 2,1 раза.

Активность фагоцитоза макрофагов мышей при увеличении содержания марганца в среде инкубации до 0,1 мг%, наоборот, возрастала значительно больше по сравнению с предыдущим опытом. Так, фагоци-

тарная активность превышала данные контроля на 34%, фагоцитарное число - в 1,4 раза.

При введении микроэлемента в концентрации 1,0 мг% уровень активности фагоцитоза существенно увеличивался по сравнению с контролем. Показатель фагоцитарной активности макрофагов морских свинок возрастал на 45%, а фагоцитарное число - в 2,4 раза.

Фагоцитарная активность макрофагов мышей была примерно такой же, как и у морских свинок /превышение контроля на 42%/ , фагоцитарное число возрастало по сравнению с контролем в 1,7 раза.

Таблица 14

Влияние марганца на поглотительную способность макрофагов

Концентрация марганца в мг%	Показатели фагоцитоза			
	фагоцитарная активность		фагоцитарное число	
	М ± m	p	М ± m	p
Перитонеальные макрофаги морских свинок				
0,01	46,0 ± 4,2	<0,01	1,1 ± 0,01	<0,001
0,1	40,6 ± 2,72	<0,05	0,86 ± 0,08	<0,001
1,0	44,4 ± 3,0	<0,01	0,97 ± 0,14	<0,05
контроль	30,6 ± 3,4		0,4 ± 0,01	
Перитонеальные макрофаги мышей				
0,01	38,0 ± 7,8	>0,05	0,7 ± 0,19	>0,05
0,1	42,0 ± 3,0	<0,01	0,8 ± 0,1	<0,02
1,0	44,4 ± 4,8	<0,02	0,97 ± 0,026	<0,001
контроль	31,2 ± 2,28		0,55 ± 0,05	

Таким образом, марганец в концентрации 0,01 - 1,0 мг% повышает поглотительную способность перитонеальных макрофагов морских свинок и мышей. Следует отметить, что изменение концентрации микроэлемента в указанных пределах не оказывало существенного влияния на показатели активности фагоцитоза макрофагов морских свинок

нок. В то же время в опытах с макрофагами мышей при увеличении концентрации марганца наблюдается тенденция к повышению активности фагоцитоза.

К о б а л ь т. Кобальт так же, как медь и марганец, при введении в среду инкубации повышает уровень фагоцитоза макрофагов по сравнению с контрольными данными /таблица 15/. Причем, степень этого повышения остается равнозначной при изменении концентрации микроэлемента от 0,01 мг% до 1,0 мг%.

Так, в опытах с макрофагами морских свинок при введении кобальта в концентрации 0,01 мг% и 1,0 мг% показатель фагоцитарной активности возрастал на 38%, а фагоцитарное число - в 2,2 раза. При введении кобальта в концентрации 0,1 мг% фагоцитарная активность превышала контроль на 46%, фагоцитарное число - в 2,6 раза.

Примерно такая же картина наблюдалась и в опытах с макрофагами мышей. При концентрации микроэлемента 0,01 мг% и 0,1 мг% средние цифры показателя фагоцитарной активности превышали контрольный уровень соответственно на 36% и 34%, фагоцитарное число - в 1,5 раза и в 1,4 раза. При введении кобальта в концентрации 1,0 мг% фагоцитарная активность возрастала на 23%, фагоцитарное число - в 1,5 раза по сравнению с контрольными исследованиями.

Таблица 15

Влияние кобальта на поглотительную способность макрофагов

Концентрация кобальта в мг%	Показатели фагоцитоза			
	фагоцитарная активность		фагоцитарное число	
	M ± m	p	M ± m	p
Перитонеальные макрофаги морских свинок				
0,01	42,0 ± 4,52	< 0,05	0,88 ± 0,15	< 0,01
0,1	44,8 ± 4,2	< 0,02	1,05 ± 0,2	< 0,01
1,0	42,8 ± 3,2	< 0,02	0,96 ± 0,15	< 0,001
контроль	30,6 ± 3,4		0,4 ± 0,01	
Перитонеальные макрофаги мышей				
0,01	42,6 ± 4,1	< 0,02	0,84 ± 0,12	< 0,05
0,1	43,0 ± 4,3	= 0,02	0,8 ± 0,12	< 0,05
1,0	38,4 ± 7,2	< 0,05	0,84 ± 0,16	< 0,05
контроль	31,2 ± 2,28		0,55 ± 0,054	

2. Применение микроэлементов *in vivo*.

Нами проведены также исследования по изучению поглотительной функции перитонеальных макрофагов при введении меди, марганца и кобальта *in vivo*.

В опытах использовано 37 мышей /сва C57BL/F₁. Микроэлементы вводили подкожно из расчета 0,05 мг на 100 г веса животного в течение четырех дней. Все животные были разделены на 4 группы. 1 группе мышей вводили медь, 2 - марганец, 3 - кобальт, 4 группа - контрольные мыши, которым микроэлементы дополнительно не вводили.

Исследования показали, что при дополнительном введении меди, марганца и кобальта *in vivo* фагоцитарная активность макрофагов мышей существенно увеличивается по сравнению с контролем. Так,

в группе животных, которым вводили медь, показатель фагоцитарной активности был выше, чем в контроле на 72%, а фагоцитарное число - на 50%.

При введении мышам марганца также увеличиваются показатели фагоцитоза макрофагов по сравнению с контрольными результатами. Так, уровень фагоцитарной активности возрастает на 35%, а фагоцитарное число - на 43%.

При введении кобальта фагоцитарная активность макрофагов превышала контрольный уровень на 22%, а фагоцитарное число - на 37%.

Таблица 16

Поглотительная способность макрофагов мышей при дополнительном введении им микроэлементов меди, марганца и кобальта.....

Показатели фагоцитоза	контроль		медь		марганец		кобальт	
	M	±	M	±	M	±	M	±
Фагоцитарная активность /в %/	27,0	± 1,5	46,4	± 1,26	35,6	± 1,45	33,0	± 1,7
			$p < 0,001$		$p < 0,001$		$p < 0,05$	
Фагоцитарное число	0,57	± 0,004	0,86	± 0,07	0,82	± 0,05	0,74	± 0,04
			$p < 0,001$		$p < 0,001$		$p < 0,001$	

Как видно из приведенных данных, показатель фагоцитарной активности в группе мышей, получавших медь, был больше, чем в группе животных, которым вводили марганец / $p < 0,05$ /. В то же время по фагоцитарному числу существенного различия не выявлено / $p > 0,05$ /. То же самое обнаруживается при сравнении данных животных, получавших медь и получавших кобальт. Показатель активности фагоцитоза в условиях введения меди существенно больше / $p < 0,05$ /. Подобное различие отмечалось между группами, получавшими марганец и кобальт / $p < 0,05$ /.

Следовательно, по эффективности воздействия на фагоцитоз макрофагов в данных опытах микроэлементы можно расположить в следующем порядке: медь, марганец и кобальт.

х х

х

Результаты наших опытов показали, что медь, марганец и кобальт повышают поглотительную способность перитонеальных макрофагов. Причем, это свойство обнаруживается в опытах *in vitro* и *in vivo*.

Сопоставляя данные, полученные в опытах с использованием различных доз микроэлементов, следует отметить, что в подавляющем большинстве случаев изменение концентрации микроэлементов от 0,01 мг% до 1,0 мг% не оказывало существенного влияния на показатели активности фагоцитоза.

В опытах *in vitro* в пределах указанных концентраций медь оказывала больший эффект на поглотительную способность макрофагов, чем марганец и кобальт. Существенных различий между действием марганца и кобальта не выявлено. В опытах *in vivo* наибольший стимулирующий эффект также оказывала медь.

Сравнительный анализ результатов опытов с макрофагами морских свинок и мышей показал, что существенных различий в реакции клеток, полученных от разных видов животных, на введение того или иного микроэлемента не имеется.

Г л а в а У

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН ЛИЗОСОМ КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ

Результаты наших опытов, описанные в предыдущих главах, показали, что микроэлементы медь, марганец и кобальт обладают стимулирующим влиянием на иммуногенез. Установлено также, что указанные микроэлементы повышают фагоцитоз макрофагов, являющийся одним из важных этапов формирования иммунного ответа.

Основываясь на данных литературы о роли лизосом лимфоидных клеток в процессах иммуногенеза, нами были проведены исследования, целью которых явилось выяснить, не связан ли стимулирующий эффект микроэлементов на антителообразование с их действием на проницаемость лизосомальных мембран лимфоидной ткани.

Опыты были проведены на мышах / СВА X С57BL/F₁, являющихся хорошими продуцентами антител /Р.В.Петров, 1970/.

Ниже приведены результаты опытов с каждым из указанных микроэлементов. В каждом опыте исследованию влияния микроэлементов на активность кислой фосфатазы предшествовали контрольные опыты, в которых определяли общую, свободную и связанную активность фермента.

М е д ь. Общая активность кислой фосфатазы после воздействия на гомогенат селезенки детергентом тритоном X-100 составила $67,7 \pm 6,4$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка, что было принято за 100% активности фермента /таблица 17/. В контрольных опытах свободная активность, то есть активность фермента, не связанная с мембранными структурами, составила $38,2 \pm 2,8$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка. Соотношение свободная/общая активность кислой фосфатазы было равно 56,4%.

Влияние меди на проницаемость лизосомальных мембран
клеток селезенки

Форма активности	Активность кислой фосфатазы в мкмоль р-нитрофенола / мин на 1 мг белка			
	контроль	при введении микроэлемента / в ммоль /		
		0,01	0,1	1,0
свободная	38,2 [±] 2,8	40,2 [±] 2,4 p > 0,5	43,2 [±] 2,3 p > 0,05	45,9 [±] 2,0 p < 0,02
общая	67,7 [±] 6,4	67,7 [±] 6,4	67,7 [±] 6,4	67,7 [±] 6,4
свободная / общая / в % /	56,4	59,4	63,8	67,7

При добавлении в гомогенат ионов Cu^{++} общая активность кислой фосфатазы не изменялась. При этом концентрация меди 0,01 ммоль не оказывала влияния на проницаемость мембран лизосом, о чем свидетельствует незначительное изменение процентного соотношения свободная/общая активность: 58,4%.

Прединкубация гомогената с катионами Cu^{++} в конечной концентрации 0,1 ммоль приводила к некоторому увеличению свободной формы активности /43,2[±]2,3 мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка/, что способствовало повышению показателя соотношения свободная/общая активность: 63,8%. Однако статистически достоверного различия не выявлено /p > 0,5/.

Увеличение конечной концентрации меди до 1,0 ммоль приводило к значительному изменению проницаемости мембран в сторону лабильности, что проявлялось в виде увеличения процентного состава свободной активности исследуемого фермента: 67,7% /p < 0,02/.

Таким образом, результаты наших опытов свидетельствуют о том, что медь в концентрациях 0,01 мМ, 0,1 мМ, 1,0 мМ практически не влияет на активность кислой фосфатазы в условиях разрушения

мембранных структур лизосом клеток селезенки детергентом тритоном X-100. Однако, следует отметить, что функциональное состояние лизосомальных мембран изменяется /увеличивается проницаемость/ под влиянием катионов меди в сторону лабильзации, о чем свидетельствует обнаруженное в наших опытах повышение процентного содержания свободной активности фермента при условии добавления в среду инкубации микроэлемента меди.

Причем эти изменения находятся в определенной зависимости от концентрации Cu^{++} . С увеличением концентрации меди в исследуемых пробах увеличивалась проницаемость мембранных структур.

М а р г а н е ц. В условиях добавления детергента тритона X-100 общая активность кислой фосфатазы в данной серии опытов составила $76,4 \pm 3,5$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка. В контрольных пробах свободная форма активности равнялась $38,3 \pm 2,9$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка, а соотношение свободная/общая активность фермента - 51,3%, что было близко к результатам предыдущей серии опытов /таблица 18/.

Таблица 18

Влияние марганца на проницаемость лизосомальных мембран клеток селезенки

Форма активности	Активность кислой фосфатазы в мкмоль р/нитрофенола/мин на 1 мг белка			
	контроль	при введении микроэлементов /в ммоль/		
		0,01	0,1	1,0
свободная	$38,3 \pm 2,9$	$40,1 \pm 1,1$ $p > 0,5$	$41,0 \pm 1,2$ $p > 0,2$	$46,2 \pm 3,0$ $p < 0,05$
общая	$76,4 \pm 3,5$	$76,4 \pm 3,5$	$76,4 \pm 3,5$	$76,4 \pm 3,5$
свободная/ общая /в %	51,3%	52,5%	54,9%	60,6%

Так же, как в опытах с медью, общая активность кислой фосфатазы при добавлении катионов марганца не изменялась.

При введении в прединкубационную среду катионов Mn^{++} в конечной концентрации 0,01 ммоль не было выявлено изменений в содержании свободной активности кислой фосфатазы. Так, соотношение свободная/общая активность составило 52,5%, что достоверно не отличалось от результатов контрольных опытов / $p > 0,5$ /.

При повышении концентрации марганца до 0,1 ммоль отмечалась тенденция к увеличению свободной формы активности / $41,0 \pm 1,2$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка/, что свидетельствует о лабильности мембран лизосом. Однако, различия с контрольными данными были незначительны / $p > 0,2$ /.

Добавление к гомогенату ионов Mn^{++} в конечной концентрации 1,0 ммоль приводило к существенному увеличению свободной формы активности кислой фосфатазы. Соотношение свободная/общая активность фермента составило 60,6% / $p < 0,05$ /.

Таким образом, ионы марганца, так же как и меди, не изменяют общую активность кислой фосфатазы клеток селезенки при разрушении мембранных образований тритоном X-100. Однако, в присутствии катиона Mn^{++} изменяется функциональное состояние мембран лизосом, что проявляется в увеличении соотношения свободная/общая активность. Повышение проницаемости мембран зависит от содержания Mn^{++} в гомогенате. Так, при концентрации ионов Mn^{++} 0,01 мм свободная форма активности не изменялась по сравнению с контролем; при концентрации 0,1 мм наблюдается тенденция к увеличению свободной активности кислой фосфатазы и при концентрации 1,0 мм свободная форма фермента существенно увеличивалась.

К о б а л ь т. В контрольных опытах при добавлении детергента тритона X-100 активность кислой фосфатазы достигала $71,8 \pm 3,4$ мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка. Свободная форма активности равнялась $39,2 \pm 2,36$ мкмоль р-нитрофенола/мин на

1 мг белка. В процентном отношении свободная форма активности составляла 54,5% от общей активности /таблица 19/.

Таблица 19

Влияние кобальта на проницаемость лизосомальных мембран клеток селезенки

Форма активности	Активность кислой фосфатазы в мкмоль р-нитро-фенола/мин на 1 мг белка			
	контроль	при введении микроэлемента /в ммолях/		
		0,01	0,1	1,0
свободная	39,2 [±] 2,36	44,3 [±] 3,3 p > 0,05	44,9 [±] 3,5 p > 0,05	51,2 [±] 2,5 p < 0,01
общая	71,8 [±] 3,4	71,8 [±] 3,4	71,8 [±] 3,4	71,8 [±] 3,4
свободная/ общая /в %/	54,5%	61,7%	62,5%	71,5%

Добавление катионов кобальта к исследуемым пробам дало следующие результаты. Во всех опытах кобальт не оказывал влияния на общую активность кислой фосфатазы.

В конечной концентрации 0,01 ммоля кобальт не вызывал существенного действия на проницаемость мембранных структур. Статистически значимой разницы между свободной формой активности фермента в контроле /54,5%/ и опыте /61,7%/ не было выявлено /p > 0,05/.

При увеличении концентрации кобальта в среде прединкубации 0,1 ммоля также отмечалась лишь тенденция к увеличению процентного содержания свободной формы активности, которая составила 71,5%.

При концентрации кобальта 1,0 ммоля содержание свободной формы активности существенно увеличивалось /51,2[±]2,5 мкмоль р-нитрофенола/мин на 1 мг белка/ по сравнению с контрольными

данными $/p < 0,01/$. В процентном отношении к общей активности фермента свободная форма равнялась 71,%.

Таким образом, кобальт не оказывает существенного влияния на активность кислой фосфатазы клеток селезенки в условиях разрушения мембранных структур детергентом тритоном X-100. Однако, данный катион изменяет проницаемость лизосомальных мембран. Причем, эффект лабильзации зависит от концентрации кобальта в пробах. Наши опыты показали, что с увеличением концентрации катиона от 0,01 мМ к 1,0 мМ увеличивается проницаемость мембран.

х х

х

Суммируя результаты исследований, описанных в настоящей главе, необходимо отметить следующее. Микроэлементы медь, марганец и кобальт при добавлении к гомогенату клеток селезенки *in vitro* не оказывали влияния на активность кислой фосфатазы в условиях разрушения мембранных структур детергентом /общая активность фермента/. В то же время указанные катионы способны лабильзовать мембраны лизосом, что приводило к увеличению свободной формы активности кислой фосфатазы. Причем эффект лабильзации зависел от концентрации исследуемых ионов и усиливался с повышением содержания последних в прединкубационной среде. Наибольшее лабильзирующее влияние все микроэлементы оказывали в концентрации 1,0 ммоль. При указанной концентрации катионов наиболее выраженное действие оказывал кобальт, несколько меньшее - медь и марганец. Однако, при сопоставлении этих результатов /с учетом исходных величин/ существенной разницы между ними не выявлено $/p > 0,05/$.

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ПРОЦЕСС ТРАНСФОРМАЦИИ
ЛИМФОЦИТОВ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

В настоящей главе представлены результаты исследования влияния микроэлементов на способность лимфоцитов трансформироваться в бластные и другие клетки в культуре тканей. Исследования были проведены на культурах лимфоцитов, полученных от практически здоровых лиц, и на культурах лимфоцитов, полученных от больных ревматизмом. Учитывая существующее представление о ревматизме, как о заболевании, при котором имеют место выраженная аутосенсibilизация и аллергические процессы /В.И.Иоффе, 1962; А.И.Струков, 1962; И.М.Лямперт, 1972/, одними из носителей которых являются лимфоциты, последние были использованы в наших исследованиях как модель "сенсibilизированных" лимфоцитов для изучения влияния микроэлементов на процесс трансформации именно таких клеток с измененной иммунологической потенцией.

Исследования были проведены на культурах лимфоцитов, полученных у 11 здоровых лиц и у 29 больных ревматизмом.

1. Влияние микроэлементов на трансформацию
лимфоцитов здоровых лиц.

