

ТОМ XXXVI

Основаны в 1948 г.

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ
И БИОХИМИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ
ГЕЛЬМИНТА
И ХОЗЯИНА**

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

**Ответственный редактор
доктор биологических наук
М. Д. СОНИН**



МОСКВА "НАУКА"

1988

Настоящий сборник включает работы по вопросам формирования иммунитета при гельминтозах, биохимическим аспектам взаимоотношений в системе паразит-хозяин и роли покровных тканей гельминтов в защите от воздействия хозяина.

Сборник представляет интерес для гельминтологов и паразитологов, работающих в области иммунитета, биохимии, экспериментальной и практической терапии животных.

Табл. 13. Ил. 15. Библиогр.: 547 назв.

Рецензенты: *Т.И. Попова, И.И. Бенедиктов*

Научное издание

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГЕЛЬМИНТА И ХОЗЯИНА**

Труды гельминтологической лаборатории

Том XXXVI

Утверждено к печати Гельминтологической лабораторией
Академии наук СССР

Редактор издательства *Р.Л. Цыбульская*. Художественный редактор *Н.Н. Власик*
Технические редакторы *Г.П. Каренина, Г.И. Астахова*
Корректор *З.Д. Алексеева*

Набор выполнен в издательстве на наборно-печатающих автоматах

ИБ № 36013

Подписано к печати 05.04.88. Т — 00073. Формат 70 × 100 1/16
Бумага офсетная № 1. Гарнитура Пресс-Роман. Печать офсетная
Усл. печ. л. 9,1. Усл. кр.-отт. 9,3. Уч.-изд. л. 11,5. Тираж 750 экз.
Тип. зак. 270. Цена 2р. 30к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство "Наука"
117864 ГСП-7, Москва В-485, Профсоюзная ул., д. 90
Ордена Трудового Красного Знамени 1-я типография издательства "Наука"
199034, Ленинград В-34, 9-я линия, 12

2005000000-140

И 042(02)-88 — 250-88-11

© Издательство "Наука, 1988

ISBN 5-02-004656-6

ISSN 0568-5524

ПРЕДИСЛОВИЕ

Гельминтология как наука получила свое развитие за годы Советской власти. Исследования в области биохимии гельминтов и иммунитета при гельминтозах были начаты в Лаборатории гельминтологии в 1956 г. по инициативе акад. К.И.Скрябина. К.И.Скрябин указывал на важность изучения обмена гельминтов для сравнительной физиологии и биохимии, а также для решения актуальных практических задач борьбы с гельминтозами.

Первым руководителем сектора биохимии, физиологии и иммунитета и организатором этих исследований в стенах лаборатории была заслуженный деятель науки проф. Н.П.Шихобалова, которая является пионером разработки проблем иммунитета при гельминтозах. Ею еще в 1935 г. в соавт. с проф. Р.С.Шульцем была опубликована первая печатная работа, посвященная проблеме иммунитета при гельминтозах. К.И.Скрябин по этому поводу писал, что «авторы этой статьи впервые "подняли" эту проблему и тем возбудили к ней большой интерес со стороны ветеринарных врачей, медиков и биологов». И действительно, вопросы иммунитета всегда оставались неотъемлемой частью тематики Лаборатории гельминтологии. Они нашли свое отражение в последующих работах, посвященных изучению роли витамина А в формировании иммунитета: в расшифровке механизма участия витамина А в повышении резистентности животных к гельминтам и установлении роли этого соединения в синтезе иммуноглобулинов.

Исследования, проводимые в лаборатории в области биохимии гельминтов, были посвящены изучению различных сторон белкового обмена, механизма транспорта аминокислот и их роли в осуществлении некоторых физиологических функций и процессов. Большое внимание уделялось исследованиям синтеза биологически активных соединений в тканях гельминтов, таких, как некоторые жирорастворимые витамины, стероиды, амины, и их роли в обменных процессах. Основные результаты этих исследований нашли свое отражение в монографии О.А.Шишовой-Касаточкиной, З.К.Леутской "Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина" — первой советской монографии по этому вопросу, а также в ряде тематических сборников.

В последние годы в Лаборатории гельминтологии биохимические исследования проводятся в плане изучения взаимоотношений в системе гельминт—хозяин. Выбор этого подхода в исследованиях обусловлен тем, что взаимоотношения организмов в системе паразит—хозяин определяются взаимной адаптацией партнеров в этой системе и реализуются на уровне молекулярных реакций. Поэтому без изучения взаимоотношений на биохимическом уровне невозможно успешное решение таких вопросов, как повышение резистентности животных к гельминтам и регуляции численности последних. В связи с этим в лаборатории в последние годы биохимические исследования проводятся по трем основным направлениям: изучение роли ферментов белкового обмена в адаптации гельминтов; исследование особенностей обмена ряда биологически активных веществ у гельминтов и их хозяев; изучение особенностей формирования иммунитета при гельминтозах в целях поиска путей повышения естественной сопротивляемости животных к гельминтам. Результаты некоторых исследований, проводимых в плане этих направлений, нашли свое отражение в публикуемом сборнике.

Доктор биологических наук М.Д.Сонин

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ И КЛИНИКЕ ГЕЛЬМИНТОЗОВ

Б.А. АСТАФЬЕВ

*Институт медицинской паразитологии и тропической медицины
им. Е.И. Марциновского Минздрава СССР*

Патогенез гельминтозов (Г) чрезвычайно сложен, а клиника многообразна: от бессимптомного (субклинического) течения до тяжелейших форм с летальным исходом. Это объясняется сложным и разнообразным воздействием множества внешних и внутренних патогенетических факторов, влияние которых закономерно изменяется в зависимости от стадии и длительности болезни, а также зависит от случайных обстоятельств. Большое значение, в частности, имеют сенсibilизация, степень иммунодепрессивного действия гельминтов, выраженность аутоиммунных реакций, в том числе аутоаллергических.

Сенсibilизация и аллергия при гельминтозах

Ведущим патогенетическим фактором при Г является сенсibilизация с готовностью к аллергическим реакциям (АР) при повторном поступлении антигенов (АГ) гельминта. Последнее — закономерно, в связи с чем Г относят к заболеваниям с обязательным аллергическим компонентом. Роль аллергенов могут играть и функциональные и соматические АГ гельминтов, на которые вырабатываются антитела (АТ), называемые гомоцитотропными и относящиеся к разным классам иммуноглобулинов: в основном к IgE и в меньшей степени — IgA, IgG, способные обратимо адсорбироваться на поверхности клеток хозяина. Количество аллергенов, нужное для сенсibilизации и для провокации АР, чрезвычайно мало.

При Г IgE играет двойную роль: 1) фиксируясь на тучных клетках (ТК) и базофилах крови, сенсibilизирует их, являясь одним из важнейших механизмов их дегрануляции при повторном воздействии АГ паразита; 2) обеспечивает фиксацию эозинофилов на паразитах, однако при условии: если последние по тем или иным причинам не способны оказывать иммуносупрессивное действие на механизмы иммунитета хозяина. IgE — гликопротеид с молекулярным весом 190 000. F_c-фрагмент имеет вдвое большую массу по сравнению с F_c-фрагментами других иммуноглобулинов, что обеспечивает избирательную фиксацию этого иммуноглобулина к ТК и базофилам. Синтез IgE индуцируется Т-хелперами. Вероятность заболеть аллергическими болезнями и склонность к гиперреактивности прямо пропорциональны содержанию IgE в сыворотке крови новорожденного, причем уровень IgE обеспечивается одним геном. Экспериментально доказана зависимость продукции IgE в ответ на инвазию гельминтами от наследственных особенностей хозяина. У больных Г уровень IgE существенно превышает таковой у здоровых, хотя и не постоянен. Для выработки IgE у мышей необходимо наличие гена I_g-1. Этот ген обнаружен и у человека. Он сочетается с наличием различных вариантов АГ тканевой совместимости HLA. У лиц, страдающих теми или иными иммунологическими болезнями, встречаемость некоторых антигеновых типов HLA значи-

тельно большая, чем среди населения в целом (1, 38). Установлена зависимость между заболеваемостью поллинозом одновременно на пыльцу растений из разных семейств и HLA фенотипами B7 и DR2 (31). Обнаружена более высокая встречаемость АГ В7, В17 и В21 у больных альвеококкозом, чем в группе здоровых лиц (28).

По классификации Гелла, Кумбса (32), которой в настоящее время с некоторыми изменениями и дополнениями придерживается большинство авторов, выделяют четыре типа АР.

При АР I типа АГ соединяется с фиксированным на ТК, базофилах, тромбоцитах IgE, что обуславливает деструкцию этих клеток, выделение и последовательную активацию большого количества фармакологических веществ медиаторного действия (М-веществ): гистамина, калликрейна, брадикинина, ацетилхолина, гепарина, медленно реагирующего вещества анафилаксии (slow reacting substance -SRS-A), анафилатоксина, арилсульфатазы А, химазы, эозинофильного хемотаксического фактора (ECF-A) и др. Эти вещества действуют на сосуды, гладкую мускулатуру и другие клетки-мишени, свертывающие систему крови. Н.Д. Беклемишев (12) считает, что АР I типа следует рассматривать как часть иммунного механизма, выработанного для защиты от инвазий в первую очередь гельминтами. Этот тип реакции лежит в основе аллергии немедленного типа, в том числе анафилактического шока (АШ).

АР II типа возникает в случае соединения АГ в присутствии комплемента с цитотоксическими лизирующими АТ классов IgG и IgM, фиксированными на клетках различных тканей и органов с последующим их повреждением. Этот иммунологический механизм, по существу, направлен на уничтожение микробов с помощью лизиса, однако в случаях фиксации АГ на клетках могут возникать аллергические заболевания типа гемолитической анемии, пурпуры, аутоиммунной гемолитической анемии и др.

АР III типа, или реакция Артюса, характеризуется повреждением ткани иммунными комплексами. При поступлении в высокоиммунный организм необычно больших количеств АГ образуются циркулирующие иммунные комплексы с АТ IgG- и IgM-классов, на которых фиксируется комплемент. По современным представлениям в реакции связывания комплемента участвуют в определенной последовательности девять компонентов. При активизации комплементного фактора C₃, находящегося в плазме крови, образуется анафилатоксин. Он высвобождает из нейтрофильных лейкоцитов SRS-A и лизосомальные ферменты, в результате чего поражаются базальная мембрана сосудистой стенки и функциональные клетки органов (гепатоциты, нефротелий, кардиомициты и др.). Этот механизм включается при избытке АГ. При большом количестве анафилатоксина может возникнуть тяжелый необратимый АШ. Этот тип АР может включаться в случаях спонтанной гибели тканевых гельминтов или при специфической антигельминтной терапии при тканевых гельминтозах (38, 10).

АР IV типа, замедленного (или туберкулинового) типа или опосредованная клетками (cell mediated), характеризуется развитием гиперчувствительности, при которой сенсibilизированные лимфоциты реагируют со специфическими АГ в основном в присутствии макрофагов. При этом из лимфоцитов высвобождаются в большом количестве лимфокины, приводящие ко вторичным изменениям. Реакция этого типа развивается при всех Г как обязательный компонент патологического процесса.

В АР проявляются как защитные, так и болезнетворные черты (1). Элементы защитного характера проявляются в ускоренной элиминации паразитов при повторных инвазиях, в освобождении от части гельминтов при чрезмерно интенсивных инвазиях, в образовании препятствий для мигрирующих личинок с целью их последующего обезвреживания, особенно в случаях суперинвазий, и т.д.

Наиболее простым и показательным тестом АР при Г является эозинофилия периферической крови, которая при первичной инвазии появляется на 7-10-й день, при повторных — значительно раньше. При Г, аллергических заболеваниях число эозинофилов (Э) значительно увеличивается, иногда достигая десятков тысяч в 1 мкл (при

норме - 150—300). Эозинофила является клеткой-эффектором АР. Установлен синергизм ТК и Э. Выделяемые при дегрануляции ТК медиаторы стимулируют Э. Гистамин и тетрапептиды ТК значительно увеличивают паразитоцидную активность Э. Вместе с тем пероксидаза Э тесно связывается с гранулами ТК, что значительно усиливает также и их паразитоцидную активность.

В поздней (хронической) фазе Г, когда аллергические проявления болезни уменьшаются, количество Э в периферической крови находится в пределах нормальных величин или незначительно превышает верхнюю границу нормы.

Наиболее выраженные аллергические изменения наблюдаются в случаях заражения малоадаптированными видами гельминтов (транзитными, факультативными), при тканевых гельминтозах и в случаях супер- и реинвазий (6).

Физиологические особенности организма хозяина находятся под контролем его центральной нервной системы, которая через гипоталамо-гипофизарную систему оказывает влияние на все функции организма, в том числе и на АР. Эмоции также могут влиять на возникновение АР и особенности их протекания. Физиологические особенности организма хозяина, в свою очередь, зависят от его генотипа, возраста, факторов внешней среды. Общий фон реактивности, на котором воспроизводится сенсibilизация или разрешающее воздействие, существенно отражается на способности организма к воспроизведению АР и их качестве.

При первичном заражении АР могут возникать значительно раньше, чем развивается сенсibilизация к АГ соответствующего гельминта. Это можно объяснить сенсibilизацией к другим видам гельминтов или микроорганизмам, имеющим общие (групповые) АГ с данным возбудителем. Могут развиваться также неспецифические АР, при которых параллерген имеет химическое сродство с АГ, ответственным за состояние аллергии.

АР при всех Г сопровождаются однотипными функциональными нарушениями. При этом в патологический процесс вовлекаются все системы организма, но в разной степени. Выраженность острой и хронической фаз аллергического воспаления находится в сложной многопричинной зависимости от доз, числа заражений, интервалов между ними, индивидуальной реактивности организма хозяина (11).

Аллергические реакции немедленного типа

Итак, возможны два пути развития АШ: по I и III типу АР. Оба механизма могут включаться одновременно, что резко ухудшает прогноз. Во всех случаях АШ при Г включается первый механизм, а в наиболее тяжелых случаях, сопровождающихся массивным поступлением АГ в ткани и кровеносное русло (например, при разрыве эхинококкового пузыря) — также и второй.

Тучная клетка — важнейший элемент АР немедленного типа. На поверхности ТК и базофилов крови имеются поверхностные рецепторы для F_c -фрагмента IgE. Эти рецепторы могут связывать IgE любой антиантгенной специфичности и не связывают иммуноглобулины других классов. Дегрануляция ТК запускается, когда фиксированные на ТК две рядом расположенные молекулы IgE с помощью аб-фрагментов соединяются с АГ, который, следовательно, должен быть как минимум двухвалентным. При этом активизируется система ферментов, в клетку поступают ионы кальция, после чего начинается дегрануляция. Дегранулирующая ТК выделяет большое количество биологически активных веществ. Одним из них является гистамин, составляющий 10% массы гранул. ТК — главный источник гистамина. Наиболее богаты ТК и соответственно гистамином кишка, легкие, печень, подкожная клетчатка, что является морфологической и физиологической предпосылкой к развитию выраженных АР при тех Г, возбудители которых или мигрируют через эти органы на стадии личинки или паразитируют в них на половозрелой стадии. Вместе с тем установлено, что сенсibilизация в наибольшей степени развивается в том органе, в который был введен АГ (1), а применительно к Г, через который мигрировал, проходил очередную линьку или

погиб гельминт или его личинка. В развитии АР немедленного типа, как сказано выше, принимают участие также и ряд других биологически активных веществ.

АР немедленного типа проявляются при Г быстро наступающими морфологически выраженными явлениями сосудисто-гуморального характера: эозинофилией и тромбоцитопенией крови, крапивницей, бронхиальной астмой, гиперемией, кровоизлияниями, тканевыми отеками, лихорадкой, гипотонией, АШ.

