

Ю. А. БЕРЕЗАНЦЕВ, Е. Н. ОПАРИН

ТЕЛЕРГОНЫ ЛИЧИНОК ЦЕСТОД, ИНГИБИРУЮЩИЕ ХЕМОТАКСИС ЛЕЙКОЦИТОВ ХОЗЯЕВ

(Представлено академиком Е. М. Кренсом 5 IX 1975)

Все живые организмы в природе входят в состав биогеоценозов и находятся в сложнейших взаимоотношениях, возникших в процессе эволюции. Одной из форм таких отношений служат химические связи. Растения и животные на протяжении жизнедеятельности выделяют во внешнюю среду биологически активные вещества для воздействия на другие организмы. Такие вещества, выделяемые животными, Я. Д. Киршенблатом в 1957 г. были названы телергонами и классифицированы ⁽¹⁾. Одна группа выделяемых веществ влияет на особей того же вида (гомотелергоны): обеспечивает ориентировку на местности, привлекает противоположный пол, служит сигналом тревоги и т. д. Другая группа соединений воздействует на особей другого вида (гетеротелергоны): предохраняет от нападения врагов, оказывает возбуждающее или наркотическое действие, вызывает определенное поведение и т. д. В 1959 г. был предложен термин «феромоны» для обозначения веществ, называемых гомотелергонами. Этот термин в настоящее время широко применяют в литературе ⁽²⁾. Телергоны весьма разнообразны по химическому составу, однако общим свойством таких биологических регуляторов является высокая активность их в минимальных концентрациях. Химическая экология как наука, изучающая роль химических веществ во взаимодействии организмов, сравнительно молода, хотя и располагает уже многими фактами.

В процессе эволюции постоянные паразиты, особенно эндопаразиты, также приобретают способность химического воздействия на своего хозяина. Наиболее выраженное влияние оказывают тканевые паразиты, которые входят в интимные связи с хозяином и его защитными механизмами. В серии работ по тканевому паразитизму личинок гельминтов в промежуточных и резервуарных хозяевах на гистологическом уровне Ю. А. Березанцевым ⁽³⁻⁹⁾ впервые было показано, что они подавляют воспалительную лейкоцитарную реакцию и вызывают процесс специфической инкапсуляции. При экспериментальном стробилоцеркозе установлено подавление фагоцитарной активности лейкоцитов ⁽¹⁰⁾. В прямых опытах доказано ингибирование хемотаксиса лейкоцитов экзометаболитами личинок цестод ⁽¹¹⁾. Нами установлена способность нативных экзометаболитов (ЭМ) личинок цестод (тканевых паразитов): плероцеркоидов *Schistocephalus solidus* из брюшной полости трехиглой колюшки, *Diphyllbothrium latum* из мышц ершей, стробилоцерков *Hydatigera taeniaeformis* из печени белых крыс — угнетать хемотаксическую активность лейкоцитов *in vivo* (капиллярная методика, разработанная на кафедре эпидемиологии Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института, с применением 5-канальных плоскопараллельных капилляров Перфильева — Габее ⁽¹²⁾ с отверстиями 30—40 × 70 мкм, метод кожного окна по Хоуку ⁽¹³⁾ и *in vitro* (метод Бойдена ⁽¹⁴⁾). ЭМ личинок цестод получали аналогично описанным

методикам извлечения «метаболических» антигенов (экскреторно-секреторных продуктов) личинок трихинелл ⁽¹⁵⁾. Паразитов брали от естественно инвазированных промежуточных хозяев, многократно промывали стерильным сбалансированным солевым раствором Хэнкса (рН 7,3), близким по составу к сыворотке крови. После этого помещали на 30 мин. в стерилизующую среду (раствор Хэнкса с антибиотиками — по 1000 ед. пенициллина и стрептомицина на 1 мл среды), снова многократно отмывали от антибиотиков и инкубировали 18–20 час. в 10-кратном количестве раствора Хэнкса: плероцеркоидов при температуре 7–8°, стробилоцерков — при 37°. При этом рН раствора Хэнкса (имеющий рН 7,3) несколько изменялся в кислую сторону за счет выделения личинками цестод недоокисленных продуктов обмена — летучих жирных кислот. Экстракция их бензолом приводила рН к исходным цифрам.

В ЭМ методом Лоури всегда определялся белок в количествах от 50 до 250 мкг на 1 мл (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

рН и количество белка в растворе Хэнкса,
содержащем ЭМ личинок гельминтов

Личинки гельминтов	рН	Содержание белка, мкг/мл
<i>S. solidus</i>	6,9–7,1	37–60
<i>D. latum</i>	6,5–6,8	112–175
<i>H. taeniaeformis</i>	6,3–6,7	125–250

Т а б л и ц а 2

Влияние ЭМ (нативных и после удаления белков)
на хемотаксис лейкоцитов

Личинки гельминтов	Нативные ЭМ	ЭМ после удаления белков	Раствор Хэнкса
<i>S. solidus</i>	197,0±47,1	204,0±51,0	425,0±65,5
<i>D. latum</i>	46,0±11,0	37,5±7,5	81,3±19,2
<i>H. taeniaeformis</i>	103,6±30,2	126,4±28,3	183,7±33,4

Влияние нативных ЭМ и их компонентов на хемотаксис лейкоцитов исследовали по методу Бойдена. В табл. 2–4 цифровые данные означают число лейкоцитов, мигрирующих на обратную сторону мембранного фильтра на указанные вещества. Для контроля везде введен раствор Хэнкса. Для удаления белков ЭМ личинок цестод помещали на 10 мин. в водяную баню при 100°. Хлопья денатурированного белка при центрифугировании (30 мин. при 5000 об/мин.) выпадали в осадок, светлую надосадочную жидкость фильтровали через стерильный бумажный фильтр. Контрольное исследование жидкости на белок давало отрицательные результаты; рН при этом практически не менялся. После удаления белков ЭМ полностью сохраняли свое ингибирующее влияние на хемотаксис лейкоцитов (табл. 2).