Результаты исследований трансформации лимфоцитов здоровых лиц в культуре ткани представлены в таблице 20. Как видно из таблицы, в монокультуре без стимуляции содержание нетрансформированных лимфоцитов /фото 5/ составляло значительный процент от всего числа подсчитанных мононуклеаров / $41,3 \pm 4,7\%$ /. Остальное число клеток приходилось на долю трансформированных форм. Причем большая часть из них представлена макрофагами - $40,0 \pm 3,7\%$ /фото 6/.

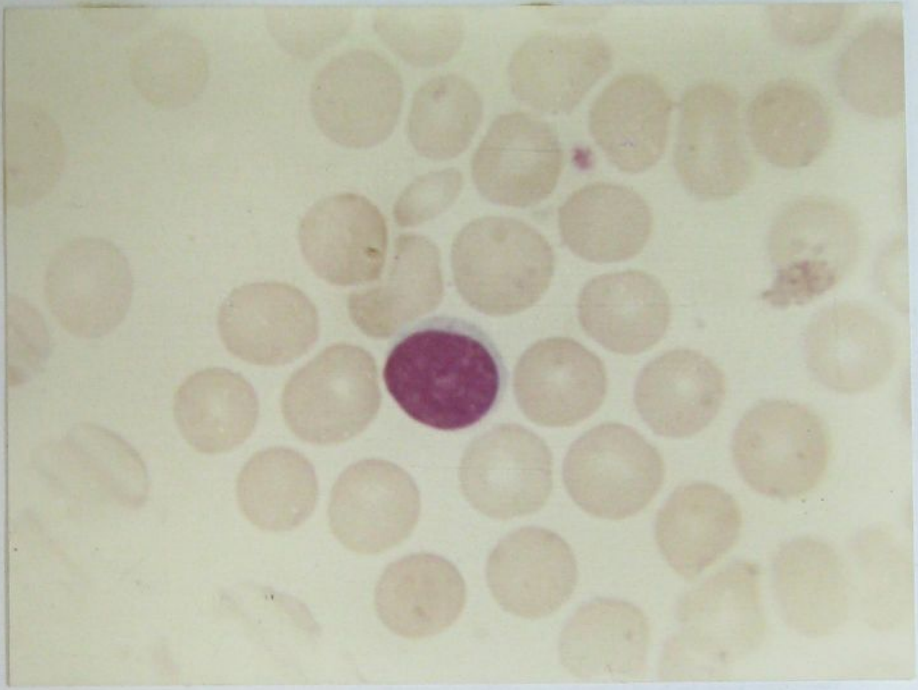


Фото 5. Малый лимфоцит в мазке из 6-суточной культуры лимфоцитов периферической крови. Окраска по Романовскому-Гимза. х 1200.

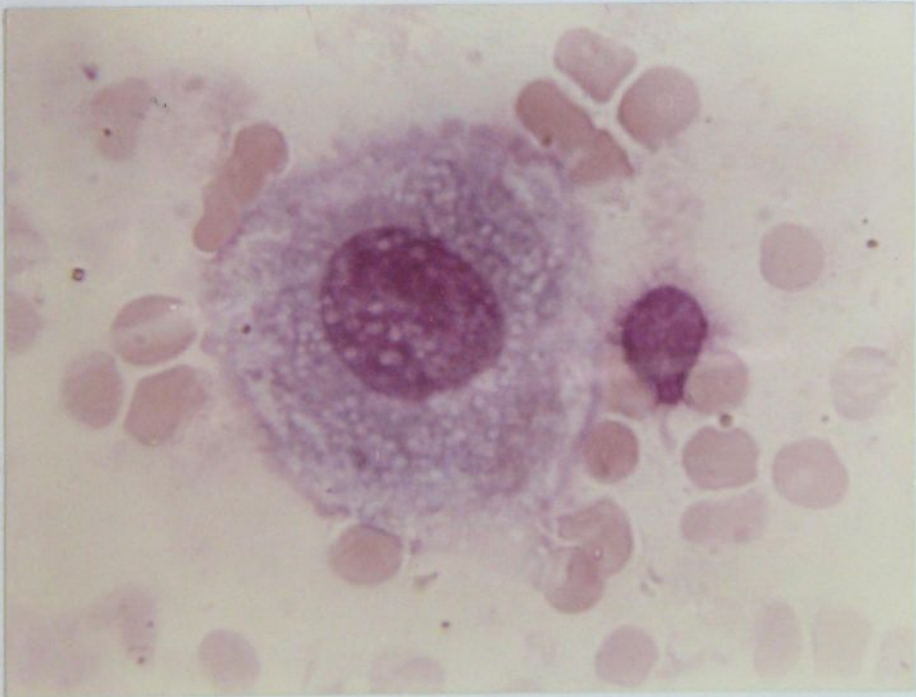


Фото 6. Макрофаг в мазке из 6-суточной культуры лимфоцитов периферической крови. Окраска по Романовскому-Гимза. х1200.

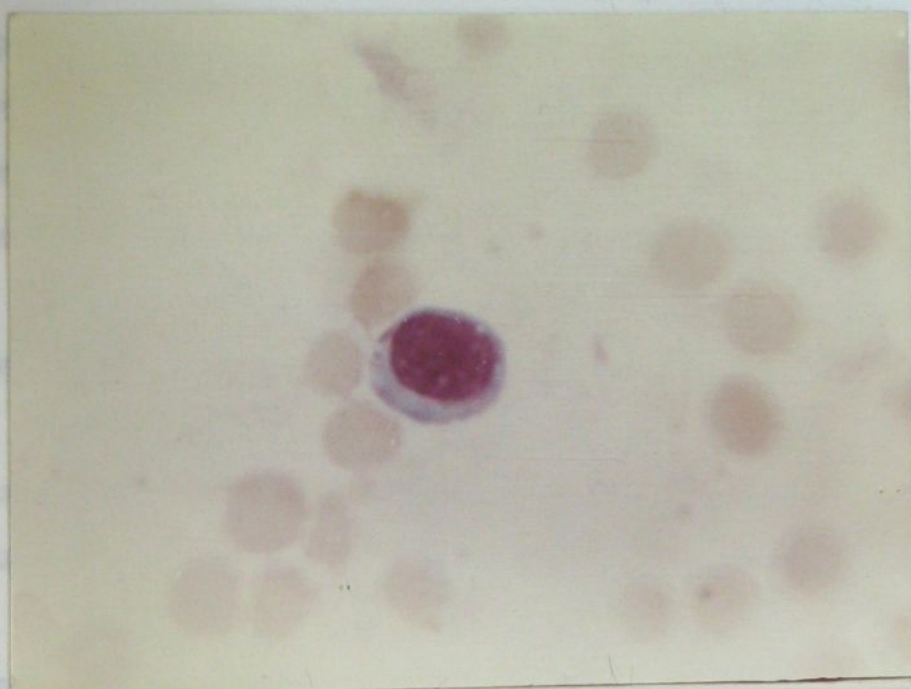


Фото 7. Переходная клетка бластного типа в мазке из 6-суточной культуры лимфоцитов периферической крови. Окраска по Романовскому-Гимза. x 1200.

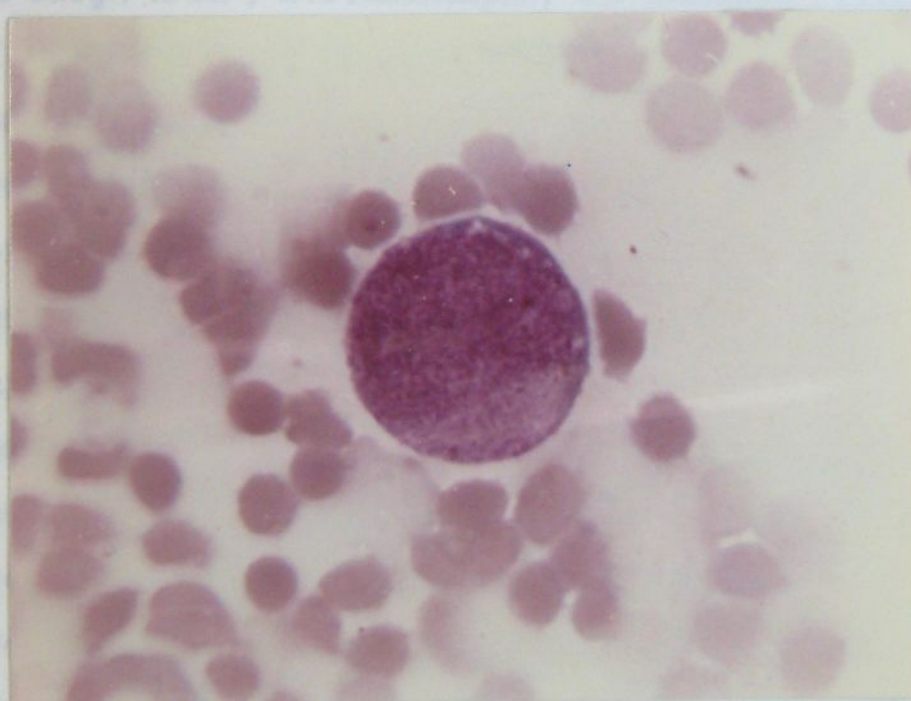


Фото 8. Бластная клетка в мазке из 6-суточной культуры лимфоцитов периферической крови. Окраска по Романовскому-Гимза x 1200.

Переходные клетки бластного ряда составляли $18,9 \pm 2,6\%$. Следует отметить, что основная масса последних состояла из начальных форм трансформированных клеток /фото 7/. У них еще нет выраженной базофилии цитоплазмы, четко очерченных ядрышек и других признаков, которые позволяют отнести клетки к типичным бластам.

Бластные формы в данных условиях культивирования нами не наблюдались.

Следует также подчеркнуть, что к 6 суткам культивирования гранулоциты полностью дегенерируют и в препаратах не встречаются.

Таким образом, в монокультуре нормальных лимфоцитов отсутствует реакция бласттрансформации; основная масса трансформированных форм клеток представлена макрофагами. Эти данные согласуются с результатами работ Н.И.Брауде и Л.И.Гольдман /1967/, M. Elvez et al., /1963/, И.Т.Миансарян, Э.Р.Палинян /1970/, Б.Г.Аветикян, Т.А.Демченко /1970/.

При стимуляции лимфоцитов ФГА процентное содержание малых лимфоцитов резко уменьшается и составляет $3,3 \pm 0,58\%$ / $p < 0,001$ /. Существенно снижается также и число макрофагов / $13,6 \pm 2,2\%$ / по сравнению с данными контроля / $p < 0,001$ /.

Наряду с этим значительно возрастает содержание клеток, трансформирующихся по бластному типу. Число переходных форм клеток составляло $30,7 \pm 2,9\%$ / $p < 0,05$ /. Основная же масса клеток представлена типичными бластами / $51,3 \pm 2,9\%$ / /фото 8/. Появляются также митотически делящиеся клетки / $1,0 \pm 0,31\%$ /.

Таким образом, под влиянием неспецифического стимулятора ФГА в наших условиях опыта основная часть клеток исходного пула лимфоцитов /82 %/ трансформируется по бластному типу, что

Таблица 20

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ МЕДИ, МАРГАНЦА И КОВАЛЬТА НА ПРОЦЕСС
ТРАНСФОРМАЦИИ НОРМАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ,
ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ЗДОРВЫХ ЛИЦ

	малые лимфоциты	макрофаги	переходные клетки	бласты	митозы
	М ± м	М ± м	М ± м	М ± м	М ± м
монокультура	41,3 [±] 4,7	40,0 [±] 3,7	18,9 [±] 2,6	-	-
А	3,3 [±] 0,58	13,6 [±] 2,2	30,7 [±] 3,0	51,3 [±] 2,9	1,0 [±] 0,3
	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,001
медь /конц. 0,1 мг%	22,2 [±] 2,4	43,1 [±] 3,7	33,7 [±] 4,2	1,04 [±] 0,52	-
	p < 0,02	p > 0,5	p < 0,01	p < 0,01	-
марганец конц. 0,1 мг%/	24,6 [±] 4,0	43,4 [±] 7,2	32,3 [±] 4,9	-	-
	p < 0,01	p > 0,5	p < 0,05	-	-
кобальт конц. 0,1 мг%/	16,9 [±] 2,1	53,3 [±] 5,6	29,0 [±] 4,0	0,6 ± 0,4	-
	p < 0,01	p > 0,05	p < 0,05	p < 0,01	-

согласуется с данными многочисленных исследователей, изучавших ФГА-бласттрансформацию нормальных лимфоцитов людей и млекопитающих животных /см. обзоры Р.Линга, 1971; Л.И.Черткова и А.И.Фриденштейна, 1968; Н.И.Брауде, 1969/.

При введении в культуру лимфоцитов микроэлементов наблюдались изменения в морфологическом составе клеточной популяции по сравнению с монокультурой. Так, при добавлении меди в концентрации 0,1 мг% содержание малых лимфоцитов снижалось по сравнению с контролем /монокультура/ почти в 2 раза /p < 0,02/. Параллельно увеличивался состав трансформированных клеток. Чис-

ло переходных в бласты клеток возрастало до $30,7 \pm 3,0\%$ /при $18,9 \pm 2,6\%$ в контроле, $p < 0,05/$. В незначительном количестве встречаются также типичные бласты $1,04 \pm 0,52\%$. Содержание макрофагов практически не изменяется $/p > 0,5/$.

При добавлении к среде культивирования марганца в концентрации $0,1 \text{ мкг}$ наблюдалась аналогичная картина. Содержание малых лимфоцитов снижалось существенно по сравнению с контролем $/p < 0,001/$. Одновременно возрастало число переходных клеток $/32,3 \pm 4,9\%$, $p < 0,01/$. Однако, в отличие от опытов, где в среду культивирования вводили медь, типичные бластные клетки не встречаются. Существенно не изменяется число макрофагов $/43,4 \pm 7,2\%$ по сравнению с контролем $/p > 0,5/$.

В опытах с введением в среду культивирования кобальта в концентрации $0,1 \text{ мкг}$ были получены сходные результаты. На фоне значительного снижения процентного содержания малых лимфоцитов $/p < 0,001/$ отмечалось усиление реакции трансформации. Причем направленность процесса идет по макрофагальному и бластному типу. Средние показатели содержания макрофагов возрастают от $40,0 \pm 3,7\%$ в контроле до $53,3 \pm 5,6\%$ в культуре с добавлением кобальта. Однако из-за большой вариабельности показателей в опытной группе статистически достоверного различия не выявлено $/p > 0,05/$. Увеличение числа переходных форм клеток существенно по сравнению с данными контроля $/p < 0,05/$. Следует также отметить, что, как и в опытах с медью, встречаются в препаратах типичные бласты $0,6 \pm 0,4\%$.

Анализ полученных результатов показал, что при добавлении к культурам нормальных лимфоцитов периферической крови меди, марганца и кобальта в концентрации $0,1 \text{ мкг}$ наблюдается снижение процентного содержания малых лимфоцитов и увеличение числа переход-

ных форм клеток. При этом уровень макрофагов практически не отличался от контрольного.

Сопоставляя результаты культивирования лимфоцитов с ФГА и с микроэлементами, можно отметить, что в первом случае подавляющее число из всех подсчитанных клеток составляют клетки бластного типа /82%/; во втором случае средние показатели реакции бластотрансформации колебались в пределах 30%; основная же часть клеток трансформируется в макрофаги и 20% составляют малые лимфоциты.

2. Влияние микроэлементов на трансформацию "сенсibilизированных" лимфоцитов

Показатели трансформации "сенсibilизированных" лимфоцитов в монокультуре и при добавлении различных стимуляторов представлены в таблицах 21, 22, 23, 24.

В монокультуре "сенсibilизированных" лимфоцитов /таблица 21/ содержание нетрансформированных клеток составляло $30,8 \pm 2,7\%$ и было достоверно ниже, чем в соответствующих условиях культивирования нормальных лимфоцитов / $p < 0,05$ /. Следовательно, у больных ревматизмом выявляется повышенная спонтанная трансформация лимфоцитов. Причем, отмечается тенденция к увеличению процентного состава и макрофагов и переходных форм клеток. Однако, в отличие от культур нормальных лимфоцитов, в данных условиях появляются типичные бластные клетки и митозы. Значительная часть переходных клеток имеет сравнительно выраженную базофильную цитоплазму с цитоплазматическими выпячиваниями, иногда встречаются вакуоли. Ядро гиперхромное, имеются четко выраженные ядрышки. То есть, данные клетки больше приближаются к типичным бластам.

Таблица 21

РЕАКЦИЯ ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ В МОНОКУЛЬТУРАХ БЕЗ СТИМУЛЯТОРОВ
И ПРИ ДОБАВЛЕНИИ Ф Г А

	малые лимфоциты	макрофаги	переходные клетки	бласты	митозы
	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m
Монокультура	30,8 [±] 2,7	47,0 [±] 3,2	21,5 [±] 2,0	0,5 [±] 0,12	0,16 [±] 0,06
Культура с добавлением Ф Г А	6,55 [±] 0,96	23,0 [±] 3,4	28,8 [±] 3,2	41,2 [±] 3,1	0,57 [±] 0,11
	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,01

В ФГА-культурах "сенсibilизированных" лимфоцитов периферической крови содержание малых лимфоцитов существенно снижается по сравнению с контролем /монокультура без стимуляторов/. Параллельно снижается процент клеток макрофагального ряда /p < 0,01/. Число клеток бластного типа увеличивается. Количество переходных форм возрастает до 28,8[±]3,2% /p < 0,05/. Особенно выражено увеличение числа бластов /41,2[±]3,1% / при p < 0,001/, которые составляют преобладающую массу клеток.

Таким образом, в ответ на введение в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов ФГА наблюдается усиление реакции трансформации по сравнению с контролем. Однако, в отличие от ФГА-культур нормальных лимфоцитов, данная реакция менее выражена, что проявляется в снижении процентного состава клеток бластного ряда. Особенно отчетливая разница наблюдается по содержанию бластов /p < 0,05/. Отмечается также тенденция к уменьшению числа митозов.

Представленные выше результаты исследований согласуются

с данными ряда авторов, изучавших реакцию бласттрансформации у здоровых лиц и у больных ревматизмом /М.Бабянскас с соавт., 1968; В.П.Лозовой с соавт., 1970; А.М.Борисова, С.М.Рачков, 1972/.

Введение в культуру лимфоцитов меди также приводило к реакции трансформации лимфоцитов. Однако, направленность процесса отличалась от наблюдаемых превращений в контрольных культурах без стимуляторов и в ФГА-культурах. Характер обнаруженных изменений в большой мере определялся дозой микроэлементов /таблица 22/.