Опубликовано большое число работ с описанием АШ у больных Г людей и животных (10). Из публикаций отечественных и зарубежных авторов нам удалось собрать сведения о 385 случаях АШ у больных Г людей, в 171 из них (44,4%) — с летальным исходом. Подавляющее большинство составили больные гидатидозными эхинококкозом и аскаридозом. В 56 публикациях сообщается о 244 случаях АШ у больных эхинококкозами, из них 45 (18,4%) — с летальным исходом. Наибольшее число случаев приходится на эхинококкоз печени — 211 (37 — с летальным исходом); на эхинококкоз легких — 29 (6 — летальных), других органов — 4 (2 — летальных). В одних случаях при травматическом или самопроизвольном вскрытии эхинококковой кисты и попадании АГ гельминта в ткани, полости тела или кровеносные сосуды наблюдаются тяжелые явления или даже мгновенная смерть вследствие АШ (10, 24), а в других — этот факт может остаться для больного фактически незамеченным. Количество излившейся из эхинококковой кисты жидкости не имеет решающего значения для клиники и исхода АШ. Даже минимальная доза ее может привести к смерти.

Неоднократно были описаны тяжелые случаи АШ у больных эхинококкозом, развившиеся в ответ на реакцию Кацони (10), однако до сих пор многие хирурги применяют эту реакцию в связи с ее простотой, высокой чувствительностью и специфичностью (24).

АШ описан также у 121 больного аскаридозом, у 112 из них (92,4%) — с летальным исходом (36, 5, 10). Единичные случаи АШ описаны при описторхозе, гименолепидозе, цистицеркозе, стронгилоидозе (10). Обращает внимание отсутствие сообщений об АШ при энтеробиозе — самом распространенном в мире Г человека. Это можно объяснить значительным повышением уровня блокирующих АТ IgG в крови вследствие периодического в течение длительного времени поступления в ткани и кровеносное русло небольших доз АГ острицы. Известно, что при этом условии уровень блокирующих АТ в крови возрастает в 10—100 раз, на чем, в частности, строится терапевтический эффект так называемой гипосенсибилизации при поллинозах. Этот механизм может обеспечивать защиту от АШ и при других Г. Ее прорыв возможен при массивном поступлении АГ гельминта в ткани и кровеносное русло, что наиболее вероятно при тканевых Г и высокоинтенсивных суперинвазиях, сопровождающихся миграцией в тканях и линькой личинок гельминтов (аскаридоз, стронгилоидоз, токсокароз и др.).

Диагностика АШ при Г, как прижизненная, так и посмертная, до последнего времени не была разработана. В связи с этим мы провели специальное исследование с использованием судебно-медицинских материалов (10). В результате было установлено, что морфологическими диагностическими признаками АШ гельминтозной этиологии являются:

- интенсивная дегрануляция ТК (свыше 50% дегранулировавших ТК хотя бы в одном из исследованных органов) на фоне тканевой эозинофилии; последняя часто бывает распространенной, но обычно более всего выражена в органах, где локализируются или локализовались гельминты или их личинки;

- наибольшее количество ТК и наиболее высокий процент дегранулирующих ТК при аскаридозе определяются в легких, печени, подслизистом слое тонкой кишки (шоковые органы), где характерны также ассоциации дегранулирующих ТК и эозинофилов; при эхинококкозе и, по-видимому, других тканевых Г высокий процент дегранулирующих ТК обнаруживается во всех органах (вследствие массивного поступления АГ гельминта в ткани и кровеносное русло);

- вакуолизация ТК, что указывает на их сенсибилизацию;

- признаки нарушения микроциркуляции и циркуляции; свежие кровоизлияния

per diapedesem, набухание эндотелия сосудов, плазматическое пропитывание их стенок, распространенные периваскулярные отеки, а в головном мозге — также и перипеллюлярные, пристеночные стояния эритроцитов, неравномерное распределение крови в сосудах;

— признаки нарушения свертываемости крови: жидкое состояние крови в сосудах (определяется при секционном исследовании), агрегация форменных элементов крови и сепарация плазмы в сосудах (сладж-синдром);

— при окраске азур-2-эозином может выявляться базофильная зернистость в эндотелии и интимах сосудов сердца, селезенки, почек, легких, головного мозга и др., на базальной мембране почечных клубочков и канальцев, что указывает на повреждение их комплексами антиген—антитело+комплемент; на повреждение эндотелия сосудов названными комплексами указывает также прилипание эритроцитов к их стенкам (пристеночное стояние эритроцитов);

— зернистая, вакуолярная дистрофия гепатоцитов, краевое расположение хроматина в ядрах гепатоцитов в более длительных случаях шока; резкое снижение количества гликогена в гепатоцитах или даже полное его исчезновение; возможно резкое полнокровие центральных вен;

— возможны также: спазм бронхов; участки эмфизематозного расширения альвеол с разрывами межалвеолярных перегородок, в мелких бронхах — скопления десквамированного эпителия; в миокарде участки дистрофии и миоцитолитизиса, неравномерная фрагментация мышечных волокон; в почках — стаз в капиллярах и отек капсулы клубочков, дистрофия околоклубочковых канальцев в зоне юктагломерулярного аппарата, ядерные тени в эпителии канальцев; полнокровие надпочечников и кровоизлияния в них; аллергические высыпания на коже и др.

Большинство из этих признаков встречаются при АШ и другой этиологии, т.е. неспецифичны для Г. Так, дегрануляция ТК возможна также и при механическом воздействии, действии холода, некоторых химических веществ (кураре, декстран, твин-85, полимиксин и др.). При этом развивается анафилактоидная реакция, которую морфологически легко дифференцировать от анафилактической по отсутствию тучноклеточно-эозинофильных ассоциаций. Наличие распространенных эозинофильных инфильтратов (в первую очередь в легких, печени, селезенке, тем более в случаях обнаружения гельминтов в тех или иных органах) и отсутствие указаний на другие возможные этиологические факторы АШ (укус пчелы, осы, лекарственная непереносимость и др.) облегчают постановку диагноза АШ гельминтозной этиологии. Распространенные эозинофильные инфильтраты нетипичны для АР немедленного типа вирусной или бактериальной этиологии. Одним из дифференциальных клинических признаков АШ гельминтозной этиологии является гипертермия, что объясняется пирогенными свойствами АГ гельминтов. Таким образом, при постановке диагноза АШ гельминтозной этиологии необходимо учитывать анамнестические, клинические, паразитологические данные, а также результаты секционного и гистологического судебно-медицинского исследования. В случаях развития АШ у больных аскаридозом без сопутствующих инфекций признаки АР как немедленного, так и замедленного типа были более выраженными, чем в случаях присоединившейся инфекции (пневмония и др.) (10).

В случаях АШ у больных гельминтозами внезапно ухудшалось общее состояние, появлялись жалобы на боли в животе, тошноту, рвоту, головокружение, резкую слабость. Объективно отмечали бледность кожных покровов, тахикардию, падение артериального давления, мидриаз, иногда — кожную сыпь. Во всех случаях летального исхода наблюдалась полная потеря сознания; нередко — эпилептический статус (10).

Смерть от АШ у больных гельминтозами наступила у 10 человек (25,0%) внезапно, в течение нескольких минут на фоне кажущегося полного здоровья, у 11 (27,5%) — через 1–4 ч, у 12 (30,0%) — через 6–24 ч, у 7 (17,5%) — в более поздние сроки (до 8 сут). Наиболее ранний возраст развития АШ — у ребенка 2 1/2 мес., страдавшего аскаридозом с присоединившейся пневмонией. Существенных различий по встречаемости АШ у лиц мужского и женского пола не отмечено.

Аллергия к АГ гельминтов, в особенности аскарид, может возникнуть у лиц, работающих с ними или находящихся в лаборатории, где паразитов вскрывают или готовят из них учебные или музейные препараты (5).

Привлекают внимание исследования по влиянию Г на заболеваемость бронхиальной астмой. Установлено, что в эндемичной по аскаридозу местности положительная кожная проба с аскаридным антигеном, обусловленная специфическим IgE, была выявлена у 17% лиц контрольной группы (не страдавших бронхиальной астмой) и у 38,8% больных бронхиальной астмой (у 66 из 170). Исследование кожной пробы на 15 других аллергенов показало, что число положительных реакций и интенсивность ее в последней группе были больше, чем у 104 больных бронхиальной астмой с отрицательной кожной реакцией на аскаридный антиген. Результаты этого наблюдения согласуются с данными о потенцирующем действии Г на продукцию IgE, специфичного для АГ другой этиологии. Контрольная ингаляция аскаридного АГ вызвала астматический приступ у семи из восьми пациентов с положительной кожной реакцией на аскаридный АГ и не спровоцировала его ни у одного из шести пациентов с отрицательным кожным аскаридным тестом (34). Джаррет и Керр (33) нашли, что у некоторых детей, страдавших atopической бронхиальной астмой, кожная реакция с антигеном острицы была положительной. Авторы предположили, что гиперчувствительность к этому АГ может инициировать аллергические симптомы, что согласуется с результатами наших исследований (6). Они предположили также, что инвазия острицей может потенцировать продукцию IgE, специфичных для АГ другой этиологии, т.е. отягощает аллергический процесс, первоначально вызванный, например, домашней пылью, цветочной пылью и т.д. Потенцирующим действием АГ гельминтов на сенсibilизацию к АГ иного происхождения объясняется также повышенный риск возникновения тяжелых АР вплоть до АШ у инвазированных гельминтами при вакцинациях (29, 10).

Шоковыми факторами у больных Г могут быть: 1) импульсивное, внезапное поступление АГ гельминта того же вида или обладающего общими антигенными компонентами с сенсibilизировавшим видом в ткани, сосудистое русло хозяина (разрыв эхинококковой кисты, гибель личинок в тканях хозяина или гельминтов в кишке или других органах, во время линьки личинок и т.д.; повреждение эпителиального покрова кишки облегчает поступление АГ гельминтов из просвета кишки в ткани, кровеносное русло) или даже только воздушный контакт с АГ некоторых гельминтов (аскарида, трихинелла); 2) АГ гельминтов, введенные внутрикожно с диагностической целью; 3) АГ негельминтного происхождения (например, вакцины и др.), чувствительность к которым у больных Г может быть резко повышена вследствие потенцирующего действия гельминтов на продукцию реагиновых АТ к АГ негельминтного происхождения. Шоковыми факторами могут служить также аутоантигены (10).

Местные АР немедленного типа при Г проявляются гиперергическим воспалением и носят преимущественно альтеративный и инфильтративный характер. При этом наблюдаются фибриноидное набухание и некроз, серозный отек и инфильтрация в основном эозинофилами. В более тяжелых случаях развивается геморрагический некроз (АР III типа, или реакция Артюса). Примером реакций этого типа может служить реакция Кацони.

Аллергические реакции замедленного типа

АР IV (замедленного) типа развиваются вследствие воздействия АГ на сенсibilизированные клетки лимфоидно-макрофагальной системы и зависят от функции зубной железы. В них принимают участие ингибирующий миграцию макрофагов фактор (MIF), лимфотоксический фактор (LT), митогенный фактор (LTA), трансфер-фактор, вещества, повышающие проницаемость сосудов (LNPF), вещества, усиливающие хемотаксис моноцитов, активацию остеокластов и многие другие. АР замедленного типа протекают длительно, носят преимущественно пролиферативный характер и сопровождаются

ся изменениями в ретикуло-эндотелиальной системе, гиперпластическими изменениями фолликулярного аппарата селезенки и лимфатических узлов, нарастанием лимфоидных элементов в кишке, печени, легких и других органах, бурной пролиферацией мезенхимальных элементов и фагоцитарной реакцией вокруг гельминтов (11). К проявлениям АР замедленного типа следует отнести формирование гранулем в ранней фазе токсокароза, аскаридоза, описторхоза и многих других Г. Реакцию этого типа можно рассматривать как морфологическое проявление иммунитета, ограничивающего развитие паразита на ранних стадиях. Однако гранулемы образуются и независимо от локализации гельминтов или их личинок, особенно в случаях суперинвазий, причем личинок в них, как правило, нет.

Анализ морфологических изменений в органах 41 ребенка в возрасте от 1 года до 15 лет, страдавших аскаридозом и умерших по разным причинам (травма, асфиксия, воздействие электричества, острое отравление, пневмония и др.), с учетом признаков суперинвазионного аскаридоза, а также морфологических изменений в органах 26 детей того же возраста, умерших по тем же причинам, но не страдавших аскаридозом, позволил установить типичные для этой инвазии изменения в органах. Они оказались подобными изменениям, выявленным при экспериментальном аскаридозе морских свинок (5, 11). Суммируя эти изменения, выделим наиболее характерные для аскаридоза человека: 1) эозинофильные инфильтраты в легких, печени и других органах; 2) аллергический (интерстициально-паренхиматозный) гепатит, сопровождающийся в случаях суперинвазий разрастанием междольковой соединительной ткани печени, пролиферацией желчных проточков и билиарного эпителия, что нередко позволяет диагностировать фиброз, а в некоторых случаях даже цирроз печени; 3) хроническая или подострая очаговая интерстициальная пневмония как результат многократных суперинвазий с явлениями эозинофильной инфильтрации, разрастанием междольковой, перибронхиальной и периваскулярной соединительной ткани, пролиферацией септальных клеток, бронхиального эпителия, метаплазией альвеолярного эпителия в бронхиальный, пролиферацией лимфоидной ткани; 4) аллергический очаговый миокардит с очаговой дистрофией мышечного синцития, лимфоидной, а иногда и эозинофильной инфильтрацией стромы; 5) изменения аллергического характера во всех других органах: головном мозге, почках, надпочечниках, тонкой и толстой кишке, селезенке, лимфатических узлах, тимусе и т.д.; 6) пролиферация ТК в легких, печени, миокарде, почках и других органах, особенно значительная в случаях суперинвазий (6).

Описанные изменения аллергического характера выявляются и при других Г, однако с разной степенью выраженности. Они носят диффузный характер, но более всего отмечаются в прилежащих к паразиту тканях, а также на путях миграции личинок.

Таким образом, Г сопровождаются распространенными АР немедленного и замедленного типа с поражением всех органов и систем.

Аутоиммунные реакции при гельминтозах

Аутоиммунные реакции в патогенезе Г играют существенную роль. Механизм их формирования довольно сложен и не до конца изучен. Значительная роль принадлежит генотипу больного. Установлена взаимосвязь между некоторыми типами тканевой совместимости HLA и аутоиммунными болезнями. Другой механизм развития аутоиммунных реакций связан с повреждением клеток и тканей и появлением АГ, к которым нет иммунологической толерантности. Имеются две группы аутоантигенов. Первая — это первичные аутоантигены. К ним относятся внутриклеточные АГ (например, ДНК) и АГ, удаленные от путей циркуляции. Они в процессе эмбрионального развития не имели контакта с иммунокомпетентными клетками, и к ним не возникла толерантность. Вторая группа — это приобретенные, вторичные аутоантигены; они образуются под влиянием факторов как инфекционной, паразитарной, так и механической, физической, химической природы. Примером участия первичных аутоантигенов в развитии аутоиммунных реакций при Г может служить, например, обнаружение высоких титров

к ДНК у больных эхинококкозами тяжелого течения. Однако чаще в формировании аутоиммунных реакций при инфекционных, паразитарных заболеваниях принимают участие вторичные аутоантигены. Как первичные, так и вторичные аутоантигены включаются в патологический процесс в результате повреждения клеток и тканей, вследствие чего возникает контакт с иммунокомпетентными клетками, и эти поврежденные гельминтами или продуктами их обмена или распада клетки и ткани становятся как бы чужеродными для организма. При этом специфические АГ гельминтов или паразитических простейших играют роль триггерных, пусковых механизмов, а в дальнейшем в формировании болезни существенную роль начинают играть и органнне АГ, на которые вырабатываются АТ. Этому способствует и ряд нарушений в иммунной системе, как закодированных в геноме, так и возникающих при паразитировании названных возбудителей инвазионных болезней человека и животных. Развитию аутоиммунных реакций способствуют также общность ряда АГ-компонентов паразита и тканей хозяина, длительность и интенсивность инвазии, массивность повреждения тканей.