Таким образом, телергоны личинок гельминтов не имеют белковой природы и термостабильны. Для более убедительного подтверждения такого заключения 5 мл раствора Хэнкса с ЭМ диализировали в стерильных целлофановых мешочках против 5000 мл свежеприготовленного раствора

Хэнкса в течение суток при комнатной температуре. Диализаты не ингибировали хемотаксис лейкоцитов, как это наблюдалось у нативных ЭМ. Поэтому телергоны, угнетающие хемотаксис лейкоцитов, не относятся к высокомолекулярным соединениям (табл. 3).

Конечными продуктами анаэробного обмена гельминтов служат летучие жирные кислоты (¹⁶). Для исключения действия этих кислот на хемотаксис лейкоцитов их экстрагировали бензолом, в котором они хорошо растворимы. К 5 мл раствора Хэнкса с ЭМ прибавляли 20 мл бензола, перемешивали в колбе Эрленмейера магнитной мешалкой в течение 1,5—2 час. и отделяли делительной воронкой. После экстракции летучих жирных кислот ингибирование хемотаксиса лейкоцитов ЭМ не изменяется (различие статистически недостоверно с $p > 0,05$). Это доказывает, что летучие жирные кислоты не играют роли в угнетении хемотаксиса лейкоцитов (табл. 4).

Т а б л и ц а 3

Влияние нативных ЭМ и их диализатов на хемотаксис лейкоцитов

Личинки гельминтов	Нативные ЭМ	Диализаты	Раствор Хэнкса
<i>S. solidus</i>	197,0±47,1	623,5±105,5	425,0±65,5
<i>D. latum</i>	78,8±25,3	159,0±56,5	129,2±36,0
<i>H. taeniaeformis</i>	103,6±30,2	364,5±73,2	183,7±33,4

Т а б л и ц а 4

Влияние экзометаболитов (нативных и после удаления летучих жирных кислот) на хемотаксис лейкоцитов (в скобках указан pH)

Личинки гельминтов	Нативные ЭМ	ЭМ после удаления кислот	Раствор Хэнкса
<i>S. solidus</i>	119,9±18,7 (7,0)	114,8±24,3 (7,4)	166,8±23,9 (7,3)
<i>D. latum</i>	62,8±14,2 (6,8)	53,2±16,1 (7,3)	100,0±13,0 (7,3)
<i>H. taeniaeformis</i>	78,7±13,5 (6,7)	46,4±9,8 (7,4)	116,0±24,8 (7,3)

Следовательно, телергоны личинок цестод, угнетающие хемотаксис лейкоцитов хозяина, термостабильны, имеют небелковую природу, диализируются и не относятся к группе летучих жирных кислот. Для выяснения химического состава этих веществ необходимы дальнейшие тонкие исследования.

Сходство результатов, полученных при исследовании экзометаболитов личинок различных видов цестод, позволяет предполагать наличие в них идентичных или аналогичных по химическому строению низкомолекулярных соединений, угнетающих хемотаксис лейкоцитов лабораторных животных. Угнетение хемотаксиса лейкоцитов, по-видимому, одно из условий существования паразитов в тканях хозяина.

- ¹ Я. Д. Киришенблат, Телергоны — химические средства взаимодействия животных, М., 1974.
- ² P. Karlson, M. Lüscher, Nature, v. 183, 4653, 55 (1959).
- ³ Ю. А. Березанцев, Тр. Астраханск. заповедника, т. 6 (1962).
- ⁴ Ю. А. Березанцев, Acta veterinaria, Acad. Sci. Hungaria, v. 12, 87 (1962).
- ⁵ Ю. А. Березанцев, Вестн. Ленингр. унив., № 21, сер. биол., в. 4, 42 (1962).
- ⁶ Ю. А. Березанцев, Медицинская паразитология, № 2, 171 (1963).
- ⁷ Ю. А. Березанцев, В сб.: Проблемы общей и прикладной гельминтологии, «Наука», 1973.
- ⁸ Ю. А. Березанцев, ДАН, т. 220, № 1, 227 (1975).
- ⁹ Ю. А. Березанцев, Тр. Астраханск. заповедника, т. 11, 7 (1968).
- ¹⁰ Е. П. Гаврилова, В сб.: Тез. докл. XXXII научн. конфер. аспирантов, Л., 1972.
- ¹¹ Е. Н. Опарин, В. сб.: Некоторые актуальные вопросы биологии и медицины, в. 3, 189, Горький, 1974.
- ¹² Б. В. Перфильев, Д. Р. Габее, Капиллярные методы изучения микроорганизмов, М.—Л., 1961.
- ¹³ J. C. Houck, Immunopathology of Inflammation, Amsterdam, 1971, p. 39.
- ¹⁴ S. Boyden, J. Exp. Med., v. 115, № 3, 453 (1962).
- ¹⁵ Г. А. Ермолин, Тр. Всесоюзн. ин-та гельминтол. им. К. И. Скрябина, т. 17, 271 (1971).
- ¹⁶ T. Brand, Zs. Parasitenk., B. 45, № 2, 109 (1974).