Таблица 22

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТА МЕДИ НА ПРОЦЕСС ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ

	монокультура без стимуляторов	Ф Г А	Медь/конц. 0,1 мг%/	Медь/конц. 1,0 мг%/	Медь /конц. 0,1 мг% + ФГА
	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m
Мелкие лимфоциты	37,3 ± 4,1	5,4 ± 1,4 p < 0,001	19,8 ± 2,0 p < 0,01	22,0 ± 4,3 p = 0,05	3,7 ± 2,6 p < 0,001
Макрофаги	40,7 ± 4,9	25,8 ± 1,8 p < 0,01	48,0 ± 5,8 p < 0,01	42,8 ± 8,9 p > 0,2	39,3 ± 3,1 p > 0,2
Переходные клетки	20,6 ± 3,0	27,3 ± 4,3 p > 0,2	29,0 ± 4,1 p < 0,05	34,5 ± 6,3 p < 0,001	27,6 ± 3,6 p > 0,2
Пласты	0,60 ± 0,11	41,0 ± 5,1 p < 0,001	0,9 ± 0,3 p > 0,5	0,5 ± 0,09 p > 0,5	27,3 ± 4,7 p < 0,01
Литозы	0,07 ± 0,011	0,32 ± 0,01 p < 0,001	0,34 ± 0,01 p < 0,05	0,09 ± 0,01 p < 0,05	0,1 ± 0,01 p > 0,5

При сравнении результатов морфологического исследования клеток монокультур и культур с добавлением меди отмечается следующее. Введение меди в концентрации 0,1 мг% способствовало

снижению числа малых лимфоцитов $/p < 0,001/$ и увеличению процентного содержания макрофагов $/p < 0,01/$, а также клеток бластного типа $/p < 0,05/$ и митотических делящихся клеток $/p < 0,05/$.

При введении меди в концентрации 1,0 мг% так же, как и в предыдущем случае, снижается содержание исходных форм всего пула лимфоцитов по сравнению с контрольными данными $/p < 0,05/$.

Трансформация лимфоцитов идет в переходные клетки $/p < 0,001/$.

Статистически достоверно увеличивается число митотически делящихся клеток $/p < 0,05/$, хотя со стороны бластов сдвигов нет.

Количество макрофагов практически не изменяется $/p > 0,2/$.

Интересные данные были получены при одновременном введении в культуру лимфоцитов ФГА и меди в концентрации 0,1 мг%. Содержание малых лимфоцитов существенно снижалось по сравнению с контролем $/p < 0,001/$ и было даже ниже, чем в ФГА-культурах $/p < 0,05/$. Процент макрофагов не изменялся по сравнению с контролем /монокультура/, но был ниже, чем в ФГА-культурах $/p < 0,05/$. Отмечается тенденция к увеличению числа переходных форм $/p > 0,2/$; число бластов значительно увеличивалось по сравнению с контролем $/27,3 \pm 4,7\%, p < 0,01/$. Однако, при сопоставлении с данными ФГА-культур заметно существенное снижение содержания этих клеток $/p < 0,05/$.

Таким образом, при одновременном введении в культуру лимфоцитов ФГА и меди изменяется направленность реакции /по сравнению с результатами исследований культур, стимулированных только ФГА/. В этом случае реакция идет как по макрофагальному, так и по бластному типу.

Сравнительный анализ результатов культивирования нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов при введении меди в кон-

центрации 0,1 мг% показывает, что нормальные лимфоциты трансформируются в клетки бластного типа /переходные формы/; "сенсibilизированные" лимфоциты - в клетки и макрофагального и бластного типа.

В опытах с добавлением к культуре "сенсibilизированных" лимфоцитов марганца также наблюдались существенные сдвиги в реакции трансформации по сравнению с контролем /таблица 23/.

Таблица 23

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТА МАРГАНЦА НА ПРОЦЕСС ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ

клетки	монокультура без стимуляторов	Ф Г А	марганец /конц 0,1 мг%/	марганец /конц 1,0 мг%/	марганец /конц 0,1 мг% + ФГА/
	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m	М ± m
малые лимфоциты	24,6 ± 2,6	7,5 ± 1,4 p < 0,001	13,6 ± 2,3 p < 0,01	13,8 ± 1,6 p < 0,01	31,6 ± 4,6 p > 0,2
макрофаги	29,1 ± 4,7	19,4 ± 3,3 p < 0,001	49,3 ± 1,3 p > 0,5	56,4 ± 7,1 p > 0,05	32,2 ± 3,9 p < 0,02
Переходные клетки	25,5 ± 3,2	32,2 ± 5,8 p > 0,5	35,6 ± 3,1 p < 0,05	26,5 ± 2,1 p > 0,5	28,8 ± 4,6 p > 0,5
Бласты	0,46 ± 0,11	41,4 ± 6,0 p < 0,001	1,3 ± 0,34 p < 0,05	3,0 ± 1,3 p > 0,05	6,8 ± 1,7 p < 0,001
Лимфоциты	0,34 ± 0,15	0,92 ± 0,03 p < 0,05	0,3 ± 0,13 p > 0,5	0,2 ± 0,12 p > 0,5	0,5 ± 0,01 p > 0,5

Так, при введении марганца в концентрации 0,1 мг% число малых лимфоцитов уменьшалось по сравнению с контролем почти вдвое /p < 0,01/. Одновременно возрастал процент переходных форм клеток /p < 0,05/ и бластов /p < 0,05/; уровень макрофагов не изменялся /p > 0,5/.

Таким образом, в отличие от ФГА-стимуляции, при введении марганца в культурах, наряду с реакцией трансформации по бластному типу, наблюдается высокое процентное содержание макрофагов /49%/.

Сопоставляя результаты, полученные при культивировании нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов с добавлением в культуральную среду марганца в концентрации 0,1 мг%, можно отметить однонаправленность сдвигов в реакции трансформации в том и в другом случае. Отличие состоит лишь в том, что в культуре "сенсibilизированных" лимфоцитов при введении марганца клетки бластного ряда представлены переходными формами, бластами и митозами, а в культуре нормальных лимфоцитов - лишь переходными клетками.

Увеличение концентрации вводимого в культуру микроэлемента до 1,0 мг% несколько меняло характер направленности реакции трансформации. При сохранении количества малых лимфоцитов на таком же уровне, как и в предыдущих опытах, отмечается повышение процентного содержания макрофагов по сравнению с контролем / $p < 0,05$ /. Количество переходных клеток практически не изменялось / $p > 0,5$ /; а увеличение числа бластов из-за большой вариабельности индивидуальных показателей статистически недостоверно / $p > 0,05$ /. Таким образом, при увеличении концентрации марганца в культуральной среде усиление реакции трансформации идет по макрофагальному типу.

Одновременное введение в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов ФГА и марганца в концентрации 0,1 мг% позволило получить следующие результаты.

Содержание малых лимфоцитов в 3 раза больше по сравнению

с ФГА-культурами. Увеличивается также число макрофагов / $p < 0,05$ /. В то же время процентное содержание клеток бластного типа снижается. Так, число бластов было ниже в данных условиях более, чем в 5 раз.

Введение кобальта в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов, так же как и марганца, вызывало изменения в реакции трансформации /таблица 24/.

Таблица 24

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТА КОБАЛЬТА НА ПРОЦЕСС ТРАНСФОРМАЦИИ
ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ

клетки	монокультура без стимуля- торов	ФГА	Кобальт /конц. 0,1 мг%/	Кобальт /конц. 1,0 мг%/
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Малые лимфо- циты	$23,1 \pm 2,5$	$6,8 \pm 2,3$ $p < 0,01$	$13,3 \pm 1,7$ $p < 0,02$	$13,4 \pm 2,3$ $p < 0,05$
Макрофаги	$61,0 \pm 3,8$	$16,0 \pm 5,9$ $p < 0,001$	$61,3 \pm 2,9$ $p > 0,5$	$60,7 \pm 1,6$ $p > 0,5$
Переходные клетки	$15,4 \pm 3,8$	$26,0 \pm 3,6$ $p > 0,5$	$25,1 \pm 7,6$ $p > 0,2$	$22,8 \pm 4,3$ $p > 0,5$
Бласты	$0,5 \pm 0,21$	$48,5 \pm 6,9$ $p < 0,001$	$1,3 \pm 0,26$ $p < 0,01$	$1,7 \pm 0,7$ $p > 0,2$
Митозы	-	$0,5 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$	-

Так, при добавлении кобальта в концентрации 0,1 мг% отмечалось статистически достоверное снижение процентного содержания малых лимфоцитов / $p < 0,02$ /. Реакция направлялась по бластному типу за счет переходных форм клеток и бластов / $p < 0,01$ /, иногда встречались митозы. / $0,2 \pm 0,1\%$ /.

Следовательно, направленность реакции в данных опытах не отличается от реакции нормальных лимфоцитов при добавлении к культуральной среде кобальта в концентрации 0,1 мг%. И в том и в другом случае реакция идет по бластному типу. Уровень макрофагов не изменялся: контроль - $61,0 \pm 3,8\%$, опыт - $61,3 \pm 2,9\%$.

Увеличение концентрации кобальта до 1,0 мг% не оказывало существенного влияния на степень выраженности и на направленность процесса.

X X

X

Результаты, полученные при культивировании лимфоцитов крови с добавлением микроэлементов, показали, что медь, марганец и кобальт вызывают реакцию трансформации нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов. Однако, не во всех случаях данная реакция была равнозначной. Так, медь в культурах нормальных лимфоцитов вызывала трансформацию их по бластному типу, а в культурах "сенсibilизированных" лимфоцитов - и по бластному, и по макрофагальному типу. Изменение концентрации микроэлемента в опытах с "сенсibilизированными" лимфоцитами от 0,1 мг% до 1,0 мг% изменяет направленность реакции трансформации только по бластному типу.

Марганец в концентрации 0,1 мг% в опытах с нормальными и "сенсibilизированными" лимфоцитами также вызывал реакцию трансформации. Причем в обоих случаях отмечалась однонаправленность процесса по бластному типу. Однако в опытах с "сенсibilизированными" лимфоцитами увеличение концентрации микроэлемента до 1,0 мг% изменяет направленность процесса по макрофагальному типу.

При добавлении в культуру кобальта в концентрации 0,1 мг%

в опытах с нормальными и "сенсibilизированными" лимфоцитами процесс трансформации идет по бластному типу. Увеличение концентрации кобальта до 1,0 мг% в опытах с "сенсibilизированными" лимфоцитами не оказывает существенного влияния на характер реакции.

Суммируя результаты всех опытов, можно заключить, что микроэлементы медь, марганец и кобальт вызывают реакцию трансформации нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов. Однако, в отличие от ФГА-реакции, в данном случае направленность и степень выраженности процесса имеет свои особенности. Так, при добавлении микроэлементов в культуру реакция бласт-трансформации останавливается на уровне переходных клеток. Причем во всех случаях она наблюдается на фоне высокого содержания макрофагов и значительно большего числа малых лимфоцитов.

При одновременном введении в культуру лимфоцитов ФГА и микроэлементов меди и марганца существенно изменяется реакция бласттрансформации.

Следует также отметить, что по эффективности воздействия на процесс трансформации микроэлементы медь, марганец и кобальт не отличаются между собой.

Глава УП

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследованиями последних лет установлено наличие кооперации различных клеток лимфоидной системы в процессе формирования ответной иммунологической реакции организма /^{H.}Claman et al., 1968; P.B.Петров, 1970, 1971, J.Miller et al., 1971 и др./ . Признание кооперативных взаимодействий, а также участия отдельных клеток в иммуногенезе открывает новые подходы к изучению механизмов влияния различных веществ на процессы пролиферации лимфоидных клеток при формировании различных иммунологических реакций /образование гуморальных и клеточных антител/ .

Учитывая это, мы предприняли попытку вскрыть некоторые механизмы влияния наиболее часто применяемых в медицинской практике микроэлементов меди, марганца и кобальта на антителообразующую функцию лимфоидной ткани.

Для решения поставленной задачи изучали влияние микроэлементов на плазмоцитарную реакцию, накопление АОК, а также титры антител в сыворотке крови при антигенной стимуляции. Кроме этого, исследовали влияние микроэлементов на поглотительную активность макрофагов, проницаемость лизосомальных мембран клеток селезенки и способность лимфоцитов периферической крови трансформироваться в культуре *in vitro*.

Проведенные исследования показали, что дополнительное введение меди, марганца и кобальта оказывает влияние на антителообразующую функцию лимфоидной ткани.

Указанные микроэлементы усиливают плазмоцитарную реакцию в регионарных лимфатических узлах и селезенке, увеличивают со-

держание АОК в указанных лимфоидных образованиях и органах, содержащих небольшое количество лимфоидных клеток /печень и почки/. Этому соответствует и более высокий уровень гемолизинов в сыворотке периферической крови.

В наших исследованиях изучалась также эффективность применения микроэлементов в различные сроки по отношению к тест-инъекции антигена, что позволяло выяснить влияние меди, марганца и кобальта на различные фазы развития ответной реакции организма при антигенном раздражении.

Введение микроэлементов крысам в течение четырех дней до иммунизации /первый вариант опытов/ в целом сопровождалось стимуляцией иммунного ответа, в разной степени выраженной при применении меди, марганца и кобальта /рис. 1/. Так, при введении меди со стороны плазмоцитарной реакции наблюдается существенное увеличение числа незрелых и зрелых плазматических клеток в лимфоидной ткани и повышение содержания в ней АОК. Этим сдвигам соответствует более высокий, чем у контрольных /только иммунизированных животных/, уровень антител в сыворотке крови / $p < 0,05$ /.

Подобные результаты были получены в опытах с марганцем.

Несколько менее выраженный стимулирующий эффект оказал кобальт. Существенное увеличение числа клеток плазмоцитарного ряда отмечалось в селезенке / $p < 0,05$ /; увеличение содержания плазматических клеток в регионарных лимфоузлах, АОК, гемолизинов сыворотки крови, хотя и имело место, но было недостоверным.

Можно полагать, что обнаруженное в этой серии стимулирующее влияние микроэлементов на процесс иммуногенеза связано с их способностью интенсифицировать обменные процессы в организме животных /А.И. Венчиков, 1962; А.Я. Фищенко, 1969, 1971/. Поэтому при

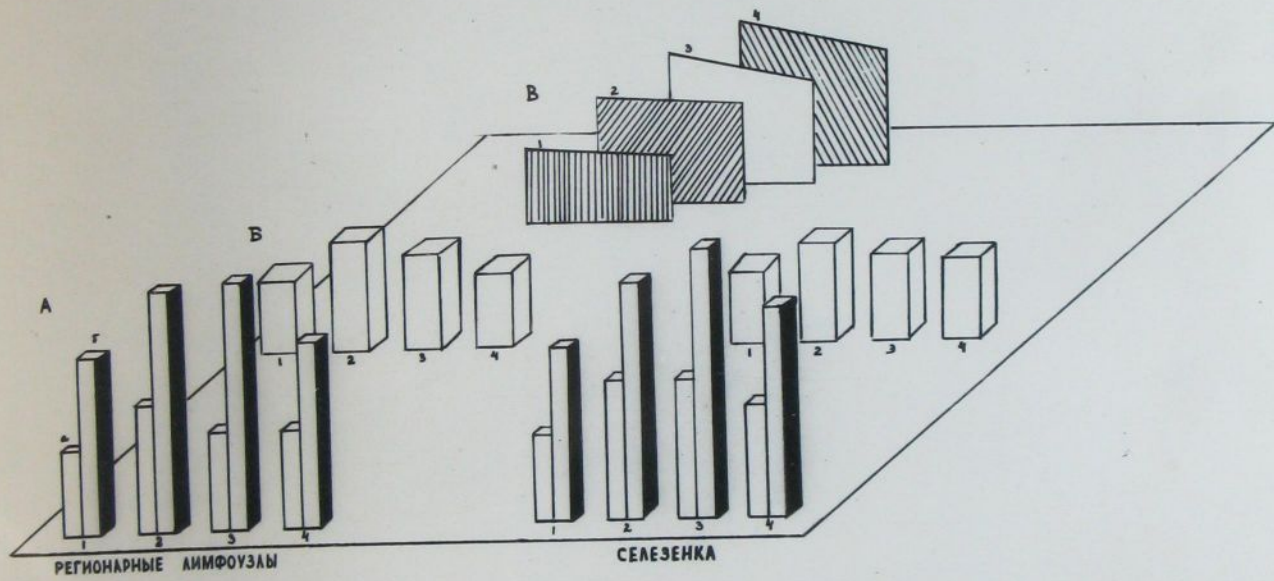


Рис. 1. Влияние меди, марганца и кобальта на антителообразующую функцию лимфоидной ткани /1 вариант опытов/.
 А - плазмочитарная реакция /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта/.
 Б - антителообразующие клетки /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта/.
 В - гемолизины сыворотки крови /1-контроль, 2-при введении кобальта, 3-при введении марганца, 4-при введении меди/.
 Все контроли приняты за 100%; результаты опытных групп выражены в процентах по отношению к контролю.
 а - зрелые плазматические клетки, б - незрелые плазматические клетки.

антигенном раздражении наблюдается усиление ответной реакции, что проявляется более выраженной пролиферацией иммунокомпетентных клеток и увеличением продукции иммуноглобулинов.

Введение микроэлементов во втором варианте опытов /два дня до иммунизации, в день иммунизации и один день после иммунизации/ охватывало индуктивную фазу иммуногенеза /рис. 2/. Как показал анализ результатов исследования, при дополнительном введении меди существенно увеличивалось число незрелых плазматических клеток в регионарных лимфоузлах, а также незрелых и зрелых плазматических клеток в селезенке по сравнению с данными контроля / $p < 0,05$ /. Содержание АОК в регионарных лимфоузлах также существенно увеличивалось по сравнению с контролем / $p < 0,001$ / и было несколько больше, чем в предыдущем варианте опытов. В то же время в селезенке увеличение количества последних было статистически недостоверным / $p > 0,2$ /. Соответственно этим сдвигам в лимфоидных образованиях наблюдалось увеличение титров гемолизинов в сыворотке крови.

При введении марганца во втором варианте опытов, так же как и при введении меди, плазмоцитарная реакция существенно усиливалась по сравнению с контролем / $p < 0,05$ / и была более выраженной, чем в предыдущем варианте. Наряду с этим, существенно увеличивалось содержание АОК в исследуемых лимфоидных образованиях и количество гемолизинов в сыворотке крови. Причем титры антител в этой серии опытов были существенно выше по сравнению с контролем / $p < 0,05$ / и превышали уровень гемолизинов, выявляемый в условиях введения микроэлементов до антигенной стимуляции.