Способность гельминтов вырабатывать и секретировать гетерогенные АГ, подобные А- или В-изоагглютиногенам крови, является одним из факторов их адаптации к организму хозяина. У лиц с А или АВ группами крови (т.е. не имеющих α -изоагглютининов) наблюдалось более мягкое течение Г, чем у лиц с группами крови О (Н) или В. В эксперименте у собак, имеющих в крови анти-А₂-агглютинины в высоком титре, развился смертельный АШ при внутривенном введении экстракта из аскарид, которые, как известно, продуцируют агглютиноген А₂ (37). С учетом этих данных можно предположить, что наиболее тяжелые АР немедленного типа, например АШ, возникают у больных аскаридозом с группами крови О (Н) и В, у которых в крови есть α -изоагглютинины. Антигенная близость паразита и хозяина должна вместе с тем способствовать возникновению тяжелых органнх поражений типа аутоиммунных, что согласуется с теорией патогенеза аутоиммунных процессов.

Важную роль в предупреждении аутоиммунных реакций играют Т-супрессоры, препятствующие трансформации В-клеток в плазматические клетки — продуценты АТ, в том числе аутоантител. Э.А. Кашуба и соавт. (19) отметили даже через 9 мес. после лечения больных описторхозом детей хлоксилем дальнейшее снижение активности неспецифических Т-супрессоров как у излечившихся, так и у неизлечившихся от инвазии. Этот факт свидетельствует о прогрессировании нарушений в иммунной системе, ответственных за развитие аутоиммунных процессов, хотя длительность заболевания описторхозом у этих больных не превышала 1 1/2 лет, а лечение в большинстве случаев было высокоэффективным (8, 9). Е.С. Белозеров и соавт. (13) из 20 обследованных больных описторхозом обнаружили аутоантитела к клеткам печени у 10 больных, к слизистой желудка — у 9, к клеткам желчного пузыря — у 6. У 4 больных аутоантитела были выявлены ко всем трем органам.

Аутоиммунные реакции играют важную роль в патогенезе органнх и системных поражений при трихинеллезе. Так, при сенсибилизации морских свинок АГ трихинеллы было установлено усиление патоморфологических изменений в головной мозге, миокарде этих животных при добавлении соответственно эмульсии гомологичной мозговой ткани или миокарда (21, 22). У кроликов, зараженных *Schistosoma japonicum*, наблюдали выпадение положительных реакций на органнне антигены печени, толстой кишки, что свидетельствует о развитии аутоиммунных реакций (35). М.В. Шинкевич и соавт. (30) описали случай системного васкулита, развившегося у больного эхинококкозом печени. Этот факт следует сопоставить с исследованиями Пини и соавт. (39), которые методом непрямой иммунофлюоресценции обнаружили противогладкомышечные аутоантитела в 56% сывороток больных эхинококкозом, причем при печеночной локализации паразита их было значительно больше (83%), чем легочной (40%), что свидетельствует о неблагоприятном влиянии печеночной локализации паразита на последующее развитие аутоиммунных реакций. Видимо, это же обстоятельство играет важную роль в большой частоте и ранних сроках появления аутоиммунных поражений при описторхозе.

С увеличением возраста иммунные реакции постепенно все больше теряют свою точность, в связи с чем можно думать о неблагоприятном влиянии возраста (примерно от 45 лет и старше) на возникновение аутоиммунных осложнений.

Аутоаллергия немедленного типа как осложнение гельминтозов

Этот вопрос впервые был поднят нами в связи с обсуждением случаев смертельного АШ у больных эхинококкозами (10). При инфекциях аутоаллергические реакции могут возникать на комплексные и перекрестные АГ. АГ, вырабатываемые на действие комплексного АГ (например, ткань + микроб, ткань + токсин), способны вступать в реакцию не только с ним, но и с каждым из этих компонентов комплексного аутоантигена. Очевидно, таков же механизм образования аутоаллергенов и при Г. Известно также, что в аутоаллергических реакциях немедленного типа при бактериальных инфекциях могут принимать участие перекрестные аллергены патогенных микроорганизмов и тканей больного (в последнем случае — аутоаллергены). Это же соображение в равной мере относится и к Г. Мы изучили три случая внезапной смерти от АШ молодых людей (28, 17 и 12 лет), страдавших эхинококкозом печени (в первом и третьем случаях — однокамерный, во втором — многокамерный). Смерть наступила внезапно, во время физической нагрузки: езда на велосипеде, спортивная борьба. АШ развился в ответ на поступление в кровеносные сосуды большого количества АГ. На это указывали: 1) распространенное поражение эндотелия сосудов комплексами АГ—АГ + комплемент, что было установлено при окраске тканей азур-2-эозином по обнаружению типичной для таких повреждений базофильной зернистости в эндотелии сосудов миокарда, почек, селезенки и др.; 2) прилипание эритроцитов к сосудистому эндотелию; 3) мощная распространенная дегрануляция ТК, особенно значительная в печени (98, 87 и 93,4% дегранулированных ТК соответственно). Вместе с тем не было обнаружено каких-либо признаков повреждения паразитарной ткани, что особенно четко определяется при однокамерном эхинококкозе. Это навело на мысль об участии в развитии АШ аутоиммунных механизмов. Мы предположили, что в качестве аутоаллергенов служили продукты мышечного метаболизма, что основывается на следующих фактах: 1) смерть наступила внезапно (в течение 1—5 мин от начала АШ) во время длительного и интенсивного мышечного напряжения при кажущемся полном здоровье (последнее типично для Г в хронической стадии, пока не развились признаки декомпенсации); 2) по материалам исследования Пини и соавт. (39), гладкомышечные аутоантитела обнаружены у 83% больных эхинококкозом печени; 3) случаи АШ с летальным исходом как реакция на мышечное напряжение описаны в медицинской литературе (40). А.Д.Адо (1) сообщил о случае АР немедленного типа у борца-перворазрядника, возникшей внезапно во время борьбы и затем появлявшейся систематически при занятиях спортом. Не исключено, что аутоаллергенами в наших трех случаях АШ у больных эхинококкозами могли служить аутоантигены также и других тканей, например печени. Быстрому, чрезвычайно острому развитию смертельного АШ у этих больных способствовали: 1) физическая нагрузка, так как известно, что одним из продуктов утомленных мышц является гистамин (17); 2) наличие на почве эхинококкоза предшествующих повреждений аллергическим процессом головного мозга, печени, сердца, легких и других органов, что подтверждено гистологически (10). Несомненно, все подобные случаи касаются лиц с чрезвычайно высокой индивидуальной аллергической реактивностью.

Одним из нередких (крайне тяжелых), иногда с летальным исходом, осложнений операций при эхинококкозах печени является шок. Б.И.Альперович (4) считает, что в механизме шока в этих случаях большую роль играет операционная травма с повреждением вегетативных нервных окончаний и сочетание ее с кровотечением. Этой же точки зрения придерживаются и другие хирурги. Однако необходимо обсудить также и возможность развития АШ не только на АГ паразита, но и аутоантигены.

Иммунодепрессивное действие гельминтов

Имеются многочисленные прямые и косвенные доказательства иммунодепрессивного действия гельминтов на организм хозяина, что, в частности, является одной из причин отягощающего влияния Г на течение инфекций (5). Способность трихинелл оказывать иммунодепрессивное действие доказана исследованиями Г.Я.Свет-Молдавского и соавт. (25), Ю.А.Березанцева (14), А.С.Бессонова и Р.А.Пеньковой (15) и др. Как и у трихинелл, лимфоцитотоксический эффект секреторных и экскреторных продуктов выявлен также у шистосом, печеночного сосальщика, эхинококков. Б.Д.Давяют внедрение Т-лимфоцитов (вероятнее всего, из популяции киллеров) между гепатоцитами и непосредственно в них при эхинококкозе печени. Установлено иммунодепрессивное действие сыворотки крови больных описторхозом, шистосомозами, токсокарозом на активность макрофагов в системе *in vitro* (2, 3). При Г имеют место и другие сложнейшие и взаимообусловленные нарушения различных компонентов иммунной системы: Т-хелперов, Т-супрессоров, В-лимфоцитов, макрофагов и др., в возникновении и развитии которых имеют значение как АГ гельминтов, так и выделяемые ими с целью подавления защитных механизмов хозяина иммуносупрессивные вещества, действующие так же, как иммунодепрессанты.

Иммунопатологические осложнения антигельминтной терапии

Неблагоприятные эффекты антигельминтной терапии на состояние здоровья инвазированного или реконвалесцента могут быть обусловлены многими факторами, в частности сенсibilизирующим или разрешающим действием соматических АГ (аллергенов) погибших гельминтов. В случаях тканевых Г продукты распада гельминтов, обладающие антигенными свойствами, поступают непосредственно в ткани хозяина. АГ гельминтов, локализующихся в просвете кишки, могут проникать в ткани хозяина при условии повреждения эпителиального покрова кишки. При этом может развиваться АШ, в том числе с летальным исходом (36, 5, 10). Обостряются АР замедленного типа, которые затем, через 1–2 месяца, обычно стихают, но могут держаться и несколько дольше, но не настолько, чтобы обусловить клиническую неэффективность в отдаленные сроки после лечения.

Особенно значительную опасность представляют массивные дозы АГ гельминтов, поступающие в ткани и сосудистое русло. Вероятность развития иммунокомплексной болезни и ее тяжесть прямо зависят от дозы АГ. В случаях ее возникновения или обострения происходит отложение комплексов АГ–АТ+комплемента в эндотелии сосудов почек, печени, сердца, селезенки, головного мозга и других органов, в миокардиоцитах, базальной мембране почечных клубочков и т.д. (20, 10, 23).

Отрицательные эффекты антигельминтной терапии могут быть обусловлены иммуномодулирующими свойствами некоторых антигельминтиков (левамизол, тиабендазол, мебендазол, медамин и др.). Отмечен дозозависимый эффект антигельминтиков-иммуномодуляторов, которые в одних случаях могут действовать как иммуностимуляторы, а в других — как иммунодепрессанты (20, 7). Вводимые в неоптимальных для больного дозах антигельминтики-иммуномодуляторы могут оказывать неблагоприятное влияние на эффективность антигельминтной химиотерапии и на ход клинической реабилитации больных.

При описторхозе, а также неосложненном цистицеркозе тениозе описаны факты клинической неэффективности паразитологически высокоэффективной антигельминтной терапии (16, 26, 19, 27), которые до последнего времени не находили объяснения. Взгляд на паразитарную инвазию, в особенности вызванную облигатным паразитом, как на систему паразит–хозяин, в которой оба сочлена в течение длительного времени находятся в состоянии динамического равновесия при условии иммунодепрессивного действия паразита на организм хозяина, позволяет дать объяснение этому явлению.

Наиболее существенным патогенетическим фактором, влияющим на возникновение клинической неэффективности антигельминтной терапии в отдаленные сроки после лечения, является, по нашему мнению, резкое усиление аутоиммунных реакций (первичному появлению которых способствовала инвазия) вследствие внезапного устранения или значительного угнетения жизнедеятельности гельминта (последнее — в случаях недостаточно эффективной антигельминтной терапии) с одновременным исчезновением его иммунодепрессивного действия (8, 9).

Как показали наши опыты на морских свинках, инвазированных *Opisthorchis felineus*, усилению аутоиммунных реакций способствует, в частности, суммарный цитотоксический эффект на гепатоциты антигельминтика (хлоксил) и поступающие при этом в ткани АГ вследствие гибели и распада гельминтов с последующим развитием очагов некробиоза и некроза внутри печеночных долек. Это сопровождается массивным поступлением аутоантигенов в кровеносное русло и соответственно вспышкой аутоиммунных (аутоаллергических) реакций. Возможен АШ с летальным исходом. Этот эффект отсутствовал у контрольных неинвазированных животных, которым также назначали хлоксил, что подтверждает его иммунопатологическую природу.

Аутоиммунные реакции могут возникать и усиливаться на фоне антигельминтного лечения, по-видимому, в особенности при тканевых Г. Вероятность их возникновения возрастает в случаях интенсивных и длительных инвазий и дефицитов в иммунной системе. Последние обусловлены иммунодепрессивным действием гельминтов и в ряде случаев могут не исчезать даже в отдаленные сроки после эффективной антигельминтной терапии (19). Их возникновению способствуют также генетические особенности больного, стрессовые ситуации и другие неблагоприятные воздействия факторов внешней и внутренней среды. Очевидно, вследствие снижения точности иммунного ответа с увеличением возраста и повышением вследствие этого вероятности возникновения аутоиммунных реакций имеет место резкое снижение клинической эффективности паразитологически эффективной химиотерапии хлоксилем у больных описторхозом в возрасте старше 45 лет (16). Вызванные патогенной микрофлорой острые и хронические воспалительные процессы, сопровождающиеся некрозом тканей, интенсивная инсоляция, переохлаждение, в некоторых случаях — значительная физическая нагрузка, по-видимому, также могут служить факторами усиления аутоиммунных реакций в период реконвалесценции больных Г, особенно тканевыми.

Указанные побочные эффекты и осложнения специфической антигельминтной терапии требуют разработки особых схем ее, а также адекватной патогенетической терапии. Чем раньше диагностирован гельминтоз и начата необходимая антигельминтная и патогенетическая терапия, тем выше вероятность полного клинического выздоровления.

Заключение

Приведенный материал свидетельствует о закономерности развития иммунопатологических реакций при гельминтозах и их разнообразии. В их основе лежат аллергические реакции немедленного (анафилактический шок и др.) и замедленного типов, аутоиммунные процессы. Возникнув однажды, болезнь, вызванная инвазией гельминтом, протекает с присущими ей подъемами и спадами: острая фаза сменяется латентным течением с последующим усилением патологических процессов на фоне относительного равновесия в системе хозяин—паразит, где гельминт оказывает иммунодепрессивное действие на организм хозяина, что позволяет ему длительно паразитировать при благоприятных условиях. Аутоиммунные процессы, возникшие в ходе инвазии, подавляются иммунодепрессивным действием гельминта. В случаях спонтанной (или вследствие назначения антигельминтика) гибели гельминта, особенно тканевого, возможно, с одной стороны, развитие анафилактического шока, а с другой — обострение аутоиммунных реакций. Усилению последних способствуют как внезапное устранение иммунодепрессивного действия гельминта, особенно тканевого, так и

сложные иммунопатологические процессы, возникающие в связи с массивным поступлением в ткани продуктов распада паразита, их совместное с антигельминтиком цитопатогенное действие на ткани, в особенности обладающие аутоантигенными свойствами. Необходимо дальнейшее изучение факторов, влияющих на возникновение и усиление аутоиммунных реакций, с целью разработки методов их профилактики и коррекции.