Так же, как и в предыдущей серии опытов, при введении кобальта стимулирующий эффект его в отношении лимфоидной ткани, хотя и имел место, но был менее выраженным, чем при введении

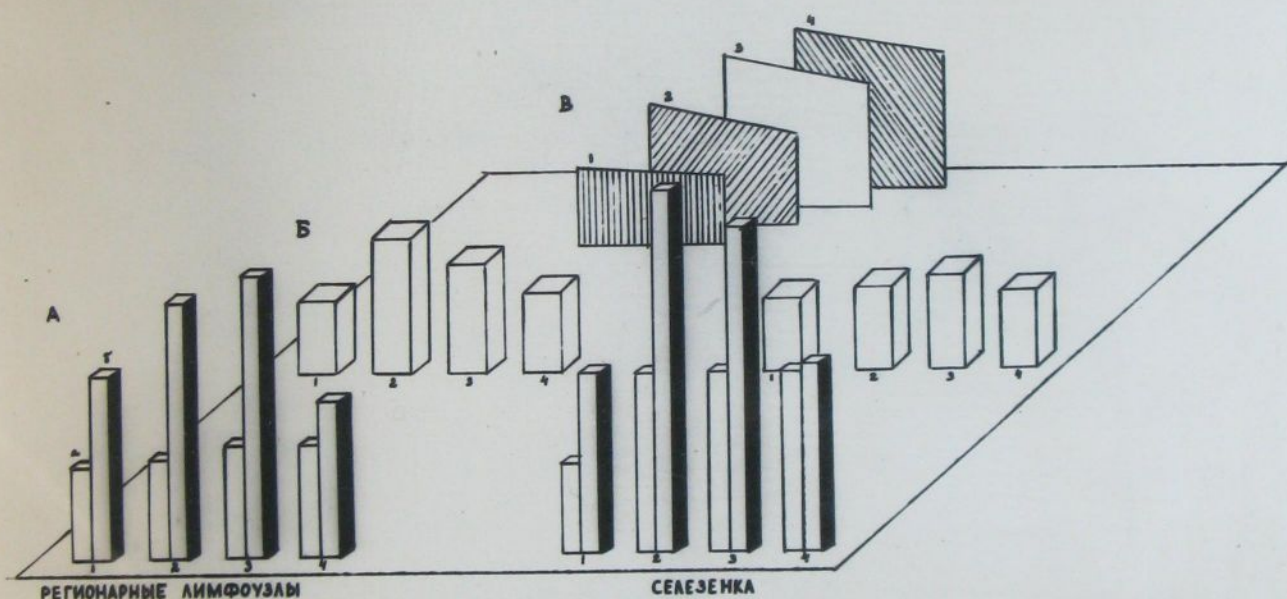


Рис. 2. Влияние меди, марганца и кобальта на антителообразующую функцию лимфоидной ткани /II вариант опытов/. А - плазмочитарная реакция /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта; а-зрелые плазматические клетки, б-незрелые плазматические клетки/. Б - антителообразующие клетки /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта/. В - гемолизины сыворотки крови /1-контроль, 2-при введении кобальта, 3-при введении марганца, 4-при введении меди/. Все контрольные данные приняты за 100%; результаты опытных групп выражены в процентах по отношению к контролю.

меди и марганца. Не наблюдалось повышения числа незрелых плазматических клеток в регионарных лимфатических узлах и селезенке; увеличение числа АОК было несущественным. Этому соответствовало более кратковременное повышение уровня антител в сыворотке крови.

В третьем варианте опытов микроэлементы вводили в течение четырех дней после тест-инъекции антигена, начиная с 0 дня, что охватывало индуктивную и начало продуктивной фазы иммуногенеза. При этом также наблюдалась четко выраженная стимуляция иммунологических процессов /рис. 3 /.

При введении меди отмечается общая тенденция к усилению плазмоцитарной реакции, однако, в отличие от предыдущих вариантов опытов, в регионарных лимфоузлах и селезенке значительно увеличивается число зрелых плазматических клеток по сравнению с контролем / $p < 0,01$ /. При этом также отмечалось существенное повышение количества АОК / $p < 0,001$ /. Соответственно морфологическим сдвигам в лимфоидных образованиях наблюдалось нарастание титров антител в сыворотке крови; однако, к концу наблюдения /10 сутки/ уровень их был ниже, чем в условиях введения меди во втором варианте опытов.

При введении марганца в этом варианте опытов число незрелых плазматических клеток в регионарных лимфоузлах и селезенке увеличивалось по сравнению с контролем / $p < 0,01$ /. Следует отметить, что в лимфатических узлах содержание их превышало данные предыдущих серий опытов. То же самое относится и к количеству зрелых плазматических клеток в селезенке. Вместе с тем, различий в содержании АОК и уровня гемолизина во втором и третьем вариантах не отмечалось.

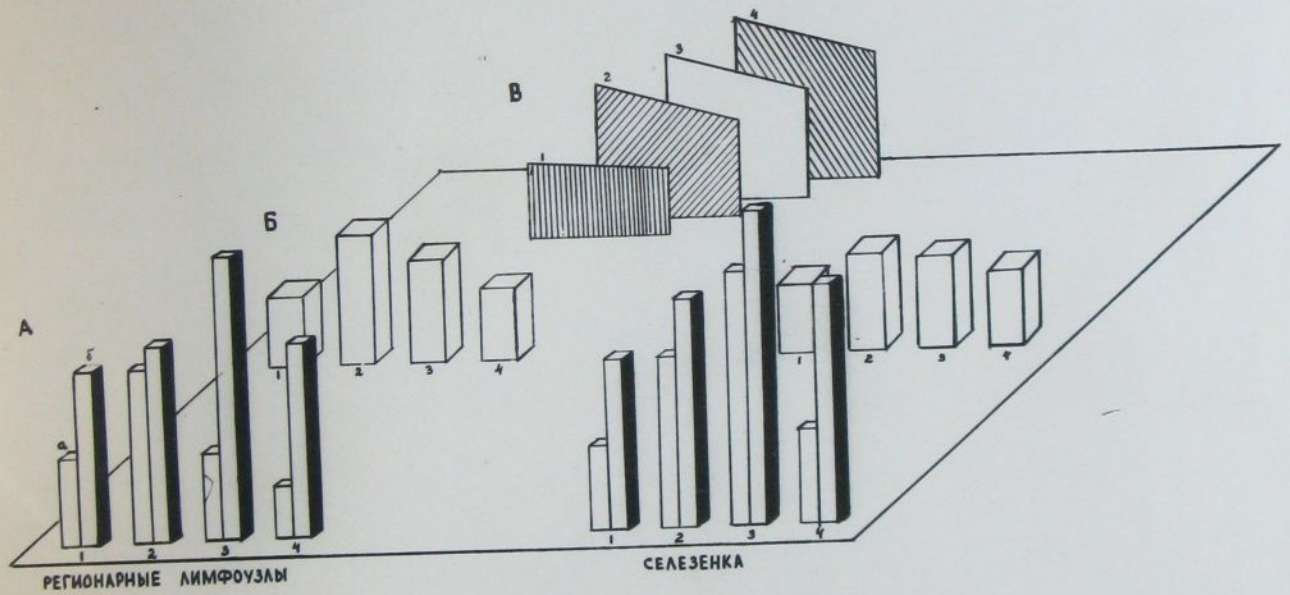


Рис. 3. Влияние меди, марганца и кобальта на антителообразующую функцию лимфоидной ткани /Ш вариант опытов/.
 А - плазмочитарная реакция /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта; а-зрелые плазматические клетки, б-незрелые плазматические клетки/. Б- антителообразующие клетки /1-контроль, 2-при введении меди, 3-при введении марганца, 4-при введении кобальта/. В - гемолисины сыворотки крови /1-контроль, 2-при введении кобальта, 3-при введении марганца, 4-при введении меди/.
 Все контрольные данные приняты за 100%, результаты опытных групп выражены в процентах по отношению к контролю.

Таким образом, при сравнительном изучении влияния меди и марганца на функциональное состояние лимфоидной ткани при их применении до иммунизации и на протяжении индуктивной фазы /второй вариант опытов/, а также в течение индуктивной и в начале продуктивной фазы /третий вариант опытов/ не выявлено существенных различий в их стимулирующем эффекте.

Повышение числа незрелых и зрелых плазматических клеток, АОК и гемолизинов в сыворотке крови было в целом одинаковым в обеих сериях опытов.

Введение кобальта после иммунизации /третий вариант/ сопровождалось более выраженным влиянием на клеточную пролиферацию по сравнению с предыдущими вариантами опытов. Так, наблюдалось существенное увеличение содержания незрелых клеток в регионарных лимфоузлах и особенно в селезенке / $p < 0,001$ /, а также числа зрелых клеток в регионарных лимфоузлах / $p < 0,05$ /. Уровень гемолизинов в сыворотке крови при исследовании в начальном периоде /5 сутки после иммунизации/ несколько превышал показатели предыдущих вариантов опытов.

Результаты проведенных исследований показали, что введение микроэлементов иммунизированным крысам сопровождается существенным увеличением числа АОК не только в лимфоидных образованиях, но и в органах, содержащих незначительное число лимфоидных клеток /печень, почки/. Следует отметить, что медь и кобальт оказывали несколько больший эффект во втором и третьем варианте опытов; в отношении марганца такой закономерности не выявлено.

Таким образом, сравнительное исследование влияния меди, марганца и кобальта на антителообразующую функцию лимфоидной ткани в зависимости от сроков введения их по отношению к тест-инъек-

ции антигена выявило, что наиболее выраженный стимулирующий эффект был в том случае, когда введение микроэлементов охватывало индуктивную фазу иммуногенеза.

Полученные результаты можно объяснить тем, что индуктивная фаза антителообразования является наиболее чувствительной к воздействию различных факторов / F.Dixon et al., 1952; Р.В.Петров, Ю.М.Зарецкая, 1970; T.Makinodan et al., 1970/. В это время происходит формирование клона антителообразующих клеток, сопровождающееся пролиферацией и дифференцировкой клеток, активацией метаболических процессов, особенно синтеза ДНК и РНК в клетках лимфоидной ткани / Z.Chessin, 1966; М.И.Грутман, 1968/. Можно полагать, что микроэлементы, в силу своей высокой биологической активности, включаются в эти процессы, конечным этапом которых является повышение антителообразования лимфоидной тканью, способствуя их интенсификации.

В исследованиях П.Ф.Здоровского /1963/, И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман /1964, 1965/, Р.В.Петрова, Б.Д.Манько /1971/ показано, что применение различных веществ /как стимуляторов, так и ингибиторов/ более эффективно именно в индуктивную фазу иммуногенеза.

В наших исследованиях было показано, что наибольшим стимулирующим эффектом обладают медь и марганец; несколько меньшим - кобальт. В этом отношении результаты наших опытов согласуются с работами G.Walburn, S.Schmidt /1925/, A.Lumiere, R.Grange /1930/, А.В.Игнатович, Н.П.Короткова /1958/, Г.А.Бабенко с соавт./1965/ и др., которые также отмечали более высокие титры антител при введении меди и марганца, чем при введении кобальта.

В то же время Ю.Д.Свистун /1969/ показал, что при иммунизации кроликов гретой вакциной *S.thiphumurium* и дополнительном

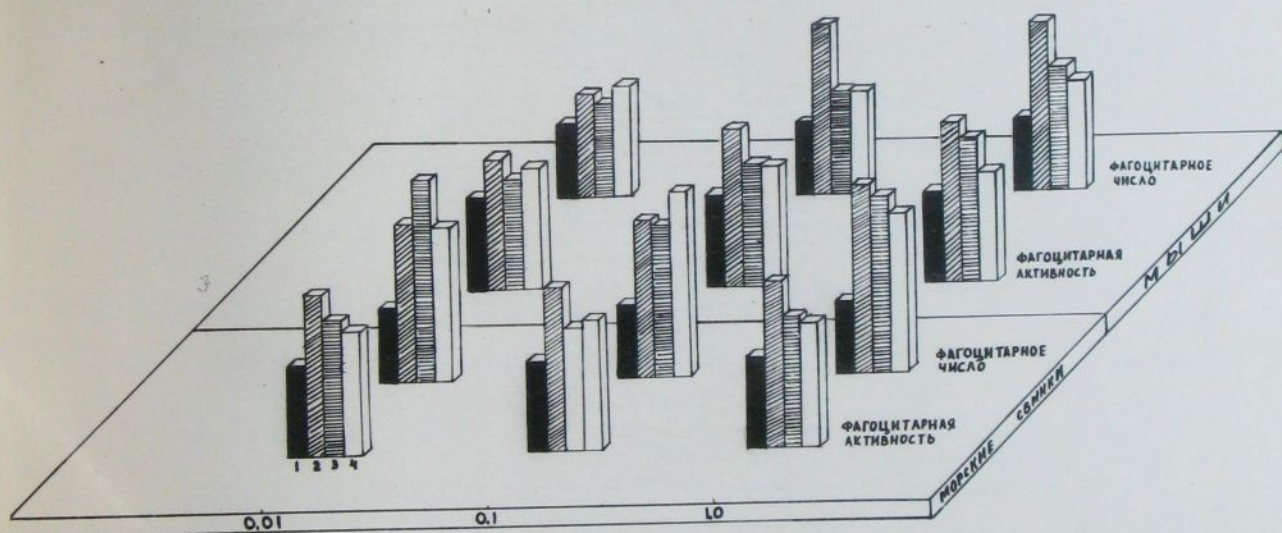


Рис. 4 . Влияние меди, марганца и кобальта на активность фагоцитоза макрофагов.

1-контроль /100%/, 2-при добавлении меди, 3-при добавлении марганца, 4-при добавлении кобальта.

введении кобальта титры агглютининов выше, чем у иммунизированных животных, которым вводили медь.

Возможно, что указанные различия результатов исследований связаны с неоднозначностью условий опытов, так как в каждом случае применялись различные дозы микроэлементов, отличались сроки их введения; для иммунизации использовались различные антигены и др.

Обнаруженный в наших исследованиях стимулирующий эффект микроэлементов на иммуногенез может определяться их влиянием еще на один из основных этапов развития ответной реакции организма к антигенному раздражению, а именно - на поглощение и переработку антигена макрофагами.

В настоящее время этому звену формирования иммунного ответа, как одному из важных этапов клеточной кооперации при антителообразовании, уделяется большое внимание /Б.В.Пинегин, Б.С.Утешев 1971; И.С.Фрейдлин, 1971/.

В связи с этим нами были проведены исследования по изучению влияния меди, марганца и кобальта на активность фагоцитоза макрофагов, полученных из перитонеального экссудата морских свинок и мышей.

Результаты опытов свидетельствуют о том, что микроэлементы при введении их *in vitro* и *in vivo* способны усиливать фагоцитарную функцию макрофагов /рис. 4/. Так, медь в концентрации 0,01 - 1,0 мг% оказывала *in vitro* стимулирующее влияние на поглотительную функцию макрофагов. Причем, в опытах с макрофагами морских свинок изменение концентрации микроэлемента в указанных пределах сопровождалось дальнейшим повышением активности фагоцитоза. В опытах с макрофагами мышей изменение

концентрации меди от 0,01 мг% до 0,1 мг% сопровождалось статистически достоверным повышением показателей фагоцитоза / $p < 0,05$ /. При дальнейшем увеличении концентрации микроэлемента /1,0 мг%/ активность фагоцитоза не изменялась по сравнению с предыдущим опытом.

При добавлении марганца в инкубационную среду в концентрации от 0,01 мг% до 1,0 мг% активность фагоцитоза макрофагов морских свинок также повышалась. Как и в опытах с медью, изменение концентрации микроэлемента в указанных пределах не оказывало существенного влияния на показатели активности фагоцитоза.

В опытах с макрофагами мышей при увеличении концентрации марганца наблюдается тенденция к повышению активности фагоцитоза.

В условиях воздействия *in vitro* кобальтом в концентрациях 0,01 - 1,0 мг% также увеличивались показатели поглотительной способности макрофагов. В опытах с макрофагами морских свинок и мышей при изменении концентрации микроэлементов в указанных пределах различий в активности фагоцитоза не отмечалось.

Таким образом, в опытах с применением микроэлементов *in vitro* изменение их концентрации от 0,01 мг% до 1,0 мг% не оказывало дальнейшего повышения активности фагоцитоза макрофагов морских свинок и мышей в подавляющем большинстве случаев. Возможно, что эти концентрации меди, марганца и кобальта лежат в пределах биотической зоны их действия и колебание в указанных пределах не сказывается существенно на функции фагоцитов /А.И. Венчиков, 1962/.

При введении микроэлементов *in vivo* фагоцитарная активность макрофагов мышей существенно увеличивалась по сравнению с контролем / $p < 0,001$ /. Наиболее выраженное действие на поглотительную способность макрофагов оказывала медь. Статистически

значимые различия показателей фагоцитоза отмечались также между группами мышей, которым вводили марганец и кобальт / $p < 0,05$ /.

Стимулирующее влияние микроэлементов на фагоцитарную активность лейкоцитов крови показано в ряде работ /А.А.Непесов, 1955; Е.В.Черкасова, 1955; А.Н.Кособров, 1963; Т.Ф.Кошик, 1964 и другие/. Однако, указанные авторы не объясняют механизм данного эффекта.

В работе L.Karl et al. /1973/, вышедшей в самое последнее время, изучался механизм влияния микроэлемента цинка на поглотительную функцию макрофагов. Авторы связывают действие микроэлементов на фагоцитоз с влиянием его на АТФ-зависимую механическую систему клеточной оболочки.

Возможно, что усиление фагоцитарной способности макрофагов под влиянием меди, марганца и кобальта также связано с их воздействием на эту систему клеточной оболочки фагоцитов.

Заслуживает внимания и предположение А.И.Венчикова /1962/, который считает, что микроэлементы усиливают обменные процессы в клетках-фагоцитах, следствием чего является повышение фагоцитарной способности последних. Не исключено, что подобное влияние микроэлементов на фагоцитарную активность имеет место *in vivo*. Подтверждением этого могут служить опыты М.Е.Зельцера и П.С.Никова /1972/, которые установили, что при недостаточном поступлении йода в организм снижается фагоцитарная активность нейтрофилов. Авторы объясняют это ослаблением обменных процессов, характеризующихся уменьшением уровня гликогена, а также пероксидазы и цитохромоксидазы в нейтрофилах.

Так же, как и в отношении стимуляции антителообразования, наибольшее усиление поглотительной функции макрофагов мы наблюда-

дали под действием меди и марганца. Несколько меньший эффект оказал на фагоцитоз кобальт. Результаты опытов, полученных в этих сериях, дают основание полагать, что одним из путей стимуляции антителообразования в условиях дополнительного введения микроэлементов может быть усиление процесса захвата и обработки антигена.

Необходимо указать, что в настоящее время существует мнение /И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1969, 1972/, согласно которому интенсивность процесса переработки антигена определяется функциональным состоянием лизосомального аппарата клеток-фагоцитов. Этими авторами установлена зависимость между активностью гидролитических ферментов, проницаемостью лизосомальных мембран фагоцитов и уровнем иммунного ответа. Было показано, что различные вещества, усиливающие проницаемость мембран, стимулируют иммуногенез /A.Tarpeil et al., 1963/; вещества, стабилизирующие мембраны, обладают иммунодепрессивным действием /G.Weissman, L.Tomas, 1963; W.Miller, J.Smith, 1966/. Поэтому проблема изучения функционального состояния лизосомального аппарата клеток-фагоцитов и изменение его под влиянием различных веществ привлекает внимание исследователей.

В связи с вышеизложенным представляло интерес изучить влияние микроэлементов меди, марганца и кобальта на проницаемость лизосомальных мембран клеток селезенки.

Объектом исследования служили мыши-гибриды /СВАХС57ВL/ F₁, которые, как известно, являются хорошими продуцентами антител /И.Я.Учитель, Э.Л.Хасман, 1972/. Опыты были проведены на гомогенатах клеток селезенки с добавлением в среду инкубации ионов металлов в конечной концентрации 0,01 мМ, 0,1 мМ, 1,0 мМ.

Результаты наших опытов позволили заключить, что ионы меди, марганца и кобальта не оказывают существенного влияния на активность избранного нами маркера лизосом - кислотную фосфатазу. В то же время указанные микроэлементы усиливали проницаемость лизосомальных мембран, что выражалось в увеличении свободной формы активности кислотной фосфатазы.

Нами была найдена зависимость между концентрацией ионов в инкубационной смеси и изменением проницаемости мембран лизосом клеток селезенки. Так, при концентрации ионов $0,01 \text{ мМ}$ свободная активность фермента практически не изменялась по сравнению с контрольными пробами. При повышении концентрации ионов до $0,1 \text{ мМ}$ уже отмечалась некоторая тенденция к усилению проницаемости мембран, а при концентрации ионов металлов $1,0 \text{ мМ}$ свободная форма активности кислотной фосфатазы существенно увеличивалась по сравнению с контрольными данными $/p < 0,05/$.

Обнаруженное в наших исследованиях изменение проницаемости мембран в целом было равнозначным при добавлении всех изучаемых микроэлементов. Следует, однако, указать, что в опытах с добавлением в среду инкубации кобальта повышение свободной активности фермента составляло 30% по сравнению с контрольными данными для этой серии; в опытах с добавлением меди повышение свободной ферментативной активности составило 20% , при добавлении марганца - 17% . Однако, при сравнении абсолютных величин показатели активности фермента в каждой серии опытов /с учетом исходных величин/ не выявлено существенных различий между ними $/p < 0,05/$.

Таким образом, в наших исследованиях четко показано, что в условиях воздействия микроэлементов в определенной концентрации происходит повышение свободной активности кислотной фосфатазы,

что является показателем повышения проницаемости лизосомальных мембран.

И.Я.Учитель /1973/, обобщая данные литературы, посвященные роли лизосом в иммуногенезе, приводит сведения о том, что активность кислой фосфатазы, определяемая в селезенке, в основном связана с лизосомами, которые обозначаются по плотности как фракция L19, то есть фракция, составляющая основную массу лизосом макрофагов. Следовательно, можно предположить, что при введении микроэлементов изменяется проницаемость лизосомальных мембран макрофагов селезенки.

В настоящее время трудно объяснить механизм лабилизирующего действия микроэлементов на лизосомальные мембраны, сопровождающегося выходом ферментов, поскольку до сих пор нет четкого представления о характере связи последних с мембранными структурами клетки / Н.Koenig, A.Jibril, 1962/.

Нам представляется вполне обоснованной точка зрения M.Chvaril et al. /1972/, которые, опираясь на данные о том, что строение лизосомальных мембран /А.Новиков, 1963/ в основном сходно со строением других биологических мембран, предполагают, что ионы различных металлов оказывают стабилизирующее или лабилизирующее влияние на лизосомальные мембраны за счет угнетения или активации АТФ-азной механоэнзимной системы данных структур. Подобное мнение о влиянии металлов на лизосомальные мембраны высказывает и С.Ж.Дунсан /1966/.

Полученные нами данные позволяют предположить, что в механизме стимулирующего влияния микроэлементов на антителогенез может также иметь значение повышение проницаемости лизосомальных мембран.

Все вышеизложенные данные наших исследований касались влияния микроэлементов на различные этапы процесса синтеза антител. Вместе с тем, образование гуморальных антител не ограничивается многообразием иммунологических реакций, имеющих место в организме. Примером таких реакций могут служить гиперчувствительность замедленного типа, реакция "хозяин против трансплантата" и другие, в основе которых лежит изменение функционального состояния лимфоцитов.

В связи с этим нами было проведено изучение влияния микроэлементов на функциональное состояние лимфоцитов периферической крови, полученных от здоровых лиц /нормальные лимфоциты/ и от больных ревматизмом, при котором имеет место гиперчувствительность замедленного типа /"сенсibilизированные лимфоциты"/.

Для этой цели мы использовали метод бласттрансформации лимфоцитов, который широко используется в последние годы для оценки иммунологической потенции лимфоцитов. Ряд исследователей /И.Л. Чертков, А.И.Фриденштейн, 1968; Н.И.Брауде, 1969/ отмечают, что культура лимфоцитов *in vitro* представляет собой удобную систему для изучения способности лимфоцита к морфологическим превращениям в другие клеточные формы, а также влияния различных факторов на клеточную популяцию /И.Л.Чертков, А.И.Фриденштейн, 1968; Н.И.Брауде, 1969/.

Наши исследования показали, что на шестые сутки культивирования 40% нормальных лимфоцитов трансформируются в макрофаги. Согласно М.Elves et al. /1963/, Н.И.Брауде, И.Л.Гольдман /1967/, И.Т. Миансарян, Э.Р.Пашинян /1970/ от 20% до 50% исходной популяции лимфоцитов способны трансформироваться в макрофаги.

Около 18% клеток в монокультуре без добавления стимуляторов

подвергались трансформации по бластному типу, составляя переходные клетки, причем большинство из них представлено начальными формами переходных клеток. Отличие их от лимфоцитов состоит в несколько больших размерах ядра и более выраженной цитоплазме с наличием цитоплазматических выростов.

Переходные клетки в монокультуре нормальных лимфоцитов, приближающихся к бластам, а также типичные "blast-cells" отсутствовали.

При введении в культуру ФГА нормальные лимфоциты в значительном количестве /более 80%/ подвергались бласт-трансформации. Причем, в этом случае основная масса клеток представлена бластами /более 50%/ всех мононуклеаров/. Полученные результаты соответствуют данным многих исследователей, изучавших ФГА-реакцию лимфоцитов /F. Bach, K. Hirschhorn, 1964; S. Sabesin, 1965; R. Ling, 1968; И.Л. Чертков, А.И. Фриденштейн, 1968/.

Добавление к культуре лимфоцитов микроэлементов в концентрации 0,1 мг% вызывало реакцию трансформации. Как показал анализ результатов исследований, при введении меди существенно уменьшается содержание малых лимфоцитов. Количество макрофагов не изменяется по сравнению с монокультурой без добавления стимуляторов; статистически достоверно увеличивается число переходных форм клеток, а также появляются в небольшом количестве /около 1%/ бласты.

Идентичная картина наблюдается при добавлении к культуре лимфоцитов марганца в концентрации 0,1 мг%, но в этих условиях бластные клетки не встречаются.

При введении кобальта в среду культивирования направленность процесса в общем такая же, как и при введении меди и марганца, но одновременно с увеличением числа переходных форм клеток

отмечается некоторая тенденция к увеличению процентного содержания макрофагов. Из вышесказанного можно заключить, что при введении меди, марганца и кобальта в культуру лимфоцитов *in vitro* усиливается реакция бласттрансформации лимфоцитов. При этом в отличие от ФГА-реакции в опытах с микроэлементами реакция останавливается на переходных формах бластного ряда и протекает на фоне большого количества макрофагов /в опытах с кобальтом они составляют 50% всех мононуклеаров/.

В монокультуре "сенсibilизированных" лимфоцитов" отмечается усиление бласттрансформации по сравнению с монокультурой нормальных лимфоцитов. Однако, в отличие от последней, переходные клетки стоят близко к бластам, встречаются также типичные "blast-cells" значительную часть клеток составляют макрофаги. Указанные сдвиги в морфологической картине свидетельствуют о наличии спонтанной трансформации "сенсibilизированных" лимфоцитов" больных ревматизмом /В.П.Лозовой с соавт., 1970/.

В то же время при введении ФГА в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов" отмечается снижение реакции бласттрансформации по сравнению с нормальными лимфоцитами под влиянием указанного стимулятора. При этом наблюдается увеличение числа малых лимфоцитов, снижается содержание переходных и бластных клеток и увеличивается число макрофагов. Полученные результаты согласуются с исследованиями ряда авторов /В.П.Лозовой с соавт., 1970; А.М.Борисова, С.М. Рачков, 1970; М.Бабянскас с соавт., 1972/, отмечающих снижение реакции бласттрансформации лимфоцитов у больных ревматизмом на ФГА.

При введении меди, марганца и кобальта в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов" происходит усиление реакции трансформации. Причем, выраженность реакции и ее направленность определяются дозой вводимого микроэлемента.

Так, при введении меди в концентрации 0,1 мг% существенно увеличивается процентное содержание клеток макрофагального и бластного типа. При этом следует отметить, что клетки бластного типа представлены переходными формами. Содержание бластов практически не отличается от контрольных опытов. При увеличении концентрации меди до 1,0 мг% направленность процесса трансформации идет лишь по бластному типу и так же, как в предыдущем случае, останавливается на переходных клетках.

В опытах с марганцем были получены несколько иные результаты. При концентрации марганца 0,1 мг% статистически достоверно увеличивается процентное содержание переходных форм клеток. С увеличением концентрации микроэлемента до 1,0 мг% нет четко выраженной направленности процесса трансформации. Отмечается тенденция к увеличению числа трансформированных форм клеток, однако во всех случаях достоверных различий с контрольными опытами не выявлено.

При введении в культуру лимфоцитов кобальта также усиливается процесс трансформации. Причем концентрация микроэлемента не оказывала существенного влияния на характер реакции. При концентрации кобальта 0,1 мг% и при концентрации 1,0 мг% отмечается тенденция к увеличению процентного содержания переходных клеток бластного типа.

В главе У1 мы отмечали, что нормальные и "сенсibilизированные" лимфоциты в сходной степени реагируют на введение микроэлементов. Это хорошо прослеживается при сопоставлении результатов, полученных в опытах с марганцем и кобальтом в концентрации 0,1 мг%, а также при концентрации меди 1,0 мг%. Наряду с этим имеются различия: при введении в среду культивирования меди в концентрации 0,1 мг% нормальные лимфоциты трансформируются по бластному типу,

тогда как "сенсibilизированные" лимфоциты подвергаются трансформации в макрофаги и в переходные клетки бластного типа.

Интересные результаты были получены при одновременном введении в культуру "сенсibilизированных" лимфоцитов меди в ФГА. Сопоставляя полученные результаты с ФГА-реакцией, можно отметить, что в первом случае при усилении реакции трансформации по сравнению с контрольными монокультурами наблюдается существенное снижение содержания бластов и увеличение числа макрофагов.

Подобные результаты были получены и при одновременном введении в среду культивирования марганца и ФГА.

На основании проведенных нами исследований пока трудно объяснить механизм стимулирующего влияния микроэлементов на процесс трансформации лимфоцитов. Следует сказать, что и до настоящего времени в литературе нет единой точки зрения на механизмы активации лимфоцитов в культуре различными веществами, в том числе антигенами. В отношении наиболее часто применяемого стимулятора ФГА, как известно, существует несколько гипотез. Согласно одной из них, ФГА активирует ацетилирование гистонов в ядре, после чего усиливаются процессы синтеза РНК и ДНК / R.Ling, 1968/. Существует также предположение, что ФГА лабилизирует лизосомальные мембраны и тем самым высвобождает гидролитические ферменты, которые активируют синтез нуклеиновых кислот / A.Allison, L.Mallucci, 1964; K.Hirschhorn, R.Hirschhorn, 1965 /. Последняя гипотеза подтверждается данными о том, что медикаменты, стабилизирующие мембраны лизосом /хлорохин, преднизолон/ угнетают процесс трансформации лимфоцитов / R.Ling, 1968/.

Как показали наши исследования, а также исследования M.Chvapil et al. /1972/, ионы меди, марганца и кобальта способны

лабилизировать мембраны лизосом клеток селезенки и печени. Возможно, что полученный нами эффект стимуляции процесса трансформации лимфоцитов связан с их способностью лабилизировать мембраны лизосом.

х х

х

Таким образом, результаты наших исследований показали, что микроэлементы медь, марганец и кобальт оказывают стимулирующее влияние на антителообразующую функцию лимфоидной ткани.

Исследование влияния микроэлементов на различные этапы формирования иммунного ответа позволяют считать, что механизм их стимулирующего действия может быть связан с повышением поглотительной активности макрофагов, лабилизацией лизосомальных мембран этих клеток, усилением пролиферативных процессов в лимфоидной ткани /повышение плазмочитарной реакции, увеличение числа АОК/, что в конечном итоге приводит к большей продукции антител.

Высокая биологическая активность микроэлементов, в том числе меди, марганца и кобальта, указывает на несомненную перспективность применения их в лечебной практике.

Многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных авторов показана роль микроэлементов в организме при физиологических и различных патологических состояниях /А.И.Войнар, 1958; А.И.Венчиков, 1962; Э.Андервуд, 1962; Г.А.Бабенко, 1965; М.Г.Коломийцева и Р.Д.Габович, 1970/. Эти исследования позволяют более широко внедрять микроэлементы в клинику при некоторых заболеваниях детского возраста, при заболеваниях крови, желез внутренней секреции, системы пищеварения, при атеросклерозе и других /Г.А.Бабенко, Л.П.Решеткина, 1971/.

Наши исследования показали, что микроэлементы медь, марганец и в меньшей мере кобальт оказывают стимулирующее влияние на лимфоидную ткань, являющуюся "органом иммунитета". В этом плане перспективным представляется применение микроэлементов для стимуляции функции лимфоидной ткани при инфекционных заболеваниях, когда необходимо вызвать быстрое накопление специфических антигенов в организме больного. Тем более, что широко применяемые в настоящее время с лечебной целью антибиотики угнетают активность лимфоидных клеток. Микроэлементы, очевидно, могут использоваться и при различных соматических заболеваниях, когда ослабленный организм зачастую поражается присоединившейся инфекцией.

Полученные нами данные указывают, что более выраженное стимулирующее действие микроэлементы оказывают при введении их в индуктивную фазу иммуногенеза. Эти данные могут найти применение в практике получения гипериммунных сывороток у животных.

ВЫВОДЫ

1. Дополнительное введение микроэлементов меди, марганца и кобальта животным способствует повышению антителообразующей функции лимфоидной ткани /усиление плазмоцитарной реакции, увеличение числа антителообразующих клеток в регионарных лимфоузлах, селезенке, а также в печени и почках, нарастание титра гемолитинов в сыворотке периферической крови/.
2. Эффективность воздействия микроэлементов на иммуногенез определялась периодом их введения по отношению к тест-инъекции антигена. Более выраженная стимуляция клеточных реакций и накопление антител имели место при применении микроэлементов в период индуктивной фазы иммуногенеза.
3. Сравнительное изучение влияния меди, марганца и кобальта на иммуногенез показало, что большим стимулирующим действием обладали медь и марганец, действие кобальта было выражено в меньшей степени.
4. Фагоцитарная активность макрофагов усиливается при добавлении меди, марганца и кобальта к инкубационной среде *in vitro* и при введении *in vivo*. Этот эффект был наиболее выраженным в случае применения меди и в несколько меньшей мере - марганца и кобальта.
5. В опытах *in vitro* установлено, что медь, марганец и кобальт повышают проницаемость лизосомальных мембран клеток селезенки /увеличивается свободная форма активности кислой фосфатазы - основного маркера лизосом/.
6. Установленный в наших опытах эффект воздействия микро-

элементов на фагоцитарную активность макрофагов, их способность усиливать проницаемость лизосомальных мембран, а также пролиферативные процессы в лимфоидной ткани можно рассматривать как один из механизмов стимулирующего действия меди, марганца и кобальта на формирование иммунного ответа.

7. Влияние микроэлементов на функциональное состояние клеток лимфоидной ткани нашло подтверждение в обнаруженной нами способности меди, марганца и кобальта стимулировать трансформацию нормальных и "сенсibilизированных" лимфоцитов *in vitro*. Реакция выражалась в увеличении процентного содержания макрофагов и переходных клеток бластного типа и отличалась от ФГА-реакции отсутствием типичных бластных клеток.

8. Установленные в наших исследованиях особенности стимулирующего действия меди, марганца и кобальта, в большой мере определяемые периодом их применения и воздействием на клеточные процессы в разных фазах иммуногенеза, могут служить основой для разработки рекомендаций по более эффективному использованию изученных микроэлементов с целью повышения иммунных свойств организма.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветикян Б. Г., Демченко Т. А. Трансформация лимфоцитов крови в культуре. - Цитология, 12, 3, 1970, 372-381.
2. Алиев С. Д., Рейш А. В. Влияние микроэлементов лития и цезия на некоторые показатели иммунологической реактивности организма. - Матер. итог. конф. центр. науч.-иссл. лабор. Азерб. мед. ин-та, Баку, 1971, 31-33.
3. Алиев С. Д. Влияние микроэлемента лития на реактивность организма. - Матер. конф., посвященной 50-лет. создания СССР. Баку, АзМИ им. Нариманова, 1972 а.
4. Алиев С. Д. Влияние микроэлемента цезия на некоторые показатели реактивности организма. - Матер. конф., посвященной 50-лет. создания СССР, Баку, АзМИ им. Нариманова, 1972 б.
5. Алхутова Л. М. Изменения иммунологической реактивности организма под влиянием некоторых микроэлементов. - В кн.: Микроэлементы в с/х и медицине, К., 1963, 621.
6. Алхутова Л. М. Влияние микроэлементов меди, кобальта, железа и йода на некоторые иммунореактивные свойства организма. Автореферат канд. дисс. Ашхабад, 1969.
7. Антонова М. В. Влияние различных количеств марганца в пищевом рационе на иммунологическую реактивность организма. - Вопросы питания, 1968, 3, 36-41.
8. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. М., 1969.
9. Ашмарин И. П., Васильев Н. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. Л., 1971.
10. Бабенко Г. А. Микроэлементы в экспериментальной и клинической медицине. К., 1965.
11. Бабенко Г. А., Витвицкий В. М., Никольская М. А. Влияние микроэлементов на иммунологические свойства организма. - В кн.: Микроэлементы в животноводстве и медицине. К., 1965, 142-148.