Гипотеза, объясняющая причины отдаленной клинической неэффективности высокоэффективной антигельминтной терапии прекращением иммунодепрессивного действия паразита и вследствие этого обострением аутоиммунных осложнений, очевидно, применима ко всем паразитозам, а в гельминтологии — в особенности к тканевым гельминтозам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д. Общая аллергология. М.: Медицина, 1978. 464 с.
2. Алексеева М.И. Иммуносупрессивные факторы сыворотки крови больных шистосомозами и некоторыми другими тканевыми гельминтозами // Актуальные проблемы эпидемиологии, клиники, лечения и профилактики тропических заболеваний: Материалы 2-й Всесоюз. науч. конф. М., 1984. С. 69–70.
3. Алексеева М.И., Боглазова Е.К., Лебедев К.А. Угнетающее действие сыворотки крови больных некоторыми паразитарными заболеваниями на фагоцитарную активность макрофагов *in vitro* // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1980. Т. 49, № 6. С. 31–34.
4. Альперович Б.И. Альвеококкоз и его лечение. М.: Медицина, 1972.
5. Астафьев Б.А. Очерки по общей патологии гельминтозов человека. М.: Медицина, 1975.
6. Астафьев Б.А. Особенности патоморфологии при гельминтозах // П.И. Максимов, Б.А. Астафьев: Гельминтозы в судебно-медицинской диагностике. Кишинев: Штиинца, 1984. С. 31–89.
7. Астафьев Б.А. Послесловие // Гельминтозы человека: (Эпидемиология и борьба). М.: Медицина, 1985а. С. 365–367.
8. Астафьев Б.А. К вопросу о причинах клинической неэффективности антигельминтной терапии // Актуальные вопросы медицинской паразитологии и тропической медицины. Баку, 1985б. Вып. 5. С. 73–78.
9. Астафьев Б.А. Причины отрицательных клинических эффектов антигельминтной терапии, в том числе паразитологически высокоспецифичной // Актуальные вопросы медицинской паразитологии и тропической медицины. Баку, 1986. Вып. 6. С. 53–59.
10. Астафьев Б.А., Максимов П.И. Скорострительная смерть вследствие развития общего анафилактического синдрома как осложнения гельминтозов // П.И. Максимов, Б.А. Астафьев. Гельминтозы в судебно-медицинской диагностике. Кишинев: Штиинца, 1984. С. 117–185.
11. Астафьев Б.А., Федянина Л.В. Системные реакции аллергического характера при аскаридозе человека и экспериментальных животных // Актуальные вопросы медицинской паразитологии и тропической медицины. Баку. Вып. 5. С. 84–89.
12. Беклемишев Н.Д. Иммунопатология и иммунорегуляция. М.: Медицина, 1986. 256 с.
13. Белозеров Е.С., Филиппов Е.Г., Садыков К.Б. и др. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим описторхозом // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. 1978. № 2. С. 78–80.
14. Березанцев Ю.А. Подавление воспалительной клеточной реакции личинками гельминтов и специфичность их инкапсуляции в тканях хозяев // Докл. АН СССР. 1975. Т. 220(1). С. 227–229.
15. Бессонов А.С., Пенькова Р.А. Иммунодепрессивные свойства трихинелл и способы их подавления // Биохимия и физиология гельминтов и иммунитет при гельминтозах. М.: Наука, 1984. С. 15–20.
16. Бронштейн А.М. Соотношение клинической и паразитологической эффективности при лечении описторхоза хлоксилем // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1982. Т. 50, № 5. С. 12–15.
17. Громаковская М.М., Дыш Т.Н. Влияние утомления на проницаемость гемато-энцефалического барьера // Докл. АН СССР. 1963. Т. 150, № 5. С. 1171–1173.
18. Дамьянов Б.Д., Стоянов Г.И., Николова В.А. Эхинококк печени — ультраструктурные патогенетические аспекты и клиничко-лабораторные сопоставления // Хирургия 1985 № 1. С. 65–67.
19. Кашуба Э.А., Крылов В.И., Маманников В.П. и др. Состояние иммунной системы у детей при описторхозе до и после лечения // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1985. № 2. С. 12–16.
20. Озерцовская Н.Н. Химиотерапия паразитарных болезней и иммунодепрессия // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1980. Т. 49, № 5. С. 3–12.
21. Озерцовская Н.Н., Вихерт А.М., Фрольцов А.Б., Коновалова Л.М. О патогенезе органических и системных поражений при трихинеллезе // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1966а. Т. 35, № 4. С. 395–402.
22. Озерцовская Н.Н., Вихерт А.М., Фрольцов А.Б. и др. Миокардит у морских свинок, sensibilizированных соматическими антигенами личинок трихинелл // Материалы науч. конф. Всесоюз. о-ва гельминтологов. 1966б. Ч. 2. С. 151–157.

23. Павлов Б.А., Шеметов В.Д. Поражение почек при остром описторхозе // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1986. № 5. С. 18–21.
24. Петровский Б.В., Милонов О.Б., Дееничи П.Г. Хирургия эхинококкоза. М.: Медицина; София: Медицина и физкультура, 1985. 216 с.
25. Свет-Молдавский Г.Я., Шагили Г.Ш., Мхемдзе Д.М. и др. Подавление трансплантационного иммунитета у мышей, зараженных *Trichinella spiralis* // Докл. АН СССР. 1970. Т. 190, № 4. С. 999–1000.
26. Синович Л.И., Савельева Н.А. Тениидозы человека на Дальнем Востоке. Благовещенск: Хабаров. кн. изд-во, 1983. 136 с.
27. Скарединов Н.И., Степанова Т.Ф. Оценка опыта широкого применения хлоксила для лечения описторхоза // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1986. № 5. С. 14–18.
28. Стражикова Г.А., Коршунова Т.П. Распределение HLA-антигенов у больных с очаговыми поражениями печени // Клиническое значение лейкоцитарных антигенов. Л., 1984. С. 41–44.
29. Сулов И.М. Течение анафилактического шока у инвазированных аскаридами животных, sensibilizированных АКДС вакциной // 45-я науч. конф. лечеб. и фармацевт. фак. Курск. мед. ин-та. Курск, 1971. С. 293–296.
30. Шинкевич М.В., Ключков Н.Д., Цеханский М.С. Редкий случай системного васкулита, развившегося у больного эхинококкозом печени // Мед. журн. Узбекистана. 1972. № 11. С. 65–66.
31. Яздовский В.В., Алексеев Л.П., Порошина Ю.А., Серова Л.Д. Особенности распределения HLA-антигенов при поллинозе и у больных с аллергией к домашней пыли // Клиническое значение лейкоцитарных антигенов. Л., 1984. С. 86–93.
32. Gell P.G., Coombs R.R. Clinical aspects of immunology. Oxford: Blackwell, 1968. 1356 p.
33. Jarrett E.E.E., Kerr J.W. Threadworms and IgE in allergic asthma // Clin. Allergy. 1973. Vol. 3, N 2. P. 203–207.
34. Joubert J.R., Klerk H.C.de, Malan C. Ascaris Lumbricoides and allergic asthma // S. Afr. Med. J. 1979. Vol. 56. N 15. P. 599–602.
35. Kurata M. Schistosomiasis japonica and "autoimmunity": Experimental studies // Kurume Med. J. 1965. Vol. 12, N 1. P. 7–9.
36. Odunjo E.O. Helminthic anaphylactic syndrome (HAS) in children // Pathol. et microbiol. 1970. Vol. 35, N 1/3 P. 220–223.
37. Oliver-Conzalez J., Koppisch E. Immunological and pathological phenomena related to substances from tissues of Ascaris lumbricoides // Rice Inst. Pamp. 1958. Vol. 45. P. 141–150.
38. Ошват П. Аллергические и иммунологические болезни детского возраста. Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1983. 249 с.
39. Pini C., Pastore R., Vaiezini G. Circulating immune complexes in sera of patients infected with Echinococcus granulosus // Clin. and Exp. Immunol. 1983. Vol. 51, N 3. P. 572–578.
40. Schmid L., Hornof Z., Kral J. Sportungsfälle mit tödlichen Ausgang und Massnahmen zu ihrer Verhütung // Volk und Gesundheit. B.. 1962. S. 169.

УДК 576.895.1.74.577.17

РОЛЬ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ХОЗЯИНА И ГЕЛЬМИНТА

З.К. ЛЛУТСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

В последние годы в гельминтологических исследованиях, особенно в работах, имеющих практическую направленность, проявляется интерес к использованию гормонов. Анализ этих работ показал, что в основном они однотипны (констатируют факт влияния того или иного гормона на степень заражаемости хозяев гельминтами) и касаются чаще всего стероидных гормонов. Поэтому в данной статье мы решили остановить свое внимание именно на этих гормонах и попробовать обсудить их влияние на взаимоотношения в системе паразит–хозяин на фоне анализа механизма их действия в организме и их роли в обмене веществ.

Возрастающий интерес к исследованию гормонов обусловлен тем, что гормоны играют важную роль в осуществлении гомеостаза в организме. Они наряду с нервной системой осуществляют связь и обеспечивают функциональное единство огромного числа клеток, расположенных в разнородных тканях. Тонкое регуляторное воздей-

ствие их на клетки весьма избирательно, так как лишь немногие из клеток отвечают на их воздействие. Существуют два класса гормонов: белковые (полипептиды и производные аминокислот) — один класс и стероидные — другой, причем механизм их действия, как сейчас становится все более очевидным, совершенно различен.

К группе стероидных гормонов относятся гормоны, выделяемые корой надпочечников (кортикостероиды), половые гормоны — мужские (андрогены) и женские (эстрогены и прогестины) и гормоны линьки насекомых — экдизон.

У всех стероидных гормонов центральное ядро молекулы образовано четырьмя соединенными между собой углеродными кольцами, отдельные стероиды различаются по числу и положению двойных связей в кольцах, а также по положению и химической природе боковых групп, присоединенных к кольцевой структуре. Хотя на первый взгляд эти различия незначительны, но они совершенно меняют биологическую активность различных стероидов.

Общим для всех стероидов является следующее. Все стероидные гормоны синтезируются из общего предшественника — холестерина, молекулы их невелики, и они легко проникают внутрь клеток. Действуют в очень малых количествах (их концентрация в крови составляет 10^{-9} моль/л). И наконец, их молекулы, проникающие практически во все клетки, могут избирательно стимулировать лишь небольшую их часть и проходят через остальные, не оказывая на них никакого заметного влияния.

Каков же механизм их действия? Работы последних лет дали большую информацию по этому вопросу, и многие существовавшие ранее представления нуждаются в известном пересмотре.

Все гормоны функционируют как химические посредники, переносящие соответствующую информацию в определенное место — клетку-мишень (т.е. клетку, специфически реагирующую на данный гормон). Принятие информации обеспечивается наличием у клетки-мишени высокоспецифического рецептора, с которым связывается гормон. В результате взаимодействия гормона с рецептором инициируется определенная последовательность процессов, природа которых определяется как типом гормона, так и типом клетки, которой принадлежит рецептор (83, 10).

Функция как стероидных, так и белковых гормонов заключается во влиянии на скорость синтеза специфических белков. Но в отличие от последних, действие которых осуществляется чаще всего на мембране клетки, стероиды проникают в цитоплазму клеток-мишеней и связываются со специфическими цитоплазматическими белками, к которым они имеют высокое сродство. Этот комплекс проникает в ядро и соединяется с хроматином. В результате, изменяя доступность для транскрипции определенных матриц ДНК, ядерные стероидные комплексы влияют на синтез специфических мРНК и, таким образом, оказывают влияние на уровне генома, либо индуцируя синтез нового белка, либо увеличивая скорость уже синтезирующегося (82, 15, 13, 47). Через воздействие на скорость синтеза или инициацию нового синтеза белков ферментов стероиды приобретают широкие возможности влияния на самые разнообразные стороны обмена в организме. Поэтому необходимость изучения их несомненно значительной роли во взаимоотношениях гельминт—хозяин очевидна.

Мы в своей работе остановились только на тех стероидах, которые являются гормонами высших животных и не будем касаться экдизона — гормона линьки насекомых, так как считаем, что роль этого гормона в жизнедеятельности гельминтов должна обсуждаться особо.

Кортикостероидные гормоны

Основной удельный вес в работах, посвященных изучению роли стероидов во взаимоотношениях гельминт—хозяин, принадлежит кортикостероидам. Мы позволим себе напомнить, какое влияние они оказывают на обмен позвоночных животных, выступающих в роли хозяев для многих гельминтов, так как именно это определяет интерпретацию данных, полученных в этих исследованиях.

Кортикостероиды — стероидные гормоны, образующиеся в коре надпочечников. Всего существует около 30 различных сходных химических соединений, которые по характеру действия в большей или меньшей степени отличаются друг от друга. Они делятся на глюкокортикоиды, основные из которых — кортизол (гидрокортизон) и кортикостерон, и на минералокортикоиды — альдостерон и дезоксикортикостерон.

Кортикостероиды оказывают влияние на очень разные биохимические и физиологические процессы. Во многих случаях результаты этого влияния являются вторичными или еще более опосредованными. Основные из них: а) влияние на метаболизм углеводов, белков и липидов; б) влияние на метаболизм электролитов и воды; в) влияние на кроветворную систему; г) влияние на воспалительные и аллергические процессы; д) влияние на устойчивость к повреждающим факторам и многие другие. Таким образом, стероидные гормоны являются регуляторами реакции организма на любой стресс. При введении каждого из трех основных кортикостероидов наблюдаются относительно сходные ответные реакции. Однако кортизол и альдостерон вызывают реакции, противоположные по силе.

В настоящее время уже хорошо известно, что глюкокортикоиды снижают количество лимфоцитов и эозинофилов в крови. Под влиянием этих стероидов лимфоидная ткань подвергается инволюции. Кортизол и некоторые синтетические стероиды предотвращают развитие воспалительной реакции в организме, тормозят проявление повышенной реактивности (анафилактический шок). Поэтому их стали широко применять в клинике при острых воспалительных и аллергических заболеваниях, в том числе и при трихинеллезе.

Из всего сказанного прежде всего вытекает, что кортикостероиды должны влиять на иммунологическое состояние хозяина и тем самым определять способность животных и людей к заражению гельминтами. Но есть все основания полагать, что не всегда так прямолинейно проявляется их роль во взаимоотношениях гельминта и хозяина. Как было отмечено, вторичными и даже более опосредованными последствиями их действия могут быть различные изменения в обмене органов-мишеней хозяина. Кроме того, вполне возможно, что обмен гельминтов (если они имеют рецепторы, то прямо, а если они рецепторов не имеют, то косвенно) зависит от воздействия данных гормонов.

Тем не менее среди проанализированных работ удельный вес принадлежит работам, демонстрирующим влияние кортикостероидов на взаимоотношения в системе хозяин—гельминт через воздействие на иммунологическую устойчивость хозяина. Предопределенность такого воздействия хорошо продемонстрирована в экспериментальной работе Щукина с соавт. (17). Ими показано, что у крыс разных линий после введения им продуктов жизнедеятельности аскарид меняется содержание кортикостероидов в надпочечниках и крови по-разному. Причем у контрольных животных исходное разное содержание кортикостероидов в крови зависит от линии животных. В надпочечниках эта зависимость не наблюдается. Таким образом, различия в ответной реакции коры надпочечников на введенный перорально антиген в виде продуктов жизнедеятельности аскарид определяются (среди прочих факторов) и генотипом организма. Это хорошо согласуется с фактом существования конституционного, или наследственного, иммунитета. Причем наследственно резистентными могут быть не только разные виды, но и популяции, и индивидуумы позвоночных.

Что же касается воздействия стероидов на устойчивость животных, то оно проявляется на уровне фагоцитарного или лимфоидного иммуногенеза. Как следствие введение их животным может способствовать обильному заражению последних теми или иными гельминтами, и инвазии, как правило, длятся дольше. Это продемонстрировано работами многих авторов, причем в основном при заражении животных различными нематодами. Чиантоз и Робинсон (35) отмечали даже случаи смертельного исхода вследствие заражения *Strongyloides stercoralis* пациентов, получавших кортизон. Введение преднизолона мышам привело к более интенсивному заражению их личинками *S. ratli* (48). При этом авторы отмечают, что на повторное заражение введение гормо-

на не оказывало влияния. Введение кортизона способствовало приживаемости овечьих форм *S. popillosus* у неспецифического для них хозяина-хомяка (30). Убедительные данные получены Паркером (70). При заражении морских свинок нематодами *Nippostrongylus brasiliensis* личинки последних проникают в кожу животных, а некоторые из них проникают даже в легкие, но, как правило, эти личинки не превращаются в кишечнике во взрослых червей. Когда же морским свинкам вводили кортизон, то в легких зараженных животных личинок было в 11 раз больше, чем у контрольных, причем некоторые проникали даже в канал кишечника. Гистологические исследования показали, что воспалительная реакция ткани, которая у нормальных морских свинок удерживает личинок в коже и в конце концов приводит к их гибели, у получавших кортизон проявляется замедленно, вследствие чего большинство личинок проходят через кожу и могут достичь легких и даже кишечника. Другие авторы (49) получили такие же результаты в опытах на кроликах, обычно не чувствительных к *N. brasiliensis*, если вводили им инъекции кортизона. После таких инъекций кишечник подопытных животных содержал некоторое количество взрослых червей, которые оказались вполне нормальными. Больше того, из яиц, отложенных ими, развились в культуре нормальные личинки.

Обычно заражение крыс нематодами *N. brasiliensis* оставляет у них ярко выраженный иммунитет. У таких иммунных крыс уже не удается вторичная инвазия этих гельминтов. Однако в результате обработки крыс преднизолоном или метазоном оказалась возможной реинвазия иммунных крыс, причем черви развивались так же хорошо, как и при первичной инвазии (67). Аналогичные результаты получены на белых мышцах при заражении их хомяковой линией *Oncylostoma celaninum* (72). Обычно этот гельминт у мышей развивается до взрослой стадии, но не достигает половой зрелости, однако при введении мышам гидрокортизона он половой зрелости достигал. Авторы объясняют это явление тем, что гидрокортизон подавляет иммунную реакцию хозяина, оказывающую тормозящее влияние на нормальное развитие гельминтов. Интересные данные получены на щенках, зараженных охлажденными (гипобиотическими) личинками *A. caninum*. Оказалось, что обработанные преднизолоном собаки заражались значительно сильнее гипобиотическими личинками по сравнению с контрольными собаками, хотя в какой-то мере спонтанно и идиосинкразически в течение 2–3 мес. (77).

Введение гидрокортизона хомякам и кортизона щенкам привело к усилению восприимчивости животных к нематоду *Necator americanus* (78, 84). Эффект действия кортизона ацетата в дозе 30–60 мг/кг ежедневно на приживаемость паразитов был даже выше, чем эффект облучения и тимэктомии этих животных, хотя оба последних воздействия также направлены на подавление иммунной реакции. Правда, все эти воздействия на иммунологическое состояние организма трудно сравнивать в количественном и временном отношении.

Много интересных работ с использованием кортикостероидов проведено при трихинеллезе. Трихинеллез — остролихорадочное аллергическое заболевание; и поэтому с целью снижения иммунологической и иммунопатологической реакций зараженного организма стали применять стероидные гормоны (38, 5, 61, 60, 11).

Оказалось, что действие кортизона на течение инвазии у мышей, зараженных нематодой *T. spiralis*, проявлялось в более длительном пребывании взрослых гельминтов в кишечнике хозяина и в наличии большего количества личинок в мускулатуре мышей по сравнению с контролем (38). Причем небольшие дозы кортизона подавляли воспалительную реакцию и способствовали приживаемости трихинелл, а увеличение дозы и сроков его применения снижало продукцию циркулирующих антител (61). Результаты этих работ также подтверждают точку зрения, что кортизон мешает проявлению защитных иммунных функций хозяев к паразитам. Об этом говорит и тот факт, что адреналэктомия у хозяев оказывает неблагоприятное воздействие на кишечные трихинеллы (58). Риттерзон и Конканнон (74) наблюдали подавление кортизоном сильного естественного (или конституционального) сопротивления китайского хомяка к заражению трихинеллой. При этом у обработанных животных наблюдалось значительно более силь-

ное поражение мышц, чем у необработанных (63 182 мышечных трихинелл у первых и только 28 — у вторых). При этом АСТГ оказался бездейственным. Глюкокортикоиды усиливают и удлиняют сроки лаворпродукции, увеличивают интенсивность инвазии мышц, нарушают капсулообразование (12). При этом кортизон ослабляет сопутствующий кишечной фазе энтерит, задерживает изгнание взрослых трихинелл. Однако увеличение дозы примененного кортизона резко снижало плодовитость половозрелых самок трихинелл в опытах *in vivo* и *in vitro* (79). На этом последнем факте более подробно мы остановимся ниже. Влияние дозы кортикостерона на развитие иммунологической и патоморфологической реакций зараженного организма отмечает и Л.В. Федянина (16) в опытах на морских свинках, зараженных *A. suum*. Автор продемонстрировала влияние дозы гидрокортизона на развитие аллергической реакции.

Приведенные работы проведены на животных, пораженных нематодами. Что же касается цестод и трематод, то они оказались в этом отношении малоисследованными. На мышцах трех линий, которым скармливали яйца *Taenia taeniformis*, изучали действие малых доз кортизона-ацетата на развитие личинок в печени. Оказалось, что кортизон способствует выживанию личинок и может делать устойчивых к этим гельминтам хозяев высоковосприимчивыми (68). Автор полагает, что кортизон является эффективным отчасти из-за его ингибирующего действия на образование антител. Ингибирующее действие на иммунитет мышей при заражении их цестодами *Hymenolepis microstoma* было продемонстрировано в экспериментах Говарда (50). Он показал, что введение кортизона мышцам во время повторного заражения *H. microstoma* снимало задержку роста у молодых червей и они в этих условиях развивались так же, как и при первичном заражении, т.е. у нерезистентных мышей. Что же касается трематод, то они в этом отношении еще меньше исследованы, и те немногие экспериментальные данные, которые есть по этому вопросу, достаточно противоречивы. Так, было показано (81), что после лечения крыс кортизоном в их легких обнаружено больше цист *Paragonimus westermani*, чем у нелеченных крыс, и наоборот, у мышей после введения им кортизона обнаружено меньше *Schistosoma mansoni*.

Таким образом, несмотря на некоторую противоречивость приведенных данных, несомненно, что кортикостероидные гормоны оказывают влияние на течение инвазии паразитов в организме хозяина, снижая иммунологическую реакцию организма. Однако все многочисленные эксперименты, которые подтвердили этот вывод, были проведены в условиях, когда в организм хозяина искусственно вводили стероидные гормоны. В связи со сказанным представляет интерес вопрос о том, каково же естественное поведение коры надпочечников в период попадания гельминтов в организм хозяина и развития инвазии?

В этом плане интересны наблюдения на крысах, экспериментально зараженных *Strongyloides ratti* (18). Оказалось, что заражение животных нематодами само провоцирует увеличение содержания кортикостерона в плазме хозяина. Это увеличение наблюдалось дважды: первое — после 24-часового латентного периода во время тканевой миграции личинок и второе — во время локализации гельминтов в кишечнике. Между двумя пиками наблюдается снижение уровня кортикостероидов в сыворотке пораженного хозяина. Изучая причину этих явлений, Бейленгер с соавт., получили интересные данные (23, 19, 26, 20, 21, 22). Они показали, что снижение уровня кортикостероидов в крови хозяина соотносится с гипоталамической секрецией кортиковыделяемого стимулятора. Причина связана с ингибированием нервного механизма, который регулирует нейросекрецию. Однако в период мышечной стадии миграции личинок наблюдается гиперкортикостеронемия, которая пропорциональна степени заражения животного, начиная с определенного порогового значения, ниже которого она не имеет места. Создается впечатление, что гельминты провоцируют гиперкортикостеронемию для снижения иммунной реакции хозяина в период их наибольшего контакта с его тканями. Интересно, что эти же авторы обнаружили у крыс, зараженных *S. ratti*, существование биологических суточных ритмов выделения кортикостероидов в русло крови. Оказалось, что гиперкортикостеронемия более выражена утром, а гипокортикостеронемия наступает

после полудня и значительное падение кортикостероидов совпадает с выделением гельминтов из организма. В период же "самоизлечения", наблюдаемого на этой модели крыса — *S. ratti*, введение кортикостерона задерживало выброс гельминтов только во время введения последнего. Прекращение инъекций сопровождалось восстановлением уровня кортикостерона и выбросом гельминтов. Авторы делают заключение, что паразиты в определенный период жизни вызывают снижение уровня стероида с целью развития иммунологической реакции и воспаления в кишечнике для осуществления феномена "самоизлечения".

Нечто подобное наблюдается и при трихинеллезе (4, 25). В начале заболевания происходит увеличение содержания кортикостерона в сыворотке крови больных людей и зараженных крыс. Затем у крыс уровень кортикостероидов нормализуется и вновь увеличивается к 3-й неделе. Поэтому можно предположить, что иммунодепрессия на определенных стадиях развития трихинелл обусловлена повышением уровня кортикостероидов. Активацию стероидогенеза в надпочечниках морских свинок в первые дни их заражения аскаридами отмечают и гистохимическим методом (32).

Таким образом, создается впечатление, что гельминты с помощью своих метаболитов каким-то образом воздействуют либо прямо, либо по принципу обратной связи на выделение гормонов в организме хозяина и вызывают определенные сдвиги в реализации ответа хозяина на внедрение в него гельминтов. Интересно в этой связи вспомнить работу (59), где было показано наличие рецепторов на кутикуле нематод (*T. spiralis* и *N. brasiliensis*), смена которых на разных стадиях развития гельминтов давала им возможность активировать либо не активировать систему комплемента хозяина. В результате этого юные личинки трихинелл, не имеющие этих рецепторов, беспрепятственно проникали в мышцы, не вызывая сдвигов в гомеостазе хозяина. Инвазионные личинки имели рецепторы и, активируя комплемент хозяина, принимали удар на себя.

Каковы возможности гельминта воздействовать на гормональный статус хозяина, нам пока не ясно. Нами (1, 2, 3, 6, 9) было показано, что гельминты (*A. suum*, *A. galli*, *F. hepatica*) содержат в своих тканях кортикостероидные гормоны. Трудно сказать, зачем эти гормоны нужны гельминтам, так как существует мнение, что они потребляют стероиды хозяина. Однако хорошо известно, что если стероидные гормоны не нужны клетке, то она не имеет рецептора и пропускает гормоны через себя, не задерживая. Поэтому весьма вероятно, что обнаруженные нами кортикостероиды нужны гельминту. В тканях гельминтов нами были не только определены кортизол, гидрокортизон, а у некоторых гельминтов и альдостерон, но и показано наличие неидентифицированных нами стероидов. Кроме того, показана возможность их синтеза в организме гельминта (6, 7, 8, 46). Поэтому можно предположить, что гельминт использует их в каких-то стрессовых ситуациях, в периоды усиленного синтеза белка, нехватки стероидов в кишечнике хозяина и т.д. Однако можно предположить и другое: обнаруженные нами стероиды являются контрвеществами, направленными гельминтом для воздействия на окружающие его ткани хозяина и создание нужной ему окружающей среды.

Вопрос о том, нуждаются ли гельминты в кортикостероидных гормонах для своего обмена, решался, к сожалению, в очень небольшом числе экспериментов и не всегда методически удачно. Поэтому полученные разными авторами данные не всегда сопоставимы. Тем не менее мы считаем, что эти первые работы представляют несомненный интерес и заслуживают обсуждения.

Так, исследования, проведенные на петухах, зараженных нематодой *A. galli*, показали, что внутримышечные инъекции гидрокортизона 14-дневным петушкам с последующим их заражением яйцами аскаридий привели к значительному увеличению приживаемости гельминтов у обработанных птиц (52). Авторы полагают, что гидрокортизон оказывает свое воздействие не только на организм хозяина, но и непосредственно на организм гельминтов в период тканевой фазы развития паразита. Работами Бировой-Волошиновичевой (33, 34) на цыплятах, также зараженных аскаридиями, был установлен следующий факт. При обработке цыплят меньшими дозами гормонов (АКТГ 4 мг, кортизон 5 мг/100 г живого веса) содержание личинок аскаридий было больше, чем

у цыплят, не подвергнутых воздействию гормонов. После введения цыплятами двукратной дозы кортизона автором было отмечено его обратное воздействие на гельминтов. Задерживаемость червей в организме цыплят в этих условиях была очень низкой, при этом гормон отрицательно влиял на рост и на развитие личинок аскаридий. Таким образом, несмотря на то что кортизон подавляет иммунную реакцию хозяина, гельминты в нем не развивались из-за отрицательного влияния гормона непосредственно на них. Отрицательное влияние глюкокортикоидов на развитие аскаридий отмечали и другие авторы (29, 77). Они исследовали среди прочих факторов влияние гидрокортизона на активность целого ряда ферментов у *A. galli*. В результате этой работы они установили, что при инкубации самок аскаридий в среде с добавлением гидрокортизона у последних снижается активность гистидинаммиаклиазы, аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы и индуцируется активность треониндегидрогеназы, в то время как активность аргиназы не менялась. Активность ряда ферментов углеводного метаболизма тормозилась в присутствии этого стероида, в то время как активность фосфоглюкокиназы и ряда других ферментов активизировалась.

Таким образом, избыток гидрокортизона, безусловно, нарушал отдельные стороны обмена гельминтов. Однако такое нарушение, вероятно, зависит от дозы стероида и возраста гельминта, подвергающегося его воздействию, и без специальных исследований не всегда может быть выявлено. Так, Гров и Давкинс (48) при воздействии преднизолона на мышей, зараженных *S. ratti*, не наблюдали его влияния на самих гельминтов. Они отмечают, что ни вес, ни плодовитость самок не менялись. В других экспериментах гидрокортизон, примененный *in vitro*, не оказал достоверного влияния на углеводный и липидный обмен фасциол (51). В то же время при обработке мышей, зараженных трихинеллами, кортизоном наблюдалось резкое снижение плодовитости самок трихинелл. В опытах *in vitro* добавление кортизона к культуральной среде также снижало плодовитость трихинелл (79). Дробкин с соавт. (43) продемонстрировали отрицательное влияние ряда стероидов и стероидных гормонов позвоночных животных на развитие свободноживущих нематод *Caenorhabditis elegans* и *Panagrellus radivivus*. И наконец, обработка мышей, зараженных *Hymenolepis microstoma*, кортизоном в дозе 1,25 мг через день привела к увеличению размеров червей и повышению у них содержания гликогена. Однако оказалось, что при сравнении контрольных и обработанных червей отношение сухого веса к сырому и содержание белка у них было одинаковым (54). Поэтому есть все основания сомневаться в том, что в этом эксперименте мы наблюдаем прямое гормональное влияние на обмен гельминтов, а не опосредованное, через изменение иммунологического состояния хозяина.

Приведенные данные довольно противоречивы. Вполне возможно, что разное воздействие гормонов на гельминтов, принадлежащих к разным систематическим группам и имеющих разную локализацию, может быть связано с особенностями их обмена и, следовательно, с наличием или отсутствием у них рецепторов к данным гормонам. Это, в свою очередь, может быть обусловлено их большей или меньшей автономией по отношению к хозяину. Однако для серьезного обсуждения этого вопроса требуется значительно больше экспериментальных данных. Мешает серьезному анализу приведенных данных то, что практически все цитируемые здесь эксперименты проведены в стрессовых для гельминта условиях, когда он встречается в организме хозяина с колоссальной для него дозой искусственно введенного соответствующего гормона. Это может абсолютно неадекватно в каждом отдельном случае исказить его взаимоотношения с хозяином.