12. Бабенко Г. А., Решеткина Л. П. Применение микроэлементов в медицине, К., 1971.

13. Бабянскас М., Коткес Ф., Ляквичюс Р. Бласттрансформация лимфоцитов периферической крови ревматических больных при воздействии стрептококковыми антигенами. - В кн.: Вопросы теоретической и экспериментальной медицины. Вильнюс, 1968, 12-13.

14. Балаева М. С. Влияние вольфрамовокислого натрия на фагоцитарную активность лейкоцитов морских свинок. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер. 1 респ. конф. Душанбе, 1972, 206.

15. Басс - Шадхан Х. Ф., Бирзгале В. Р., Леиня Л. Г. Влияние ванадия, кобальта, марганца и меди на некоторые показатели защитных сил организма у мышей. В кн.: Микроэлементы в с/х и медицине. Улан-Удэ, 1966, 2, 16-17.

16. Белокобыльский А. И., Гинтури Э. Н., Мосулишвили Л. М., Харабадзе Н. Е. Исследование следовых количеств атомов некоторых тяжелых металлов в ДНК и РНК методом активационного анализа. - Биофизика, 1968, 13, 6, 950-954.

17. Беренштейн Т. Ф., Кардович Г. А. Влияние молибдена и селена на содержание комплемента, уровень лизоцима и титр нормальных антител в крови кроликов. - Матер. 26 науч. сессии Витебск. мед. ин-та, Минск, 1968, 103.

18. Беренштейн Т. Ф., Кардович Г. А. К вопросу о влиянии селена и молибдена на состояние гуморального иммунитета у кроликов. - В кн.: Вопр. теории и практ. мед., Минск, 1971, 174-175.

19. Беренштейн Т. Ф. Влияние селена и вит. Е на антителообразование у кроликов. - Здоровоохранение Белоруссии, 1972, 10, 34-36.

20. Борисова А. М., Рачков С. М. Исследование реакции бласттрансформации лимфоцитов у больных ревматизмом. - Сов. медицина, 1972, 9, 38-44.

21. Брауде Н. И., Гольдман И. Л. Иммунологические аспекты изучения трансформации малых лимфоцитов человека *in vitro*. - Изв. АН СССР, сер. биол. наук, 1967, 6, 851-860.

22. Брауде Н. И. Феномен трансформации малых лимфоцитов в бласты как иммунологическая проблема. - Усп. совр. биол., 1969, 67, 3, 432-449.

23. Браше Ж. Локализация и вероятная роль нуклеиновых кислот в клетке и в эмбрионе. - Усп. совр. биол., 1950, 29, 1, 140-144.

24. Брондз Б. Д. Аспекты изучения природы гиперчувствительности замедленного типа и связанных с ней феноменов. - Усп. совр. биол., 1965, 59, 2, 257-283.

25. Брондз Б. Д., Снегирева Е. А., Рассулин Ю. А. Влияние ферментов на взаимодействие иммунных лимфоцитов с аллогенными клетками-мишенями. - Проблемы гематологии и переливания крови, 1971а, 4, 11-17.

26. Брондз Б. Д. Влияние нормальных сывороток-мишеней и аллоантител против лимфоцитов клеток-мишеней на цитотоксическую активность иммунных лимфоцитов. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1971б, 71, 3, 60-64.

27. Брондз Б. Д. Иммунологическое распознавание и реакции клеточного иммунитета *in vitro*. - Усп. совр. биол., 1972, 73, 1, 42-58.

28. Вальдман А. Р., Тауцинь Э. Я. Влияние уровня микроэлементов в рационе цыплят на их рост. Усвоение микроэлементов и обмен веществ. - В кн.: Тр. лабор. биохим. и физиол. живот. /И-т биол. АН ЛатвССР/, 1965, 4, 149-161.

29. Ваняг Л. Я., Ланге Э. Р. Фагоцитоз различных лейкоцитов периферической крови кур под воздействием микродобавок меди. - В кн.: Микроэлементы в организме рыб и птиц. Рига, 1968, 139.

30. Венчиков И. А. Физиологически активные количества микроэлементов как биологических факторов. - В кн.: Применение микроэлементов в с/х и мед., Рига, 1959, 571.

31. Венчиков А. И. О физиологически активных количествах микроэлемента и механизме проявления его действия. - Вопросы питания, 1960, 6, 3-9.

32. Венчиков А. И. Биотики, М., 1962.

33. Вершилова П. А., Чернышова М. И., Певницкий Л. А. Изучение клеточных систем, образующих антитела в процессе вакцинального иммуногенеза. - В кн.: Современные проблемы иммунологии и иммунопатологии. Л., 1970, 44-51.

34. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме человека и животных. М., 1953.

35. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1960.

36. Воробьев А. А., Васильев Н. Н. Адъюванты /неспецифические стимуляторы/. М., 1969.

37. Гаджиев Ф. М. Влияние кобальта и его сочетаний с марганцем и йодом на накопление мышечного белка у растущих овец. - Изв. АН Азерб. ССР сер. биол. н., 1966, 2, 90-97.

38. Гиреев Г. И. Биологическая роль микроэлементов меди в обмене нуклеиновых кислот в организме животных. Докл. ВАСХНИЛ, 1968, 8, 24-27.

39. Годун В. М. Про вплив різних доз мікроелементів міді, кобальту, цинку та марганцю на вироблення імунних аглютинінів. - Наукова конф. по пробл. біол. ролі мікроел., Автореф. доп., Станіслав, 1961, 15.

40. Гончарова Н. В. О влиянии сернокислой меди на опсонический показатель при бруцеллезе. - Клиническая медицина, 1950, 2, 86-87.

41. Грутман М. И. Изменение синтеза нуклеиновых кислот в селезенке в процессе иммуногенеза. - Бюлл. эксп. р. биол. мед., 1968, 65, 2, 70-71.

42. Гудэ З. Ж., Дьяченко Р. А., Бачан О. Ф., Врублевский А. К., Влияние витаминов А, Д, С, В₁ на уровень меди в организме животных. - В кн.: Микроэлементы в животноводстве и медицине. К., 1965, 134-141.

43. Гудэ З. Ж. Роль тиамина в обмене микроэлементов. - В кн.: Витамины в эксперименте и клинике. К., 1970, в.2, 46-53.
44. Гурвич Г. А., Шумакова Г. В. Плазмоцитарная реакция и иммунологические закономерности. - Бюлл. экпер. биол., 1957, 10, 95-99.
45. Девятка Д. Г., Вальчук Н. К., Ворони-на Т. З. К вопросу о влиянии молибдена на иммунологическую реактивность организма. - Гиг. и санитар., 1971, 4, 104-105.
46. Донец Ю. И. Изучение механизмов патогенетического действия токсина ботулизма. Дисс. канд. Одесса, 1957.
47. Дычко Е. Ф., Шахматов М. М. Влияние кобальта на содержание белка в сыворотке крови, аминокислот в тканях и органах в зависимости от способа и дозы его введения. - Вестн. с/х науки, 1970, 10, 67-72.
48. Захаренко Е. Т., Машковский Ю. Ш. Связывание ионов меди и кадмия дезоксирибонуклеиновой кислотой и продуктами ее деградации. - Биофизика, 1966, 11, 6, 945-950.
49. Захарова Л. А. Стимуляция синтеза иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток лимфатических узлов и костного мозга: сроки стимуляции и роль целостности клеток. - Бюлл. экпер. биол., 1973, 74, 9, 73-77.
50. Здродовский П. Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М., 1963.
51. Здродовский П. Ф.: Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М. 1969.
52. Здродовский П. Ф. О физиологических аспектах иммуногенеза и его регуляции. - Вестн. АМН СССР, 1971, 12, 41-48.
53. Зельцер М. Е., Ников Л. С. Фагоцитарная активность и некоторые показатели метаболизма нейтрофилов при йодной недостаточности. - Гиг. и санитар., 1972, 5, 99-101.
54. Зельцер М. Е. Вопросы иммунологической реактивности при недостатке йода в питании. - В кн.: Тр. ин-та краев. патол. МЗ КавССР, Алма-Ата, 1972, 94-101.

55. Земсков В. М. Неспецифическая стимуляция иммунитета. - Пат.физиол. и exper.тер., 1969, 13, 3, 80-85.
56. Иванов В. И., Минченкова Л. Е. Влияние ионов металлов переменной валентности на тепловую денатурацию ДНК. - Биофизика, 1965, 30, 6, 1213-1217.
57. Иванова Т. И., Мирсиков Г. А. Вплив іманину на фагоцитарну реакцію і стан РЕС у експериментальних тварин. - В кн.: Наукові записки Станіслав.мед.і-ту, 4, 1961, 64.
58. Иванова Т. И., Кошик Т. Ф. Вплив мікроелементу йоду на деякі показники реактивності організму. - В кн.: Мікроелементи в біології та медицині. Тези допов.1У наук.монотематич.конф., 1в.Франківськ, 1964, 37-38.
59. Иванова Т. И., Гришило А. Ф., Кошик Т. Ф., Дзюбак С. Т. Влияние йода на выработку иммунных агглютининов и на состояние ретикулоэндотелиальной системы у кроликов. - В кн.: Микроэлементы в медицине, вып.1/ К., 1968, 48-53.
60. Игнатович А. В., Короткова Н. П. Влияние магния, железа, меди и кобальта на образование антител, общего белка и гемоглобина у иммунизированных кроликов. - Тр.Курск.мед.ин-та, 13, 1958, 189-191.
61. Игонин А. М. Гистогенез плазматических клеток при экспериментальной Q-лихорадке. - Булл.exper.биол.мед., 1959, 8, 110-113.
62. Игонин А. М. Плазматические клетки /морфология, функция и происхождение/. - Арх.патол., 1962, 44, 4, 3-12.
63. Ильина Н. И. Влияние кобальта, цинка и витамина B₁ на лечебную эффективность стрептомицина и органы РЕС. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер.1 респ.конфер., Душанбе, 1972, 194-196.
64. Иоффе В. И. Иммунология ревматизма. М., 1962.
65. Каприелов Г. М. Фагоцитарная активность лейкоцитов при добавлении молибдата натрия к крови человека. - В кн.: Тр.Туркменского мед.ин-та им.И.В.Свалина, Ашхабад, т.7-8, 1957, 461-467.

66. Кардович Г. А. Влияние микроэлемента молибдена и его комплекса с аскорбиновой кислотой на состояние неспецифического и специфического иммунитета у животных. - Канд.дисс. Витебск, 1972.

67. Кедровский Б. В. Рибонуклеиновая кислота и ее роль в развитии и функции клетки. - Усп.совр.биол., 1951, 31, 1, 38-56.

68. Кирпичев М. П., Пахомов Ю. Н. Влияние микроэлементов меди и цинка на обмен пантотеновой кислоты у детей дошкольного возраста. - Гиг. и сан., 1971, 8, 110-112.

69. Кирпичев М. П., Пахомов Ю. Н. Синтез лизоцима и обмен пантотеновой кислоты у здоровых детей при устранении дефицита меди в диете. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер. 1 респ.науч.конф. Душанбе, 1972, 9-11.

70. Клемпарская Н. Н. Простая модификация метода Эрне для изучения аутоиммунной реакции у человека. Ж.микробиол., 1970, 7, 135-136.

71. Ковальский В. В. Значение геохимической экологии в определении потребности с/х животных в микроэлементах. - В кн.: Микроэлементы в животноводстве, М., 1962, 5-22.

72. Ковальский В. В., Дмитроченко А. П. Микроэлементы в животноводстве. М., 1962.

73. Ковальский В. В., Пенькова А. Ф. Влияние соединений кобальта на содержание нуклеиновых кислот и активность нуклеаз в тканях овец. Доклады ВАСХНИЛ, 1968, 9, 27-29.

74. Когосова Л. С., Чернушенко Е. Ф. Применение реакции бласттрансформации лимфоцитов для выявления аллергии замедленного типа у больных туберкулезом. - Пробл.туберкулеза, 1970, 4, 75-78.

75. Колпакова А. Г., Прегер С. М. Влияние микроэлементов на антителообразование в культуре ткани. - В кн.: Тр.Томск.НИИ вакцин и сывороток, 1969, т.20, 534-537.

76. Коломийцева М. Г., Вознесенская Ф. М. Влияние меди и марганца в экспериментальных рационах на иммунобиологическую реактивность. - Гиг.и сан., 1968а, 1, 31-34.

77. Коломийцева М. Г., Вознесенская Ф. М. Значение различных соотношений меди и марганца в рационе для защитных реакций организма. - Вопр.питания, 1968, 27, 6, 77-79.

78. Коломийцева М. Г., Вознесенская Ф. М., Исаева Е. А. Содержание меди и иммунобиологическая реактивность животного организма. - Микроэлементы в медицине, Ив.-Франковск, 1969, 112.

79. Коломийцева М. Г., Габович Р. Д. Микроэлементы в медицине. М., 1970.

80. Кособрых А. Н. Изучение иммунологических свойств организма животных под влиянием микроэлементов меди, кобальта, марганца. - В кн.: Микроэлементы в с/х и медицине. К., 1963, 503-504.

81. Кошик Т. Ф. Вплив сірчанокислового цинку на фагоцитоз у експериментальних тварин. - В кн.: Мікроелементи в біології та медицині. Ів.-Франківськ, 1964, 74-75.

82. Кушнирова О. П. Изучение стимулирующего действия йодистого калия на антителообразование в условиях лучевого поражения. Автореф. канд.дисс., Львов, 1968.

83. Лебедев К. А. Первичный иммунологический ответ /изучение динамики появления и морфологии антителосодержащих клеток при помощи непрямого метода Кунса/. - Арх.патол., 1965а, 27, 2, 60-65.

84. Лебедев К. А. Вторичный иммунологический ответ /изучение динамики появления и морфологии антителосодержащих клеток при помощи непрямого метода Кунса/. - Арх.патол., 1965б, 27, 5, 30-35.

85. Лозбин Л. І. Вплив кобальту на природну резистентність і імуногенез в експерименті. Цинк, мідь, кобальт як біоелементи. - Наукові записки, 5, Ів.-Франківськ, 1962, 30.

86. Л о з б и н Л. И. Влияние кобальта на естественную резистентность организма и иммуногенез. - В кн.: Микроэлементы в с/х и медицине. К., 1963, 665.

87. Л о з б и н Л. И. Роль отдельных компонентов пищи в повышении сопротивляемости организма к инфекциям. - В кн.: Рациональное питание, К., 1967, 165-170.

88. Л о з о в о й В. П., Г о р н о в а Т. Ю., К а з н а ч е е в В. П. Изучение лимфоцитов в аутокультуре. Фенотип "спонтанной" трансформации. - Вопр. ревматизма, 1970, 1, 16-21.

89. Л я м п е р т И. М. Этиология, иммунология и иммунопатология ревматизма. М., 1972.

90. М а л е в а н н а я Е. М. К вопросу о биологической роли микроэлемента молибдена. - Тезисы докл. Микроэлементы в мед., Ив.-Франковск, 1965, 102.

91. М а н о й л о в С. Е. О пусковых механизмах первичного биологического действия проникающей радиации. - Рад.биол.тер., 1966, 7, 5, 550-563.

92. М е д у н и ц и н Н. В. Вилочковая железа и аллергическая реакция. - В кн.: Проблемы иммунологической реактивности и аллергии. М., 1971, 227-237.

93. М е ч н и к о в И. И. Избранные биологические произведения. М., 1950.

94. М и а н с а р я н И. Т., П а ш и н я н Э. Р. Особенности трансформации лимфоцитов в отсутствие антигенного стимулятора. - Ж. exper. клин. мед., 1970, 10, 4, 76-84.

95. М и х а й л о в а А. А., П е т р о в Р. В., З а х а р о в а Л. А. Взаимодействие и кооперация клеток при иммунном ответе. - Докл. АН СССР, 1970, 69, 375.

96. М и х а й л о в с к а я О. Г., М у х а м е д о в а И. Г. Некоторые показатели неспецифического иммунитета при лечении ко-амидом тифо-паратифозных больных. - В кн.: Пробл. важнейш. инфкц. забол. Ташкент, 1965, 126.

97. Мусабаев И. К., Усманов С. М., Анарбаев А. Д. Некоторые показатели иммунобиологической реактивности организма больных инфекционным гепатитом на фоне лечения препаратами меди, кобальта, железа и их комплексным соединением. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер.1 науч.конф., Душанбе, 1972а, 99-101.

98. Мусабаев И. К., Усманов С. М., Анарбаев А. Д. О влиянии препаратов марганца и цинка на неспецифическую резистентность организма больных инфекционным гепатитом. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер.1 респ.конфер. Душанбе, 1972б, 103-105.

99. Мусабаев И. К., Николаев А. И., Назармахамедова М. Н. Влияние Со-36 на иммуногенез у иммунизированных животных при антибиотикотерапии. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Матер.1 респ.конфер. Душанбе, 1972, 188-189.

100. Мухаммаджанов Х. Р. Влияние комплексных соединений микроэлементов на факторы иммунитета. Автореф. канд. дисс. Ташкент, 1966.

101. Непесов А. А. Фагоцитарная активность лейкоцитов при добавлении к крови растворов двухлористой ртути. - В кн.: Тр. Туркмен. гос. мед. ин-та им. И. В. Сталина, 1955, т. 5-6.

102. Ников П. С. Некоторые цитохимические и морфобиометрические показатели лимфоцитов крови при йодном дефиците. - В кн. Тр. ин-та краев. патол. МЗ КазССР, Алма-Ата, 1972, 119-126.

103. Николаев А. И. Микроэлементы в патогенезе и лечении лучевой болезни. Ташкент, 1964.

104. Николаев А. И. Иммунологические реакции при химиотерапии. Ташкент, 1969.

105. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. - Пат. физиол. экспер. тер., 1960, 1, 76-85.

106. Павлов А. Д., Бармина Е. Ф. Действие кобальта на синтез рибонуклеиновых кислот и белка. Тезисы секц. сообщ. 2-го Всесоюз. биохим. съезда, Ташкент, 1969, секц. 13, 40-41.

107. Пахомов Ю. Н. Влияние недостаточного поступления микроэлементов индия и железа в организм на его иммунобиологическую реактивность. - Гиг. и сан., 1969, 12, 33-35.