Половые стероидные гормоны

Вторая группа стероидных гормонов — половые гормоны — также оказывает влияние на резистентность хозяев к тем или иным гельминтам. Об этом можно судить по работам, в которых продемонстрировано либо непосредственное влияние пола животных на степень их заражения, либо влияние на их устойчивость введения им в той или иной форме половых гормонов.

Половые гормоны — андрогены и эстрогены. Оба этих названия — родовые термины для обозначения целой группы половых гормонов, секретируемых главным образом семенниками и яичниками соответственно. Тестостерон — главный андроген, образующийся в семенниках. Активными эстрогенами являются β -эстрадиол и образующиеся при его метаболизме эстрон и эстриол (последние обладают низкой активностью). Кроме того, желтым телом и плацентой синтезируется группа гормональных соединений с родовым названием прогестин. Наиболее распространенным представителем этой группы является прогестерон.

Механизм действия всех перечисленных соединений является типичным для стероидных гормонов и описан. Свое действие они оказывают на органы-мишени, обладающие гормоноспецифическими рецепторами. Такими органами-мишенями для всех половых гормонов являются в основном соответствующие половые органы. Однако в известной мере половые гормоны позвоночных функционируют во всех тканях. Они стимулируют синтез РНК. Белковый синтез в клетках-мишенях является, по-видимому, главным процессом, на который влияют стероидные гормоны.

Андрогены оказывают выраженное анаболическое действие на обмен азота и кальция, ускоряют синтез фосфолипидов в различных мембранах, усиливают рост тканей, стимулируя белковый обмен. Анаболический эффект андрогенов проявляется в целом ряде тканей. Единственной тканью, на которую они оказывают катаболическое действие, является, по-видимому, вилочковая железа, или тимус (57). Введение андрогенов молодым животным ведет к уменьшению веса тимуса, атрофии долек и исчезновению в них тимоцитов. Таким образом, этот эффект андрогенов аналогичен эффекту глюкокортикоидов.

Эстрогены оказывают влияние на метаболизм липидов, кальция и фосфора, увеличивают активность орнитиндекарбоксилазы в ответ на стимулирование пролиферации клеток в различных тканях, и вследствие этого в быстро пролиферирующих тканях наблюдается сопряжение процессов синтеза полиаминов и РНК. С точки зрения суммарного воздействия на белковый обмен эстрогены, как и андрогены, обычно вызывают анаболический эффект.

Прогестерон — гормон, действующий на эндометрий, предварительно подготовленный эстрогеном. Подобно андрогенам и эстрогенам прогестерон имеет клетки-мишени, содержащие специфический цитоплазматический рецептор. Но в отличие от указанных гормонов для прогестерона характерна индукция умеренного отрицательного азотистого баланса. Прогестерон, хотя и в очень больших дозах (подобно альдостерону), вызывает задержку воды в организме. Кроме того, что, на наш взгляд, очень важно, прогестерон подобно кортикостероидам оказывает иммунодепрессивное действие. Таким образом, хотя прогестерон, подобно тестостерону и эстрадиолу, проявляет первичное действие на уровне транскрипции генов, в отличие от них его влияние на этот процесс определяется структурой участка, связывающего комплекс стероидрецепторный белок с хроматином клетки-мишени.

Мы подробно остановились на механизме действия каждой группы половых стероидных гормонов для того, чтобы дать возможность проанализировать имеющиеся в литературе данные, касающиеся воздействия тех или иных стероидных гормонов на сопротивляемость животных к заражению гельминтами.

Вопрос о пути влияния половых гормонов на взаимоотношения хозяин—гельминт может быть рассмотрен с двух точек зрения: с одной стороны, влияние гормонов на организм хозяина, на специфику его обмена и иммунологический статус; с другой — воздействие гормонов непосредственно на устойчивость и обмен самих гельминтов, если это возможно и если гельминты имеют рецепторы и ткани-мишени.

Остановимся на первой стороне вопроса — на влиянии андрогенов и эстрогенов на восприимчивость животных к паразитам. Практически почти все работы, связанные с изучением роли половых гормонов в приживаемости трематод, сделаны на модели хозяин—шистосома. Комбескот с соавт. (39) показал, что эстрадиол снижает интенсивность инвазии у кастрированных самок золотистых хомячков, экспериментально

зараженных *S. mansoni*. Ингибирующее действие эстрадиола проявилось в следующем: у получавших эстрадиол хомяков среднее количество гельминтов было 38 на одно животное против 70 у контрольных. Разница в соотношении количества самцов и самок гельминтов не была установлена (39). В последующей работе этих же авторов отмечается снижение интенсивности инвазии не только при введении животным эстрадиола, но и, что странно, тестостерона. При этом авторы отмечают увеличение количества циркулирующих в крови антител. Для изучения защитной роли эстрогенов при шистосоматозе была сделана попытка введения хомякам эстрогена совместно с антиэстрогенами. Применение этих комплексов давало при шистосоматозе защитный эффект, который, однако, был слабее, чем при использовании одного эстрогена. Поэтому есть основания полагать, что антиэстрогены блокируют рецепторы эстрогенов и тем самым снижают их действие (28, 2).

Приведенные эксперименты могут свидетельствовать об активной защитной функции этого гормона. Значительная роль эстрогенов при шистосоматозе подтверждается и тем, что именно при этом заболевании нарушается их обмен в печени больных. Так, при обследовании 30 больных мужчин, зараженных шистосомами, обнаружен выброс в кроветок эстрона и эстриола — продуктов превращения эстрогенов, и снижение количества эстрадиола (75).

Влияние непосредственно пола заражаемых животных либо искусственно введенных половых гормонов на их устойчивость к заражению и продукцию яиц гельминтами отмечена для мышей, зараженных *Microphallus pygmaeus* (64). Аналогичные данные были получены на мышках, экспериментально зараженных цестодами *Alveococcus multilocularis*: паразиты развивались на 45,4% у самок и на 92,4% у самцов. Есть в то же время наблюдения, что самки рыб во время икрометания бывают поражены *Sanguophyllaeus laticeps* в значительно большей степени, чем самцы (53). Правда, автор считает, что хотя нет оснований полностью исключить гормональную основу этого различия в заражении, в то же время и нельзя объяснить наблюдаемый факт только влиянием гормонов. Известно, что самки рыб во время икрометания держатся ближе ко дну, где находятся промежуточные хозяева этих ленточных гельминтов.

Как мы отмечали, есть определенные трудности в интерпретации многих наблюдений, касающихся роли гормонов во взаимоотношениях хозяина и гельминта из-за невозможности поставить чистый опыт. Все приведенные примеры лишь косвенно доказывают действие половых гормонов позвоночных на паразитов и резистентность их хозяев. При изучении действия половых гормонов на степень заражаемости мышей цестодами *Hymenolepis papae* было показано, что удаление у самцов семенников привело к уменьшению интенсивности заражения последних и это явление было более выражено у взрослых особей (в возрасте 9—14 недель), чем у молодых 5-недельных (24). Введение тестостерона мышам, зараженным личинками другой цестоды (*Mesocostoides corti*), увеличивало объем перитонимальной популяции личинок у мышей обоих полов. Эстрадиол в таком опыте действовал значительно слабее, но заметно усиливал заражение печени (65, 66). Эти данные согласуются с полученными ранее о том, что популяция тетратиридиев у самцов быстрее увеличивается в объеме, чем у самок, тогда как *Echinococcus (Alveococcus) multilocularis* быстрее растет у самок мышей тех же линий. И наконец, кастрация собак и кроликов дала неидентичные результаты. Кастрированные собаки заражались эхинококком в большей степени, в то время как кастрированные кролики были заражены в равной степени с контрольными (14).

Основное число работ этого раздела выполнено на системе хозяин—нематода. Так, Добсон (40) обнаружил у самок ягнят в возрасте 30—32 недель, экспериментально зараженных *Oesophagostomum columbianum*, 9—39 гельминтов, а у самцов — 191—279. В других экспериментах подобного рода, тоже проведенных на нематодах (41), показано, что эстроген повышает сопротивляемость хозяев, а тестостерон практически не производит никакого действия. По мнению автора, маловероятно, чтобы эти гормоны непосредственно воздействовали на гельминтов. На примере изучения влияния пола и половых гормонов на заражаемость крыс *T. spiralis* было установлено, что крысы-

самцы при равных условиях заражения и содержания имели через месяц в 3 раза больше личинок трихинелл, чем самки (62). Авторы полагают, что результаты опыта свидетельствуют о значительной естественной резистентности самок крыс в отношении трихинелл. Этот вывод они подтвердили экспериментами, показавшими, что введение сильбестрона (сильного синтетического эстрогена) кастрированным самцам повышало их сопротивляемость в 2 раза. Больше того, введение сильбестрона даже не кастрированным самцам снижало у них количество трихинелл. Такие же результаты для трихинелл были получены и другими авторами (63). При заражении кастрированных самок хомяков микрофилляриями *Dipetalonema vitae* введенные им 17β -эстрадиол, прогестерон или тестостерон влияли на интенсивность заражения. Эстрадиол и прогестерон его снижали. Тестостерон влияния почти не оказывал (73). Однотипные работы, отличающиеся вариантами постановки экспериментов, были проведены на гонадэктомированных мышцах, зараженных *Ancyllostoma caninum* (31), *Nippostrongylus brasiliensis* (80). В обоих случаях введение тестостерона кастрированным мышцам повышало приживаемость гельминтов, а эстрадиола — снижало. Кроме того, как отмечают авторы, имплантация крысам капсул с тестостероном вызывала дозозависящее повышение выделения яиц самками *N. brasiliensis*. Хомич (37) в экспериментах на гонадэктомированных кроликах при стронгилоидозе (овечий штамм) отмечала, что введение эстрадиола повышало у них число нейтрофилов и снижало яйцепродукцию находящихся у них паразитов. При обработке кроликов тестостероном картина была обратной. При стронгилоидозе мышей (*S. ratti*) (56) очень четко прослеживается зависимость степени инвазии от пола хозяина. Причем это половое различие отмечается в период миграции личинок, т.е. в период наиболее эффективного иммунологического воздействия со стороны хозяина. Наоборот, при имплантации взрослых червей значительных различий в количестве гельминтов в кишечнике самцов и самок не наблюдалось. И наконец, при кастрации самцов количество гельминтов у них уменьшалось по сравнению с интактными.

Таким образом, во всех приведенных работах отчетливо видно влияние пола хозяина на его восприимчивость к заражению гельминтами — самки животных более устойчивы, чем самцы. Введение андрогенов снижает резистентность животных. Эти факты однозначно говорят об опосредованном влиянии половых гормонов на восприимчивость животных к инфекции через воздействие на иммунитет хозяина. Андрогены и прогестерон, как было отмечено, катаболически действуют на иммунную систему организма. Тестостерон вызывает инволюцию тимуса (вилочковой или зубной железы). Поэтому мыши с пониженной активностью зубной железы не проявляли различий пола в отношении степени заражения их *Nematospiroides dubius* (42). Интересно, что взаимная передача от мышцей доноров самцов и самок иммунных клеток мезентериальных лимфатических узлов мышцам, которые происходили от одних с ними предков, показала, что у самок повышаются защитные свойства пересаженных клеток и от самцов, и от самок, а у самцов они понижаются, т.е. организм реципиента своими гормонами подавляет активность пересаженных клеток. В то же время мы склонны считать, что эстрадиол непосредственно мало участвует в иммунологическом процессе, но при этом не препятствует его развитию. В избытке же этот гормон в организме хозяина подавляет действие иммуносупрессора — тестостерона. Известно, что эстрогены являются ингибиторами секреции гонадотропинов гипофизом, а это влечет за собой атрофию семенников, где происходит синтез тестостерона. Таким образом, круг замыкается. Подтверждением этому является работа Форнона (45), в которой автор не смог продемонстрировать в экспериментах *in vitro* влияние 17β -эстрадиола на цитотоксическую активность макрофагов в отношении *Sch. mansoni*.

Но остается пока не решенным другой вопрос — воздействуют ли гормоны хозяина непосредственно на организм гельминта? Имеют ли гельминты соответствующие рецепторы? Если такие рецепторы у них есть, то возможно, что гормоны хозяина воздействуют и на них. Такие предположения существуют, особенно для системы гельминт—хозяин—беспозвоночное. Что же касается системы гельминт—хозяин—позвоночное животное, то существующие в настоящее время эксперименты такого четкого подтверждения пока не дают.

Многими работами было показано, что введение тестостерона хозяевам, зараженным гельминтами, провоцирует у последних повышение яйцепродукции (36, 37, 64, 80). Поскольку тестостерон является мужским половым гормоном и на яйцепродукцию непосредственно не влияет, то, скорее всего, его воздействие в этих экспериментах на гельминтов не прямое, а опосредованное и проявляется через иммунологическую систему хозяев. Вполне возможно, что ослабление иммунологического статуса организма хозяина дает эффект благоприятствования не только для личинок, но даже для взрослых форм гельминтов. Экспериментально было показано (55), что орхизектомия крыс, зараженных *Setaria cervi*, проводила к понижению активности глюкозо-6-фосфатазы и лактатдегидрогеназы, мелатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы, т.е. наблюдалось нарушение обмена веществ гельминта. Введение орхизектомизированным животным тестостерона нормализовало обмен у этих нематод. Однако одновременно с этим есть работы (и таких работ немало), которые констатируют слабое воздействие половых гормонов на организм гельминтов (71, 69, 44, 41). Такая разноречивость результатов, полученных при исследовании воздействия как половых, так и кортикостероидных гормонов на гельминтов, может быть обусловлена целым рядом причин. Во-первых, чаще всего в этих экспериментах гормоны вводятся хозяевам, зараженным гельминтами, и мы наблюдаем результат суммированного воздействия гормонов как непосредственно на гельминтов, так и опосредованно, через воздействие на хозяев. При этом надо учесть, что такая сумма воздействий в каждом отдельном случае не бывает идентичной. Во-вторых, во многих работах практически не учитываются дозы воздействующих гормонов, а в этом тоже, вполне возможно, кроется причина очень разноречивых результатов, полученных многими авторами. С одной стороны, хорошо известно, что потребность в гормонах у гельминтов имеет минимальное пороговое значение и в экспериментах, решающих эту проблему; этот факт должен учитываться. В то же время, с другой стороны, реактивность клеток по отношению к стероидам зависит от стабильности комплекса рецептора к соответствующим гормонам. Клетки, в которых такие комплексы быстро распадаются, могут оставаться реактивными в течение длительного времени только при поддержании высокой концентрации гормона в ткани.

Все сказанное свидетельствует о том, что мы очень критически и осторожно должны подходить к анализу результатов многих экспериментальных работ, освещающих так или иначе роль стероидов во взаимоотношениях гельминта и хозяина. Тем не менее есть все основания предполагать, что, кроме воздействия на иммунитет хозяина, существует возможность либо прямого, либо косвенного воздействия гормонов хозяина на гены и половые структуры гельминта, способные вызывать изменения генотипа паразита.

Кроме того, половые гормоны, как и кортикостероиды, способны оказывать влияние не только на репродуктивную систему, но и на многие другие системы обмена животного организма, не связанные с его половой функцией. Все это, действуя длительное время, может привести к появлению новых приспособительных признаков у гельминтов и определять их жизнеспособность.

Наряду с этим нельзя исключить и возможность синтеза у гельминтов собственных гормонов. Вполне возможно, что система синтеза гормонов у них является компенсаторной и включается в действие в периоды стрессовой для гельминтов ситуации во взаимоотношениях с хозяином.

Однако решение всех поставленных здесь вопросов требует прежде всего изучения молекулярной биологии стероидов, выяснения наличия и характера рецепторов стероидных гормонов у гельминтов и приобретения точных представлений о механизме присоединения стероидов к рецепторам. Решение этих вопросов прольет свет на истинную роль гормонов во взаимоотношениях в системе хозяин—гельминт и позволит разработать метод тонкого управления реакциями на гормоны, а возможно, и использовать "антигормоны" в качестве безопасных и эффективных средств борьбы при гельминтозах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимова Н.Г. Количественное содержание кортизола и кортикостерона в тканях нематоды *Ascaris suum* // Материалы науч. конф. ВОГ. М., 1976. Вып. 28. С. 23–26.
2. Герасимова Н.Г. К вопросу об исследовании стероидов и стероидных гормонов у трематоды *Fasciola hepatica* // Мед. паразитология. 1980. № 5. С. 69–72.
3. Герасимова Н.Г., Леутская З.К. Исследования кортикостероидных гормонов у нематоды *Ascaris suum* // Паразитология. 1977. Т. 9. С. 321–324.
4. Клейн Ю.С., Гоман Г.П. О функции надпочечников у больных трихинеллезом // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1973. Т. 42, № 2. С. 170–176.
5. Командарев С., Йовчев Е. Исследование механизма и факторов иммунитета при трихинеллезе. III. Исследования функциональной способности коры надпочечной железы при инвазии трихинелл посредством теста Торна // Изв. Центр. гельминтолог. лаб. 1965. Т. 10. С. 161–166.
6. Леутская З.К. Роль стероидов и стероидных гормонов во взаимоотношениях гельминта и хозяина // О.А. Шишова - Касаточкина, З.К. Леутская. Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. М.: Наука, 1979. С. 254–274.
7. Леутская З.К. К вопросу о синтезе стероидов у гельминтов // Тез. 4-го междунар. симп.: Гельминты, гельминтозы – среды обитания. Октябрь, 1982. Кошице (ЧССР), 1982.
8. Леутская З.К., Герасимова Н.Г. Исследования холестеринэстеразной активности в тканях нематоды *Ascaris suum* // Тр. ГЕЛАН, 1974. Т. 24. С. 83–86.
9. Леутская З.К., Герасимова Н.Г. Стероиды нематод // Тр. ГЕЛАН. 1978. Т. 28. С. 108–115.
10. О'Мелли Б., Шрадер У. Рецепторы стероидных гормонов // Молекулы клетки. М.: Мир, 1977. С. 266–287.
11. Озерецковская Н.Н. Современные проблемы терапии гельминтозов // Мед. паразитология. 1975. № 3. С. 271–276.
12. Переверзева Э.В. Влияние бензимидазолов и глюкокортикоидов на кишечную фазу экспериментального трихинеллеза мышей // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1981. Т. 50, № 5. С. 37–42.
13. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны / Отв. ред. Л.А. Пиружян, И.В. Панерная. М.: Наука, 1974.
14. Рамазанов В.Т. Влияние половых гормонов хозяина на развитие гельминтов // Вопросы ветеринарной паразитологии в Казахстане. Алма-Ата, 1982. С. 106–110.
15. Сергеев П.В., Сейфулла Р.Д., Майский А.И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. М.: Наука, 1971.
16. Федянина Л.В. Влияние гидрокортизона на патоморфологические изменения и восстановительные процессы при экспериментальном аскаридозе // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1977. Т. 46, № 6. С. 693–700.
17. Щукин П.И., Бунатян А.Ф., Ильина Т.Н., Зукакова И.Б. Влияние продуктов жизнедеятельности гельминтов на содержание кортикостерона в надпочечниках и крови // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1978. № 2. С. 291–297.
18. Bailenger J., Carcenac F. Влияние паразитирования *Strongyloides ratti* на секреции глюкокортикоидов у крыс // Intern. J. Parasitol. 1974. Vol. 4, N 3. P. 307–310.
19. Bailenger J., Carcenac F.F., Faraggi G., Cabannes A. Role de l'hypocorticonémie dans le mécanisme de la "selfcure" des rats parasites par *Strongyloides ratti* // Ann. parasitol. hum. et comp. 1976 (1977). Vol. 51, N 6. P. 653–665.
20. Bailenger J., Chanraud J.B., Cny M. Influence de l'intensité du parasitisme par *Strongyloides ratti* sur la corticostéronémie du rat // Ibid. 1981. Vol. 56, N 3. P. 313–315.
21. Bailenger J., Chanraud J.B., Marcel P., Cabannes A. Evolution du parasitisme et de la corticostéronémie lors d'infestations répétées des rats par *Strongyloides ratti* // Ibid. P. 317–327.
22. Bailenger J., Chanraud J.B., Cabannes A. La réaction corticosurrénale lors d'une tentative de reinfestation des rats par *Strongyloides ratti* // Ibid. P. 329–338.
23. Bailenger J., Faraggi G. Mécanisme de l'action hypocorticonémisante de *Strongyloides ratti* chez le rat // Ibid. 1975. Vol. 50, N 2. P. 187–197.
24. Bailenger J., Larcher Fourrier M.F. Influence des hormones androgènes sur le parasitisme des souris mâles par *Hymenolepis nan* // Ibid. 1972. Vol. 47, N 6. P. 773–777.
25. Bailenger J., Peychaud A., Cabannes A., Haumont G. Evolution de la corticostéronémie au cours de la trichinose du rat, ses relations avec l'immunodépression // Ibid. 1985. Vol. 60, N 4. P. 445–454.
26. Bailenger J., Souby J. Importance de l'heure du prélèvement pour suivre les variations de la corticostéronémie au cours du parasitisme du Rat par *Strongyloides ratti* // Ibid. 1979. Vol. 54, N 2. P. 227–235.
27. Barrabes A., Duong T.H., Lacroix R., Combescot Ch. // Cr. Soc. biol. 1982. Vol. 176, N 3. P. 283–287.
28. Barrabes A., Duong T.H., Reynouard F., Combescot Ch. La parasitose expérimentale à *Schistosoma mansoni* du hamster dore. Etude de l'effet sur l'intensité du parasitisme et sur le taux d'anticorps circulants, après administration d'estradiol, de testostérone ou de progestérone // Ann. parasitol. hum. et comp. 1980. Vol. 55, N 6. P. 671–677.
29. Berghen P., Poelvoorde J. Invloed van glucocorticoiden op het cycluserloop van *Ascaridia galli* // Vlaams diargeneesk. tijdschr. 1978. Bd. 47, N 3. S. 218–235.

30. *Bezubik B., Borowik M.* Further studies on the effect of cortisone on the infection of wistar rats with *Strongyloides papillosus* // *Acta parasitol. pol.* 1969. Vol. 17. P. 17–24.
31. *Bhai I., Pandey A.K.* Gonadal hormones in experimental *Ancylostoma caninum* infections in male Swiss albino mice // *Intern. J. Parasitol.* 1982. Vol. 12, N 6. P. 589–591.
32. *Bladum W., Rukasz H.* Histochemiczna ocena sterydogenezy w nadnerczach swinek morskich zarazonych larwami *Ascaris suum* L. // *Wlad. parazytol.* 1986. Vol. 32. S. 53–58.
33. *Birova-Volosnovicova V.* Experimental ascariasis. II. The course of the early post-invasion stage of *Ascaridia galli* in hormone (ACTH, cortisone)-treated chicks // *Biologia (CSSR)*. 1974. Vol. 29B, N 2. P. 139–149.
34. *Birova-Volosnovicova V.* Experimentelle Askaridiasis. III. Das Blutbild askaridloser, mit Hormon (ACTH and Kortison) behandelten Küken // *Ibid.* P. 151–157.
35. *Braud Th. von.* Parasitenphysiologia. Stuttgart: Fischer, 1972.
36. *Chomicz L.* Wplyw pici zwierzat zywielskich na przebieg inwazji pasozytnizych // *Wlad. parazytol.* 1980. Vol. 26. N 1. S. 13–21.
37. *Chomicz L.* The effect of gonadectomy and sex hormones on the course of experimental strongyloidosis (Sheep strain) in rabbits. I. Single infections // *Acta parasitol. pol.* 1984. Vol. 29, N 9/19. P. 149–166.
38. *Coker C.M.* Effect of cortisone on *Trichinella spiralis* infections in non-immunized mice // *J. Parasitol.* 1955. Vol. 41, N 5. P. 498.
39. *Combescot Ch., Barrabes A., Gerhardt R.* L'oestradiol ne modifie pas la proportion des vers males et femelles dans la bilharziose experimentale a *Schistosoma mansoni* du hamster dore femelle // *Ann. parasitol. hum. et comp.* 1975. Vol. 50, N 5. P. 629–633.
40. *Dobson C.* Host endocrine interaction with nematode infections. I. Effects of sex genadectomy and thyroidectomy on experimental infections in lambs // *Exp. Parasitol.* 1964. Vol. 15. P. 200–212.
41. *Dobson C.* The effects of host sex and age on the hostparasite relationship of the third-stage larva of *Amplificum robertsi* Sprent Mines, 1960, in the laboratory rat // *Parasitology*. 1965. Vol. 55. P. 303–311.
42. *Dobson C., Owen M.E.* Effect of host sex on passive immunity in mice infected with *Nematospiroides dubius* // *Intern. J. Parasitol.* 1978. Vol. 8, N 5. P. 359–364.
43. *Dropkin V.N., Lower W.R., Acedo J.* Growth inhibition of *Caenorhabditis elegans* and *Panagrellus redivivus* by selected mammalia and insects hormones // *J. Nematol.* 1971. Vol. 3, N 4. P. 349–355.
44. *Fleming M.W.* Steroidal enhancement of growth in parasitic Larvae of *Ascaris suum*: Validation of a bioassay // *J. Exp. Zool.* 1985. Vol. 233, N 2. P. 229–233.
45. *Fonruon M., Barrabes A., Duong T.H., Combescot Ch.* Intervention eventuelle des macrophages dans la protection engendree par le 17 β -estradiol contre la bilharziose a *Schistosoma mansoni* chez la souris: Etude in vitro // *Bull. Soc. fr. parasitol.* 1984. N 2. P. 61–64.
46. *Gerasimova N.G., Leutskaya Z.K.* On synthesis of steroids in helminths // *Helminthologia*. 1983. Vol. 20, N 2. P. 81–88.
47. *Gorski J., Gannon F.* Current models of steroid hormone action: A critique // *Annu. Rev. Physiol.* 1976. Vol. 38. P. 425–450.
48. *Grove D.I., Dawkins H.J.S.* Effects of prednisolone on murine strongyloideasis // *Parasitology*. 1981. Vol. 83, N 2. P. 401–409.
49. *Harley J.P., Gallicchio V.* Effect of cortisone on the establishment of *Nippostrongylus brasiliensis* in the rabbit // *J. Parasitol.* 1970. Vol. 56. P. 271–276.
50. *Howard R.J.* *Hymenolepis microstoma*: A change in susceptibility to resistance with increasing age of the parasite // *Parasitology*. 1977. Vol. 75, N 2. P. 241–249.
51. *Hutton J.C., Schofield P.J., McMannus W.R.* Metabolic sensitivity of *Fasciola hepatica* to mammalian hormones in vitro // *Comp. Biochem. and Physiol. B*. 1972. Vol. 42, N 1. P. 49–56.
52. *Johnson J.R., Hansen M.F.* Influence of hydrocortison on susceptibility of chickens to *Ascaridia galli* // *J. Parasitol.* 1964. Vol. 50, N 3. P. 2–27.
53. *Kennedy C.R.* Population biology of the cestode *Coryophyllacus laticeps* (Pallas, 1781) in dace, *Leuciscus leuciscus* L., of the river avon // *Ibid.* 1968. Vol. 54. P. 538–543.
54. *Khan Z.I., Rycke P.H.de.* The effect of cortisone acetate on the metabolism of *Hymenolepis microstoma* (cestoda: Cyclophyllidae) // *Ztschr. Parasitenk.* 1977. Bd. 52, N 3. S. 267–274.
55. *Khatoun H., Wajihullah Bagui A., Ansari J.A.* Endocrinological studies on *Setaria cervi* infection in white rats. I. Relationship between host hormones and metabolic activity of the worm // *Helminthologia (CSSR)*. 1986. Vol. 23, N 2. P. 85–91.
56. *Kigota M., Korenaga M., Nawa V., Kotani M.* Effect of androgen on the expression of the sex difference in susceptibility to infection with *Strongyloides ratti* in C57BL/6 mice // *Austral. J. Exp. Biol. and. Med. Sci.* 1984. Vol. 62, N 5. P. 607–618.
57. *Klöpmann W., Mosebach K.* Einfluss von Testosteron auf den Einbau von Aminosäuren in die Samenbläschen und Thymisproteine unreifer Ratten // *Naturwissenschaften*. 1965. Bd. 52, N 11. S. 308.
58. *Larsh J.E.* // *Trichinosis in man and animals* / Ed. S.E. Gouls. Springfield: Thomas, 1970. Pt III. P. 129–146.
59. *Mackenzie C.D., Preston P.M., Ogilvie B.M.* Immunological properties of the surface of parasitic nematodes // *Nature*. 1978. Vol. 276. P. 826–828.