108. Пахомов Ю. Н. Значение некоторых микроэлементов (Ni, Cu, Zn, Fe) для общей иммунологической реактивности животного организма. - Ж. микробиол., 1970, 12, 128-131.

109. Певницкий Л. А., Соловьев В. В., Филитис Л. Н., Соркина Ю. А. Влияние некоторых иммунодепрессантов на образование антител к бараньим эритроцитам. - Бюлл. exper. биол., 1969, 10, 59-63.

110. Пейве Я. В. Микроэлементы и ферменты. Рига, 1960.

111. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. Трансплантационный иммунитет и радиационные химеры. М., 1965.

112. Петров Р. В. Введение в неинфекционную иммунологию. Новосибирск, 1968.

113. Петров Р. В. Форма взаимодействия генетически различающихся клеток лимфоидных тканей /трехклеточная система иммуногенеза/. Усп. совр. биол., 1970, 69, 2, 261-271.

114. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. Радиационная иммунология и трансплантация. М., 1970.

115. Петров Р. В., Манько В. М., Сидорович И. Г. Взаимодействие /кооперация/ клеток лимфоидных тканей в иммуногенезе. - Ж. микробиол., 1971, 2, 3-10.

116. Петров Р. В., Манько В. М. Иммунодепрессоры. М., 1971.

117. Петров Р. В., Чередеев А. Н. Т- и В-лимфоциты. - Усп. совр. биол., 1974, 77, 1, 90-105.

118. Пинегин Б. В., Утешев Б. С. Роль макрофагов в индукции синтеза антител. - Вестн. АМН СССР, 1971, 12, 73-83.

119. Покровская М. П., Краскина Н. А., Левенсон В. И., Гутарова Н. И., Брауде Н. И. Морфология и номенклатура иммунологически компетентных клеток лимфоидной ткани. - Ж.микробиол., 1965, 3, 8-13.

120. Прегер С. М., Дьяконова Т. С., Овсянникова В. В. Влияние сернокислого цинка на иммуногенез в эксперименте. - Тр.Томск.НИИВС, 1966, т.17, 306-312.

121. Прегер С. М., Кулешова О. В., Ярунцева М. В. Влияние раствора сернокислой меди на антитоксинообразование в эксперименте. - Тр.Томск.НИИВС и ТМИ, т.17, 1966, 300-305.

122. Прегер С. М., Пухова Я. И. Роль кобальта в иммуногенезе. - В кн.: Микроэлементы в сельском хозяйстве и медицине. Улан-Удэ, 1966, 2, 45.

123. Прегер С. М. Роль микроэлементов в иммуногенезе. - В кн.: Вопросы гематологии и иммунологии. Душанбе, 1967, 269-270.

124. Прегер С. М. Значение микроэлементов при иммунизации растворимыми антигенами и кровопотерях. Автореф.докт.дисс. Томск, 1969.

125. Савченко А. М. Действие комплексных соединений микроэлементов на антителообразование в эксперименте. - В кн.: Вакцины и сыворотки, К., 1971а, 5, 129-134.

126. Савченко А. М. Изменение уровня белковых фракций сыворотки крови животных, иммунизированных брюшнотифозной вакциной в комплексе с микроэлементами. - В кн.: Вакцины и сыворотки, К., 1971б, 5, 134-137.

127. Сак Ж. М. Влияние хлористого марганца на некоторые показатели иммунобиологической реактивности организма. - В кн.: Некоторые вопр.морфол.и физиол. Минск, 1966, 145.

128. Сак Ж. М., Сытько В. Н. Влияние микроэлементов на фагоцитоз, РЭС, гематологические показатели и белковые показатели крови. - Уч.записки Витебск.вет.ин-та, 1969, 21, 68-72.

129. С в и с т у н Ю. Д. Влияние иммунизации на количественное содержание железа, меди и активность металлосодержащих протеидов в крови животных. - В кн.: Микроэлементы в с/х и мед. К., 1969а, 164-168.

130. С в и с т у н Ю. Д. Роль железа, меди, кобальта и цинка в иммунологической реактивности организма. Дисс.канд., Ив.-Франковск, 1969 б.

131. С е р г е е в П. В., С е й ф у л л а Р. Д., К о л ь ч и н с к а я Т. А. Влияние гидрокортизона на активность лизосомальных ферментов тимуса и селезенки. - Бюлл. эксп. биол., 1973, 75, 47-50.

132. С о д и к о в Э. С. Влияние комплексных соединений кобальта и меди с тубаэидом на течение экспериментального туберкулеза. - Мед.ж. Узбекистана, 1966, 5, 46-50.

133. С т а в н и ч у к В. А. Содержание и распределение в органах и тканях белых крыс кобальта-60, введенного через рот. - Сб. науч. трудов Киргиз. мед. ин-та, посвящен. 50-лет. Советской власти. Фрунзе, 1967, 100-104.

134. С т р у к о в А. И. Иммуноморфология болезней соединительной ткани. - Вестн. АМН, 1974, 2, 9-16.

135. У д р и с П. А., Л и е н д и е н с Р. Содержание микроэлементов в основных кормах Латв. ССР и их роль в питании крупного рогатого скота. Тез. докл. У Всесоюз. совещ. Микроэл. в с/х и мед., Улан-Удэ, 1966, 2, 154.

136. У т е ш е в Б. С., П и н е г и н Б. В., Б а б и ч е в Е. А., Т о р ч и н с к и й Г. А. Действие актиномицина на кинетику популяций антителообразующих клеток. - Ж. Микробиол., 1970, 3, 103-108.

137. У ч и т е л ь И. Я., Х а с м а н Э. Л. О механизме адьювантного действия стимуляторов антителообразования. - Вестн. АМН СССР, 1964, 3, 23-36.

138. У ч и т е л ь И. Я., Х а с м а н Э. Л. Интенсивность синтеза специфических и неспецифических белков в организме на разных этапах иммуногенеза. - В кн.: Вопросы инфекц. патол. и иммунол., М., 1965, 3.

139. Учитель И. Я., Хасман Э. Л. Влияние веществ катаболического и анаболического действия на образование антител. - В кн.: Вопр. инфекц. патол. и иммунол., М., 1968, 44-55.

140. Учитель И. Я., Хасман Э. Л. Участие лизосом селезенки и печени в хранении антигена и антителообразовании. - Вестн. АМН СССР, 1969, 10, 28-34.

141. Учитель И. Я. Индуктивная фаза иммуногенеза и ее регуляция. - В кн.: Современные проблемы иммунологии и иммунопатологии. Л., 1970а, 24-34.

142. Учитель И. Я. Роль лизосом клеток ретикуло-эндотелиальной системы в иммуногенезе. - Вестн. АМН СССР, 1970б, 7, 65-75.

143. Учитель И. Я., Хасман Э. Л. Иммунный ответ и активность катепсинов клеток РЭС у инбредных мышей разных линий. - Ж. микробиол., 1972, 10, 32-36.

144. Учитель И. Я. Лизосомы и иммунитет. - Ж. микробиол. 1973, 8, 64-70.

145. Фищенко Л. Я. Вплив хлористого кобальту на деякі показники імунологічної реактивності організму. - В кн.: Мікроелементи в біології та медицині. Ів.-Франківськ, 1964.

146. Фищенко Л. Я. Экспериментальное исследование иммунобиологической реактивности при введении в организм кобальта и цинка. - В кн.: Вопросы иммунологии. К., 1969, вып. 4, 68-72.

147. Фищенко Л. Я., Ткаченко В. Г. Влияние хлористого кобальта на течение инфекционного процесса. - В кн.: Микроэлементы в медицине. Ив.-Франковск, 1969, 253.

148. Фищенко Л. Я. Влияние кобальта, меди и цинка на тканевое дыхание и проницаемость гисто-гематического барьера органов ретикуло-гистиоцитарной системы. - В кн.: Микроэлементы в медицине, К., 1971, 56-59.

149. Фонталин Л. Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. М., 1967.

150. Фрейдлин И. С. Макрофаги в иммуногенезе. - Ж. микробиол., 1971, 4, 54-60.

151. Фриденштейн А. Я. Иммунологические реакции и целостность организма. - Арх.анат.гист.и эмбриол., 1964, 1, 80-87.

152. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Дифференцировка лимфоидных клеток при образовании антител. - Ж.Всесоюзн.хим.общ. им.Д.И.Менделеева, 1968а, 13, 4, 396-401.

153. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Стволовая лимфоидная клетка и ее дифференцировка. - Усп.совр.биол., 1968б, 66, 1, 87-101.

154. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., 1969.

155. Фукс Б. Б., Ванько Л. В. Взаимодействие макрофага и лимфоцита. Прямое исследование возможности перехода рибонуклеиновой кислоты из макрофага в лимфоцит. - Арх.анат.гист. эмбриол., 1970, 7, 32-37.

156. Фукс Б. Б., Константинова И. В. Цитохимия иммуногенеза в экстремальных и обычных условиях. М., 1973.

157. Чахава О. В. Гнотобиология. М., 1972.

158. Черкасова Е. В. Влияние меди на фагоцитарную активность лейкоцитов лягушки. - В кн.: Тр.Туркмен.гос.мед.ин-та, 1955, т.5-6.

159. Черкасова Е. В. Влияние на фагоцитоз добавления к крови растворов хлористого цинка. - В кн.: Тр.Всесоюзн. общ. физиол., биохим. и фармакол., 1956, 3.

160. Черкасова Е. В. Реакция растущего организма на введение в него цинка. - Здравоохранение Туркменистана, 1957, 2, 36-37.

161. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Родоначальная кроветворная клетка и ее дифференцировка. - Усп.совр. биол., 1966, 62, 1/4/, 97-114.

162. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Действие фитогемагглютинаина на клетки короткоживущих культур лимфоцитов. - Цитол., 1968, 10, 3, 281-295.

163. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Кооперативное взаимодействие клеток при иммунном ответе. - Усп.совр. биол., 1972, 74, 2/5/, 232-307.

164. Шевченко И. Т., Богатов О. П., Хрипта Ф. П. Элементы вариационной статистики для медиков. К., 1970.

165. Школьник М. Я., Макарова Н. А. Микроэлементы в сельском хозяйстве. М., 1957.

166. Allison A. C., Mallucci L. Uptake of hydrocarbon carcinogens by lysosomes. - Nature, 1964, 203, 4949, 1024-1027.

167. Andersson J., Sjöberg O., Möller E. Mitogens as probes for immunocyte activation and cellular cooperation. - Transplant. Revs., 1972, II, 131-177.

168. Andersson J., Melchers F., Galanos Ch., Luderitz O. The mitogenic effect of lipopolysaccharide on bone marrow-derived mouse lymphocytes. Lipid A as the mitogenic part of the molecule. - J. exp. Med., 1973, 137, 4, 943-953.

169. Aronson M. Bridge formation and cytoplasmic flow between phagocytic cells. - J. Exp. Med., 1963, 118, 6, 1083-1088.

170. Askonas B. A., Brent L., Gowland G., Ruszkiewicz M. Failure to change the antigenicity of skin grafts by incubation with allogenic ribonucleic acid. - Nature, 1966, 212, 5067, 1257-1258.

171. Avrameas S., Leduc E. H. Detection of simultaneous antibody synthesis in plasma cells and specialized lymphocytes in rabbit lymph nodes. - J. exp. Med., 1970, 131, 6, 1137-1168.

172. Bach F., Hirschhorn K. Lymphocyte interactions: a potential histocompatibility test in vitro. - Science, 1964, 143, 3608, 813-814.

173. Baran P., Condouliis W. The in vitro transfer of delayed hypersensitivity to rhesus monkey and human lymphocytes with transfer factors obtained from rhesus monkey peripheral white blood cells. - J. Immunol., 1970, 104, 4, 769-779.

174. Berlin N. I. The distribution of cobalt in polycythemic rats. - J. biol. chem., 1950, 187, 1, 41-45.

175. Бернет Ф. (Burnet F.) Целостность организма и иммунитет. Перевод с англ. М., 1964.

176. Бернет Ф. (Burnet F.) Клеточная иммунология. Перев. с англ. М., 1971.

177. Bernhard W., Granbois N. Ultrastructure of immunologically competent cells. Cellular aspect of immunology. Ciba foundation Symposium. London, 1960.

178. Бейли Н. Статистические методы в биологии. Перев. в англ. М., 1962.

179. Breslow E., Girotti A. W. The interaction of ribonuclease with metal ions. I. Studies of cupric and zinc ions and the effect of cytidylic acid. - J. biol.chem., 1966, 241, 23, 5651-5660.

180. Bussard A., Binet J. Electron micrography of antibody-producing cells. - Nature, 1965, 205, 4972, 675.678.

181. Cash W. D., Carlson H. E., Cox S. W. Interaction between Cu (II) and thyroxinelike compounds in mitochondrial swelling studies. - Endocrinology, 1967, 81, 2, 291-298.

182. Chase M. W. Cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1945, 59, 134-135.

183. Chase M. W. Замедленная чувствительность и ее значение. Докл.9-го Международ.конгресса по микробиол. /симпозиумы/. М., 1966, 422-431.

184. Chessin L. N., Börjeson J., Welsh P. D., Douglas S. D., Cooper H. L. Studies on human peripheral blood lymphocytes in vitro. - J. Exp.Med. 1966, 124, 5, 873-884.

185. Chvapil M., Ryan L., Zukoski C. The effect of zinc and other metals on the stability of lysosomes. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1972, 140, 2, 642-646.

186. Claman H. N., Chaperon E. A., Triplett R. F. Thymus-marrow cells combinations synergism in antibody production. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1966, 122, 1167-1171.

187. Claman H. N., Chaperon E. A., Selner J. C. Thymus-marrow immunocompetence. III. The requirement for living thymus cells. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968, 127, 2, 462-466.

188. Clarke J. A., Salisbury N., Willoughby D. A. Application of electron probe microanalysis and electron microscopy to the transfer of antigenic material. - Nature, 1970, 227, 5253, 69-71.

189. Cohn Z. A. The fate of bacteria within phagocytic cells. III. Destruction of an *Escherichia coli*. Agglutinin within polymorphonuclear leucocytes and macrophages. - J. Exp. Med., 1964, 120, 5, 869-883.

190. Coons A. H., Leduc E. H., Connolly M. Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. - J. exp. med., 1955, 102, 1, 49.

191. Cooper H. L., Rubin A. D. Synthesis of non-ribosomal RNA by lymphocytes: a response to PHA treatment. - Science, 1966, 152, 516-518.

192. Cosenza H., Leserman L. D. Cell interactions in antibody formation in vitro. I. Role of the third cell in the in vitro response of spleen cells to erythrocyte antigens. - J. Immunol., 1972, 108, 2, 418-424.

193. Cudkovicz G., Bennett M., Shearer G. M. Pluripotent stem cell function of the mouse marrow "lymphocyte". - Science, 1964, 144, 866.

194. Cudkovicz G., Upton A., Shearer G., Hughes W. Lymphocyte content and proliferative capacity of serially transplanted mouse bone marrow. - Nature, 1964, 201, 4915, 165-167.

195. Cunningham A. A method of increased sensitivity for detecting single antibody forming cells. - Nature, 1965, 207, 5001, 1106-1107.

196. Cunningham A., Smith J. B., Mercer E. H. Antibody formation by single cells from lymph nodes and efferent lymph of sheep. - J. Exp. Med., 1966, 124, 4, 211-224.

197. Dixon F. J., Talmage D. W., Maurer P.H. Radiosensitive and radioresistant phases in the antibody response. - J. Immunol., 1952, 68, 6, 693.

198. Dumonde D. C., Wolstencroft R. A., Panayi G. S., Matthew M., Morley J., Howson W. T. "Lymphokines": non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation. - Nature, 1969, 224, 5214, 38-42.

199. Duncan C. J. Properties and stabilization of the lysosomal membrane. - Nature, 1966, 210, 5042, 1229-1230.

200. Fagraeus A. Antibody production in relation to the development of plasma cells. - Acta med.Scand, 1948, 130, 201, 1-122.

201. Feldman M. Cell interaction in the immune response in vitro. II. The requirement for macrophages in lymphoid cell collaboration. - J. Exp.Med., 1972, 135, 5, 1049-1053.

202. Fishman M., Adler F. L. Antibody formation initiated in vitro. II. Antibody synthesis in X-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen. - J. Exp.Med., 1963, 117, 595-602.

203. Franzl R. E. Immunogenic sub-cellular particles obtained from spleens of antigen-injected mice. - Nature, 1962, 195, 4840, 457-458.

204. Фриден Э. Биохимия меди. - В кн.: Молекулы и клетки, /перев.с англ./. М., 1969, в.4, 136-149.

205. Friedman H. Distribution of antibody plaque forming cells in various tissues of several strains of mice injected with sheep erythrocytes. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1964, 117, 2, 526-538.

206. Elfenbein G. J., Harrison M. R., Green J. Demonstration of proliferation by bone marrow-derived lymphocytes of guinea pigs, mice and rabbits in response to mitogen stimulation in vitro. - J.Immunol., 1973, 110, 5, 1334-1339.

207. E l v e s M., R o a t h S., I s r a e l s M. The response of lymphocytes to antigen challenge in vitro. - Lancet, 1963, I, 7285, 806-807.

208. G a j d o s A. Les lysosomes. - Presse medicine, 1966, 74, 4, 923-928.

209. G o l d s c h n e i d e r I., C o g e n R. B. Immunoglobulin molecules on the surface of activated T-lymphocytes in the rat. - J. Exp.Med., 1973, 138, I, 163-175.

210. G r a n g e r M., H a r r i s E. J. The use of a continuous assay system to show the stimulation in intact mitochondria by valinomycin and by Mn^{++} . - J. Biochem., 1971, 2, 3-4, 151-161.

211. H a l b r e i c h A., W e i s s e n b e r g E. Alteration of the protein synthetic capacity of rat liver preparations in chronic copper deficiency. - Israel J.Chem., 1967, 5,4, 118.

212. H a n k s G. E. In vivo migration of colony-forming units from shielded bone marrow in the irradiated mouse. - Nature, 1964, 203, 4952, 1393-1395.

213. H i r s c h h o r n K., H i r s c h h o r n R. Role of lysosomes in the lymphocyte response. - Lancet, 1965, I, 7394, 1045-1046 .

214. H u n t C. E. C a r l t o n W. W., N e w b e r n e P.M. Interrelationships between copper deficiency and dietary ascorbic acid in the rabbit. - Brit.J.Nutr., 1970, 24, I, 61-69.

215. H u r l e y L. S., T h e r i a n e t L. L., D r e o s t i I. E. Liver mitochondria from manganese-deficient and pallid mice: function and ultrastructure. - Science, 1970, 170, 3984, 1316-1318.

216. I e r n e N. K., N o r d i n A. A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. - Science, 1963, 140, 3, 565.

217. J a c o b s o n E. B., L' a g e - S t e h r J., H e r - z e n b e r g L. A. Immunological memory in mice. II, Cell interaction in the secondary immune response studied by means of immunoglobulin allotype markers. - J. Exp. Med., 1970, 131, 6, 1109-1120.

218. J a n n o s s y G., G r e a v e s M. F. Lymphocyte activation. I. Response of T- and B-lymphocytes to phyto mitogen. - Clin. and Exp. Immunol., 1971, 9, 4, 483-502.

219. J o n e s G. Lymphocyte activation. I. Expression theta, H-2 and immunoglobulin determinations on lymphocytes stimulated by phytohaemagglutinin, pokeweed mitogen, concanavalin A or histocompatibility antigen. - Clin. and Exp. Immunol., 1972, 12, 3, 391-402.

220. J o n e s R. H., W i l l i a m s R. L., J o n e s A. M. Effect of heavy metal on the immune response. Preliminary findings for cadmium in rats. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1971, 137, 4, 1231-1236.

221. K a r l L., C h v a p i l M., Z u k o s k i C. F., Effect of zinc on the viability and phagocytic capacity of peritoneal macrophages. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1973, 142, 4, 1123-1127.

222. K o e n i g H., J i b r i l A. Acidic glycolipids and the role of ionic bonds in the structure linked latency of lysosomal hydrolases. - Biochim. Biophys. Acta, 1962, 65, 543-551.

223. К р о с б и Д ж. Нуклеиновые кислоты. /Перев. с англ./ М., 1962.

224. L' A g e - S t e n h r J., H e r z e n b e r g L. A. Immunological memory in mice. I. Physical separation and partial characterisation of memory cells for different immunoglobulin classes from each other and from antibody-producing cells. - J. Exp. Med., 1970, 131, 2, 1093-1108.

225. L a w r e n c e H. S. The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1949, 71, 516-522.

226. Lawrence H. S., Valentine T. Transfer factor in delayed hypersensitivity. - Ann. N.-Y. Acad.Sci, 1970, 199, 1, 269-279.

227. Ling N. R. Lymphocytes stimulation. London, 1968.
/Стимуляция лимфоцитов. М., 1971/.

228. Lowri O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. - J. Biol.Chem., 1951, 193, 265-275.

229. Lumiere A., Grange R. H. Mode d'action des sels de manganèse dans l'immunisation. - C.r. Soc.biol., 1930, 4, 261-263.

230. Madsen Th. Antitoxinbildung und Antitoxintherapie.- Zeitschr. f. Hyg, und Infektionskrankh., 1924, 103, II, 447.470.

231. Makinodan T., Sontos G. W., Quinn R.P. Immunosuppressive drugs. - Pharm.reviews, 1970, 22, 2, 189-241.

232. Mautsavinovs R., Canelakis E. S. Studies of the biosynthesis of deoxyribonucleic acid by soluble mammalian enzymes. - J. biol.chem., 1959, 234, 3, 628-635.

233. Miller J. F. Immunity and the thymus. - Lancet, 1963, I, 7271, 43-45.

234. Миллер Д., Дукор П. Биология тимуса. /Перев. с англ./ . М., 1967.

235. Miller J. F., Mitchell G. F. The thymus and the precursors of antigen reactive cells. - Nature, 1967, 216, 5116, 659-663.

236. Miller J. F., Mitchell G. F. Cell to cell interaction in the immune response. Hemolysin-forming cells in neonatally thymectomised mice reconstituted with thymus or thoracic duct lymphocytes. - J. Exp.Med., 1968, 128, 801-820.

237. Miller J. F. Interaction entre les cellules de lignee thymique et medullarie, dans la response immunitaire. - Rev. franc. etudes clin. et biol., 1969, 14, 6, 614-621.

238. M i l l e r J. F., B a s t e n A., S p r e n J.,
C h e e r s C. Interaction between lymphocytes in immune res-
ponse.-Cell.immunol., 1971, 2, 469-495.

239. M i l l e r W. S., S m i t h J. G. Effect of acetylsali-
cyclic acid on lysosomes. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med.,1966, 122, 3,
634-636.

240. M i t c h e l l G. F., M i l l e r J. F. Cell to cell
interaction in the immune response. II.The source of hemolysin-
-forming cells in irradiated mice given bone marrow and thymus
or thoracic duct lymphocytes. - J. Exp.Med., 1968, 128, 4,
821-837.

241. M i l l e r R. S., M i l d v a n A. S., C h a n g
H u e i - C h e. The enzymatic carboxylation of phosphoenolpyru-
vate. IV.The binding of manganese and substrates by phosphoenal-
pyruvate carboxylase. - J. Biol.Chem.,1968, 243, 22, 6030-6040.

242. N a k a m o t o T., F o x C. F., W e i s s S. B. Pre-
paration of ribonucleic acid polymerase from extracts of micro-
coccus lysodeikticus. - J. Biol.Chem.,1964, 239, 1, 167-174.

243. N i e b r o j T. K. On the effect of cobalt on nucleic
acid and protein metabolim in rat's bone marrow cultivated in
vitro. - Folia Haematol., 1966, 86, 3, 293-297.

244. N o s s a l G. J. V., A d a G. L., A u s t i n C. M.
Cellular distribution of flagellar antigens labelled with iodine-
-131. - Nature, 1963, 199, 4900, 1259-1262.

245. N o s s a l G. J., C u n n i n g h a m A., M i t -
c h e l l G. F., M i l l e r J. F. Cell to cell interaction in
the immune response.III.Chromosomal marker analysis of single
antibody-forming cell in reconstituted, irradiated or thymecto-
mized mice. - J. Exp.Med., 1968, 128, 5, 839-853.

246. N o s s a l G., B u s s a r d A. In vitro stimulation
of antibody formation by peritoneal cells. I.Plaque technique
of high sensitivity enabling access to the cells. - J.Exp.Med.,
1970, 131, 5, 894-916.

247. Н о с с е л Г. Антитела и иммунитет. /Перев.с англ./ М., 1973.

248. Н о в и к о в А. Лизосомы и родственные им гранулы. - В кн.: Функциональная морфология клетки. /Перев. с англ./ М., 1963, 11-158.

249. P e a r m a i n G., L y c e t t e R. R., F i t z e - g e r a l d P. Tuberculin-induced mitosis in peripheral blood leucocytes. - Lancet, 1963, I, 7282, 637-638.

250. R o i t t I. M., G r e a v e s M. F., T o r r i g i a n i H., B r o s t o f f J. The cellular basis of immunological responses. - Lancet, 1969, 2, 7616, 361-371.

251. R u d d i e N., W a k s m a n B. Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. - J.exp.Med., 1968, 128, 6, 1267-1278.

252. S a b e s i n S. Blastoid transformation of lymphocytes. - Lancet, 1965, 2, 7406, 294-295.

253. S k o r k o w s k a - Z i e l e n i e w s k a J. Proba ustalenia strefy biologicznej des meidzi przez ponnar poziomu kwasow nukleinowych. - Zesz.nauk. Szkoły glavn.gospod.Wiejsk. Warszawie. Technol.Rolnosporyw., 1966, 4, 145-151.

254. С м и т Л. Витамины В₁₂. /Перев.с англ./ М., 1962.

255. S m i t h R. T. Specific recognition reactions at the cellular level in mouse lymphoreticular cell subpopulation. - Transplant.Revs., 1972, II, 178-216.

256. S t r o b e r S., D i l l e y J. Biological characteristics of T and B memory lymphocytes in the rat. - J.exp.Med., 1973, 137, 5, 1275-1292.

257. S t u t t m a n O., G o o d R. A. Absence of Synergism between thymus and bone marrow in graft-versus-host reactions. - Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1969, 130, 3, 848-852.

258. T a k a h a s h i T., C a r s w e l l E. A., T h o r - b e c k e G. J. Surface antigens of immunocompetent cells. I. Effect of θ and PC.I alloantisera on the ability of spleen cells to transfer immune responses. - J.Exp.Med., 1970, 132, 6, 1181-1190.

259. T a p p e l A., S a v a n t P., S h i b e o S. Lysosomes distribution in animals hydrolitic capacity and other propertie. Cyba found.sympos.on lysosomes. London, 1963, 37-73.

260. T a p p e l A. L. Lysosomal enzymes and other components. Lysosomes in biology and pathology. Ed. by Dingle J.T., Fell H.B. Amsterdam-Lond., 1969, 207.

261. T h i e r r y R. C. Role des macrophages et des lymphocytes dans la response immunitaire. - Am.Inst.Pasteur, 1971, 120, 6, 751-757.

262. T h o r D. E., J u r e z i z R. E., V e a c h S. R., M i l l e r E., D r a y S. Cell migration inhibition factor released by antigen from human peripheral lymphocytes. - Nature, 1968, 219, 755-757.

263. T i l l E., M c C u l l o c h E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. - Radiation Res., 1961, 14, 213.

264. T y a n M. L. Fetal liver adult thymus cells: absence of synergism in graft-versus-host reactions. - Proc.Soc.Exp.Biol. Med., 1969, 132, 3, 1183-1185.

265. Т а й е н М. Л. (Т у а н М. Л.) Онтогенез иммунной системы у мышей. Исследования *in vivo* и *in vitro* Онтогенез, 1972, 3, 1, 27-37.

266. У и л м е р Э. Ткани в культуре и *in situ*. - В кн.: Моделирование в биологии /перев.с англ./ М., 1963, 65-84.

267. U n a n u e E. R. Properties and some uses of anti-macrophages antibodies. - Nature, 1968, 218, 5136, 36-38.

268. U n a n u e E. R., A s k o n a s B. A. Persistence of immunogenicity of antigen after uptake by microphages. - J.Exp. Med., 1968, 127, 5, 915-926.

269. V i t e t t a E. S., B a u r S., U h r J. W. Cell surface immunoglobulin. II. Isolation and characterization of immunoglobulin from mice splenic lymphocytes. - J.Exp.Med., 1971, 134, I, 242.

270. W a c k e r W. E., V a l l e e B. L. Nucleic acid and metals. I. Chromium, manganese, nickel, iron and other metals in ribonucleic acid from diverse biological sources. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 12, 3257-3262.

271. W a l b u m G. E. Therapeutic experiments with metal salts. - Acta Pathol. and Microbiol. Scand., 1924, I, 4, 378-411.

272. W a l b u m G. E. Metallsztherapie. - Zeitschr. f. Immunitätsf., 1925, 43, 6, 433.

273. W a l b u m G., S c h m i d t S. Die Bedeutung der Metallseze für die Ambozeptobildung. - Z. Immunol. exper. Therap., 1925, 42, I, 32-43.

274. W a l t e r s C. S., W i g z e l l H. Demonstration of heavy and light chain antigenic determinants of the cell-bound receptor for antigen. Similarities between membrane-attached and humoral antibodies by the same cell. - J. Exp. Med., 1970, 132, 6, 1233-1241.

275. W e i s s m a n G., T h o m a s L. Studies on lysosomes. II. The effect of cortisone on the release of acid hydrolases from a large granule fraction of rabbit liver, induced by an excess of vitamin A. - J. clin. Invest., 1963, 42, 661.

276. W i l l i a m s T. W., G r a n g e r G. A. Lymphocyte in vitro cytotoxicity: lymphotoxins of several mammalian species. - Nature, 1968, 219, 5158, 1076-1077.

277. W i l l o g h l y D. A. Mediators of delayed hypersensitivity reactions. - Intern. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1969, 36, 1-2, 22-28.

278. Z i m m e r m a n B. K. Purification and properties of deoxyribonucleic acid polymerase from *Micrococcus lysodeikticus*. - J. Biol. Chem., 1966, 241, 9, 2035-2041.

279. Z i t t l e , 1946 /цит. по Школьник М.Я., Микроэлементы и нуклеиновые кислоты. Усп. совр. биол., 1969, 67, 1, 3-18/.

СПИСОК БОЛЬНЫХ

Р.Р. п/п	Ф.и.о.	История болезни	Время лечения	Пол	Воз- раст	Диагноз
1	2	3	4	5	6	7
1.	В-ов Л.И.	98	12/1-6/3 -72г.	м	31	Ревматизм, А-Ш. Возврат- ный ревмокардит, сложный митральный порок. Миокар- диосклероз с мерцатель- ной аритмией. Н-ПВ. Ин- фаркт нижней доли право- го легкого.
2.	Н-ко В.Г.	167	4/2-25/III -72г.	м	47	Ревматизм, А-П, сложный митральный порок. Возврат- ный кардит, перикардит. Де- формирующий спондилез.
3.	Ч-ва Р.Б.	232	28/2-29/3 -72г.	ж	27	Ревматизм, А-И, возврат- ный эндомиокардит, аортит. Недостаточность митраль- ного клапана. Полиартрал- гия. Хронический холецист- тит.
4.	Ч-ая Ф.В.	266	9/3-6/4 -72г.	ж	32	Ревматизм, 1-1, возврат- ный эндомиокардит. Слож- ный митральный порок с преобладанием стеноза. Н-ПА. Невростенический синдром.
5.	К-ва Е.С.	285	16/3-7/4 -72г.	ж	21	Ревматизм, неактивная фаза. Возвратный эндоми- окардит. Недостаточность митрального клапана, Н-1. Хронический тонзиллит.
6.	Ж-ов В.Т.	261	7/3-26/3 -72г.	м	45	Ревматизм в фазе скрытой активности. Возвратный кардит. Сложный митраль- ный порок с преобладани- ем стеноза левого венос- ного отверстия. Относи- тельная недостаточность трехосворчатого клапана. Миокардиосклероз. Н-1А.
7.	Ж-ов В.Н.	217	23/2-4/4 -72г.	м	37	Ревматизм, А-П. Митраль- ноаортальный порок. Воз- вратный кардит. Н-ПА.

1	2	3	4	5	6	7
8. Б-ва К.Г.	221	24/2-24/3 -72 г.	ж	35	Инфекционный неспецифический полиартрит с медленно прогрессирующим течением, с преимущественными пролиферативными изменениями в суставах. А-П, ФН-Ш.	
9. В-ин М.Г.	276	13/3-21/3 -72 г.	м	35	Ревматизм, А-1. Возвратный кардит. Искусственный митральный клапан /опер. X-1971г./ . Миокардиосклероз с мерцательной аритмией. Н-ПА.	
10. Г-ев И.И.	218	23/2-25/3 -72 г.	м	58	Инфектарит, экссудативно-пролиферативная фаза А-П, ФН-П. Хронический гепатит. Эмфизема легких.	
11. В-ан М.Г.	293	18/3-20/4 -72 г.	м	40	Ревматизм, А1-П. Сложный митральный порок. Возвратный кардит. Миокардиосклероз с мерцательной аритмией, П-ПА-Б с наклонностями к сердечной астме. Хронический астматический бронхит.	
12. В-ва И.Ф.	347	4/4-26/4 -72 г.	м	41	Ревматизм активная фаза. Сложный митральный порок. Возвратный кардит. Н-ПА. Кровохарканье. Хронический гайморит.	
13. Д-ло Л.Д.	860	4/10-6/11 -72 г.	ж	29	Инфектарит с экссудативно-пролиферативными изменениями в суставах. 1-1. ФН-1. Миокардиодистрофия.	
14. А-ов С.К.	9968	10/10-6/11 -72г.	м	43	Ревматизм, А-1. Ревматический миокардит. Н-О. Полиартралгия. Хронический тонзиллит.	
15. И-на Л.И.	942	28/10-13/12	ж	34	Ревматизм, неактивная фаза. Недостаточность митрального клапана. Миокардиосклероз. Н-О. Обострение хронического гломерулонефрита с элементами нефротического синдрома.	

1	2	3	4	5	6	7
16. Ш-ук В.С.	935	26/10-25/11 -72 г.	ж	35	Ревматизм, А-1. Сложный митральный порок. Миокардитический кардиосклероз. Н-ПА.	
17. С-ва К.Г.	1001	4/11-23/11 -72 г.	ж	31	Инфекционно-неспецифический полиартрит /начальные проявления/.	
18. К-ан Б.Б.	980	9/11-22/11 -72 г.	ж	27	Полиартрит смешанной этиологии /инфекционный неспецифический и псориазический/. Распространенный псориаз, прогрессивная стадия.	
19. Б-ук Е.И.	999	16/11-21/12 -72 г.	ж	39	Инфектартирит с экссудативно-пролиферативными изменениями в суставах. А-П, ФН-П.	
20. С-ой С.А.	1027	24/11-20/12 -72 г.	ж	24	Ревматизм, неактивная фаза. Недостаточность митрального клапана. Осложнения явления церебрального ревматического синдрома. Хронический холецистит.	
21. З-ий Н.В.	1030	25/11-71г.- 17/1-73г.	ж	30	Ревматизм, А-1. Сложный митральный порок с преобладанием недостаточности митрального клапана. Возвратный кардит с явлениями коронарита. Н-ПА. Церебральный эндосклероз.	
22. Т-ко Л.Н.	1507	17/11-2/12 -72г.	ж	24	Ревматизм, А-1. Недостаточность митрального клапана. Н-О. Хронический тонзиллит.	
23. И-ва Л.И.	1693	22/11-72г.- 13/1-73 г.	ж	43	Инфектартирит с медленно прогрессирующим течением, экссудативно-пролиферативная фаза. А-П, ФН-П.	
24. Д-са Л.А.	1044	30/11-72г.- 17/1-73 г.	ж	43	Инфектартирит, экссудативно-пролиферативная фаза. А-П, ФН-П. Миокардиодистрофия.	

1	2	3	4	5	6	7
25.	Г-ук Н.Я:	1051	1/12-9/12 -72 г.	ж	19	Ревматизм, А-1. Первичный кардит, узловатая эритема
26.	Ф-ев В.Н.	1117	23/12-72г. 24/П-73 г.	м	25	Ревматизм, АП-Ш. Возвратный ревмокардит после митральной комиссуротомии /11-72 г./ с чертами подострого эндокардита. Миокардиосклероз с мерцательной аритмией. Н-ПВ.
27.	Х-ра Т.Н.	1311	27/12-72г. 10/П-73г.	ж	17	Ревматизм, А-П. Возвратный кардит. Сложный митральный порок. Н-1. Хронический тонзиллит.
28.	Ш-эйн Р.Ф.	1136	29/12-72г.	ж	32	Ревматизм, А-П. Возвратный эндомиокардит. Сложный митральный порок, Н-ПВ. Двусторонняя застойная пневмония. Астматический бронхит.
29.	К-ко В.А.	910	18/10- 17/11-72г.	ж	32	Ревматизм, А-1-П. Ревмокардит. Недостаточность митрального клапана, Н-О.