60. **Markell E.K.** The effect of cortisone treatment upon the longevity and productivity of *Trichinella spiralis* in the rat // *J. Infect. Diseases*. 1958. Vol. 102, N 2. P. 158–161.
61. **Markell E., Lewis W.** Effect of cortisone treatment of immune to subsequent reinfection with *Trichinella* in the rat // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1957. Vol. 6, N 3. P. 553–562.
62. **Mankau S., Hamilton R.** The effect of sex and sex hormones on the infection of rats by *Trichinella spiralis* // *Canad. J. Zool.* 1972. Vol. 50, N 5. P. 597–602.
63. **Mascaro-Lazcano C., Osuna-Carrillo A., Guevara-Pozo D.** Influencia de la administracion de propionato de testosterona y diacetato de dihidroestibestrol en la susceptibilidad del raton albino a la infestacion por *Trichinella spiralis* // *Rev. iber. parasitol.* 1978. Vol. 38, N 1/2. P. 427–433.
64. **Molan A.L., Brain P.F., James B.L.** The retention and egg production in *Microphallus pygmaeus* (Levinson, 1881) (Digenea: Microphallidae) in gonadectomized and hormone-treated male mice // *Ztschr. Parasitenk.* 1984. Bd. 70, N 5. S. 627–636.
65. **Novak M.** Effect of sex hormones on the growth and multiplication of tetrathyrcia of *Mesocetoides corti* (Cestoda: Cyclophullidae) in mice // *Intern. J. Parasitol.* 1974. Vol. 4, N 4. P. 371–374.
66. **Novak M.** Gonadectomy sex hormones and the growth of tetrathridial populations of *Mesocetoides corti* (Cestoda: Cyclophullidae) in mice // *Ibid.* 1975. Vol. 5, N 3. P. 269–274.
67. **Ogilvie B.M.** Use of cortisone derivative to inhibit resistance to *Nippostrongylus brasiliensis* and to study the fate of parasites in resistant hosts // *Parasitology*. 1965. Vol. 55. P. 723–730.
68. **Olivier L.** Studies on natural resistance to *Taenia taeniformis* in mice. II. The effect of cortisone // *J. Parasitol.* 1962. Vol. 48. P. 758–762.
69. **Osuna Carrillo A., Suarez Carrillo E., Guevara Benitez D., Guevara Pozo D.** Culture in vitro de *Hymenolepis nana*: influence dans son developpement des niveaux hormonaux du serum et de l'extrait Hepatique employes dans la culture // 4th Intern. Congr. parasitol., Warsaw, 1978: Short commun. Sect. ASL. Warsaw, 1978. P. 66.
70. **Parker J.C.** Effect of cortisone on the resistance of the guinea pig to infection with the rat nematode *Nippostrongylus brasiliensis* // *Exp. Parasitol.* 1961. Vol. 11. P. 11.
71. **Peretra de Souza C., Vieira Martins E., Pinto Dias E., Katz N.** Influencia de hormônios de vertebrados sobre reprodução de *Biomphalaria glabrata* e na infecção pelo *Schistosoma mansoni* // *Rev. brasil. pesquisas méd. e biol.* 1978. Vol. 2, N 2/3. P. 135–140.
72. **Ray D., Bhopale K.K., Shrivastava V.B.** Development of *Ancyllostoma seylanicum* Looss, 1911 (Hamster Strain) in the albino mouse, *Mus musculus*, with and without cortisone // *Parasitology*. 1975. Vol. 71, N 2. P. 193–197.
73. **Reynouard F., Barrabes A., Lacroix R., Combescot Ch.** // *Ann. parasitol. hum. et comp.* 1984. Vol. 59, N 3. P. 237–244.
74. **Ritterson A.L., Concannon J.** Comparative effect of cortisone and acth on golden and chinese hamsters infected with *Trichinella spiralis* // *J. Parasitol.* 1968. Vol. 54. P. 822–826.
75. **Rizk A.M., Abdel Kader M.M., Hashmat H.A. et al.** Sex steroids in bilharzial liver affection. I. Estrogens // *Acta biol. et med. germ.* 1980. N 8/9. P. 991–993.
76. **Roy T.K., Srivastava V.M.L.** // *Riv. parasitol.* 1981. N 2. P. 219–239.
77. **Schad G.A., Page M.R.** // *Exp. Parasitol.* 1981. Vol. 54, N 3. P. 303–309.
78. **Sen H.G., Deb B.N.** Effect of cortisone upon serial passage with the human hookworm *Necator americanus* in golden hamster, *Mesocricetus auratus* // *Ind. J. Med. Res.* 1973. Vol. 61, N 4. P. 486–494.
79. **Stewart G.L., Kramar G.W., Kramar M., Chamiga L.** // *J. Parasitol.* 1982. Vol. 68, N 5. P. 909–915.
80. **Swanson J.A., Falvo R., Bone L.W.** // *Intern. J. Parasitol.* 1984. Vol. 14, N 3. P. 241–247.
81. **Tada J.** The effect of worm burden and cortisone on the paragonimus infection in albino rats // *Jap. J. Parasitol.* 1967. Vol. 16, N 1.
82. **Tata J.R.** Hormonal regulation of growth and protein synthesis // *Nature* 1968. Vol. 219. P. 331.
83. **Vonderhaar B.K., Uh Hu Kim, Mueller G.C.** Receptors from rat uteri and their modification in vitro // *Biochim. et biophys. acta.* 1970. Vol. 215, N 1. P. 125.
84. **Vaug Chao, Zhang Fen, Zhang Xiaorong et al.** // *Дунъу сюэбао-Acta zool. sinica.* 1982. Vol. 28, N 1. P. 60–63.

СТЕРОИДОГЕНЕЗ У ГЕЛЬМИНТОВ

Н.Г. ГЕРАСИМОВА, З.К. ЛЕУТСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Изучение стероидогенеза у беспозвоночных животных, в том числе у гельминтов, начато сравнительно недавно, и наши знания относительно стероидов беспозвоночных животных значительно уступают сведениям, известным по этому вопросу для позвоночных.

Исследования по биохимии стероидов у гельминтов были начаты около 30 лет тому назад (27). Однако малые размеры многих гельминтов, низкое содержание у них стероидных веществ и вытекающие отсюда трудности получения в достаточных количествах исследуемого материала, особенно паразитических видов, для биохимических исследований привели к медленному развитию исследований в этом направлении. Это обстоятельство отчасти объясняет значительно меньшую изученность стероидных веществ у гельминтов по сравнению с другими беспозвоночными животными.

Первоначальные работы, посвященные изучению стероидов у гельминтов, ограничивались определением главным образом качественного состава стеролов у гельминтов и сравнением состава стеролов у хозяина и паразита (67, 36, 23, 61).

Среди стеролов у гельминтов обнаружен холестерин, ланостерин, ланостерин, 7-дегидрохолестерин, а также фитостеролы: ситостерол, стигмастерол, кампестерол, кампестанол.

Работами Гельминтологической лаборатории показано наличие холестерина и ряда стероидных гормонов у нематоды *Ascaris suum* и трематоды *Fasciola hepatica* (6, 4, 3, 1, 2). Принципиально важным в настоящее время является вопрос о возможности либо невозможности синтеза этих соединений в организме беспозвоночных вообще и у гельминтов в частности.

Практически до настоящего времени существовало определенное мнение, что большинство беспозвоночных животных, в том числе гельминты, не могут осуществлять синтез стероидов *de novo*. Однако в последние годы стали появляться работы, результаты которых опровергают это утверждение. Целью настоящей статьи являются анализ и обсуждение исследований, проведенных нами и другими авторами для решения вопроса о возможности синтеза стероидных веществ у гельминтов.

Биосинтез стероидов так же, как и терпеноидов, осуществлялся уже 2,5 млрд лет назад (11, 12). Однако пока нет доказательств, что способность синтезировать или метаболлизировать стероидные вещества присуща всем живым организмам. Вместе с тем было установлено, что при биосинтезе стероидов в самых разных организмах, способных синтезировать эти соединения, протекают одни и те же в своей последовательности основные реакции.

Сведения о биосинтезе стероидов у животных получены из экспериментов, проведенных главным образом на позвоночных животных. Установлен не только факт эндогенного образования в организме животных холестерина (наиболее распространенного стерола) и его предшественников, но благодаря применению изотопного метода исследований расшифрованы важнейшие этапы этого синтеза и выделены некоторые ферменты, участвующие в этом процессе.

У высших животных синтез холестерина из ацетата происходит через серию стадий в присутствии молекулярного кислорода (13). Важнейшими промежуточными соединениями биосинтеза холестерина являются мевалоновая кислота, фарнезол, сквален, ланостерин. В серии реакций, приводящих к образованию сквалена, молекулярный кислород не нужен. Превращение сквалена в холестерин зависит от четырех молекул кислорода. Первая молекула кислорода используется при циклизации трех метильных групп в ланостероле, предшествующем его декарбоксилированию и образованию холес-

терина. Любая помеха в доступности кислорода блокирует синтез. Каждая из этих стадий состоит из цепи ферментативных реакций, протекающих с участием различных кофакторов.

Рассмотренные этапы синтеза холестерина у животных являются характерными и для синтеза биологически активных стероидных соединений, таких, как половые и кортикостероидные гормоны, что свидетельствует об универсальности основных этапов биосинтеза стероидов у животных, растений и микроорганизмов.

Стерол-холестерин служит в организме предшественником многих чрезвычайно важных стероидных веществ, в частности стероидных гормонов (половых и кортикостероидных). Оказалось, что в организме животных холестерин предпочтительнее используется в качестве предшественника стероидных гормонов, чем ацетат. Например, процент превращения холестерина в кортикостероиды был в опытах в 60 раз большим, чем процент превращения ацетата в кортикостероиды (8). Однако возможность биосинтеза стероидных соединений из ацетата без стадии образования холестерина не исключается до настоящего времени. Принципиально не исключается возможность биосинтеза гормонов не из холестерина, а из других стеролов, например из β -ситостерола или из десмостерола, так как ферментативное расщепление боковой цепи этих стеролов достоверно установлено (38). Процессы гидроксирования занимают центральное место в трансформации холестерина в стероидные гормоны. Эти процессы происходят под действием ферментов гидроксилаз, которые катализируют введение кислорода в определенные положения молекулы стероидов. Гидроксилирующие энзимы связаны с микросомами и требуют НАДФ.

Важное значение холестерина для животного организма заключается также в том, что он является обязательным компонентом всех клеточных мембран и мембран клеточных структур и играет роль регулятора, обеспечивающего правильное агрегатное состояние липидной части мембраны (40, 47, 56). Отсюда становится понятным наличие холестерина у животных разных классов.

У большинства исследованных гельминтов холестерин был основным или преобладающим стеролом (9, 10, 23, 36, 61). Установлено важное значение этого стерола для обеспечения нормального роста, развития и репродуктивности гельминтов (14, 15, 16, 18, 22, 26, 66). Последнее может быть связано с использованием гельминтами холестерина в качестве исходного продукта для образования производных стероидных соединений, которые необходимы ему для жизнедеятельности.

Известно, что холестерин встречается в тканях животных как в свободном виде, так и в эстерифицированном, т.е. в виде эфиров с различными жирными кислотами (связанная форма). Установлено также, что именно свободная форма является активной стероидогенной и может быть использована организмом для образования других производных стероидов. Расщепление эфиров холестерина с образованием свободного холестерина осуществляется ферментом холестеринэстеразой. Этот процесс служит регулирующим фактором при всасывании холестерина в организме и, следовательно, принимает участие в обмене холестерина.

В тканях гельминтов холестерин также содержится в двух формах, причем для каждой ткани характерно определенное соотношение этих форм (6, 4). Исследование у гельминтов ферментной системы, гидролизующей эфиры холестерина, важно не только для понимания дальнейших путей утилизации холестерина в организме паразита, но представляет также определенный интерес при изучении возможности использования гельминтами холестерина в качестве специфического предшественника стероидных гормонов и других производных стероидов.

Проведенное нами исследование действия фермента холестеринэстеразы в разных тканях нематоды *A. suum* показало наличие активной формы этого фермента в кишечнике гельминта (4). Этот факт, а также сходство в строении кишечника нематод с кишечником млекопитающих (7, 45, 43) и способность клеток кишечного эпителия аскариды аккумулировать холестерин (19) свидетельствуют, что механизм утилизации экзогенного холестерина в кишечнике гельминта аналогичен процессу поглощения хо-

лестерина в кишечнике позвоночных животных. Кроме того, благодаря действию этого фермента организм гельминта обеспечивается активной формой холестерина, которая может служить предшественником для образования других производных стероидных веществ, в которых, возможно, нуждается паразит.

Однако, как уже было отмечено, проблема биосинтеза и метаболизма стероидных веществ, в частности холестерина, у беспозвоночных животных, в том числе и у гельминтов, изучена недостаточно, и имеющиеся по этому вопросу сведения отрывочны и часто противоречивы.

До недавнего времени господствовала точка зрения, что гельминты, как и многие другие беспозвоночные животные, не могут осуществлять синтез стероидов *de novo*. Это мнение основывалось на результатах работ, в которых не было обнаружено включения радиактивности в холестерин тканей гельминтов (*Spirometra mansonoides*, *Hymenolepis diminuta*, *Ascaris lumbricoides*, *Echinostoma revolutum*, *Echinococcus granulosus* и др.) при инкубации их с мечеными предшественниками биосинтеза стеролов (ацетатом или мевалонатом) (31, 32, 33, 34, 52, 53, 54, 9, 59), а также на результатах исследований, показавших, что для нормального роста, развития и размножения гельминтов (*Nippostrongylus brasiliensis*, *Turbatrix aceti*; *Panagrellus redivivus*, *Rhabditis manpasi* и др.) необходимо присутствие стеролов в среде их обитания (15, 18, 48, 39, 26).

Однако в последние годы стали появляться отдельные работы, выполненные на представителях разных классов беспозвоночных, в том числе на гельминтах, которые ставят под сомнение категоричность предыдущих выводов относительно отсутствия синтеза стероидов у этих животных. К настоящему времени имеется достаточное количество данных, свидетельствующих о возможности осуществления гельминтами если не полного синтеза стероидных соединений, то по крайней мере отдельных его этапов.

Способность гельминтов выполнять отдельные превращения стероидных соединений продемонстрирована в целом ряде работ. При изучении с помощью изотопного метода исследования способности протосколексов и выводковых капсул *Ech. granulosus* и цистицерков *Taenia hidatigena* синтезировать омыляемые и неомыляемые липиды было показано, что ни сквален, ни холестерин не синтезировались обоими гельминтами. Однако ацетат превращался личинками цестод в гидрооксиметилглутарат, мевалонат и фарнезол, которые известны как предшественники синтеза холестерина (33). Цестода *Hymenolepis diminuta* также способна синтезировать фарнезол и его изомеры (30, 34). Таким образом, в тканях гельминтов содержится фарнезол, обычный промежуточный продукт синтеза стеролов, который синтезируется ими из ацетата или мевалоната.

Одним из примеров метаболизма стеролов у гельминтов является превращение фитонематодами растительных стеролов в холестерин путем их деалкилирования (23, 63, 21). Свободно живущая нематода *Turbatrix aceti* также может образовывать холестерин путем деалкилирования боковой цепи β -ситостерола (24).

Способность метаболизировать разные стеролы хозяина вплоть до образования ланостерола установлена у нематоды *Steinernema feltiae*, паразитирующей у насекомых. Предполагается, что этот факт частично объясняет возможность паразитирования этих нематод у широкого круга хозяев (55).

Важным фактором, свидетельствующим о возможности стероидогенеза у гельминтов, является обнаружение у них ферментных систем, принимающих участие в этом процессе.

Непосредственное исследование ферментов стероидогенеза проводилось у бычьего цепня (57). В эпителиальном слое матки зрелых проглотид бычьего цепня была выявлена активность фермента 17 β -гидроксистероид-дегидрогеназы. Пока это единственная работа, проведенная на гельминтах. В ряде работ были получены косвенные доказательства наличия у гельминтов подобных ферментов. Так, у нематод *Panagrellus redivivus*, выращенных на искусственной среде, в составе которой отсутствовали стеролы, был обнаружен ланостерол — ключевой промежуточный продукт биосинтеза стероидов (72). Полученный результат позволяет предположить, что у данного гельминта имеется

по крайней мере часть ферментов биосинтеза стероидов. Бригг (17) показал, что гомогенаты трематод *Shistosoma mansoni* превращают холестерин и кортикостероидные гормоны (кортизол и преднизолон) в соответствующие метаболиты. Эта способность утрачивалась при добавлении в среду ингибиторов обмена стероидов, что также свидетельствует о наличии ферментов стероидогенеза у трематоды.

В последнее время появились работы, результаты которых непосредственно свидетельствуют о существовании у гельминтов биосинтетической способности в отношении стероидных веществ. Работами, проведенными в нашей лаборатории (5, 35), показана возможность стероидогенеза у нематоды *Ascaris suum* и трематоды *Fasciola hepatica*. С помощью метода меченых атомов было установлено, что эти гельминты могут осуществлять биосинтез содержащихся в их тканях кортикостероидов как *de novo*, т.е. используя в качестве исходного продукта синтеза ацетат, так и путем превращения стерола холестерина в кортикостероидные гормоны. Изучение кинетики процесса синтеза кортикостероидов у этих гельминтов показало, что интенсивность синтеза отдельных кортикостероидов у них различна.

Способность к синтезу сложных липидов, включая холестерин, была установлена у гельминтов *Dirofilaria immitis*, обитающих в сердце собаки (69). Показано, что холестерин и другие стероидные соединения могут синтезировать мермитиды. У шистозом установлено образование стероидов, связанных с формированием тегумента в процессе развития этих гельминтов (68).

В настоящее время получены положительные результаты в отношении биосинтеза стероидов у представителей разных классов беспозвоночных животных, в том числе у тех животных, для которых ранее синтез стероидов не был установлен. Например, первоначально отрицалась возможность синтеза стероидных веществ у моллюсков (29, 60). Однако последующими исследованиями было установлено, что моллюски могут синтезировать стероиды из ацетата и мевалоната, а также осуществлять различные превращения стеролов (70, 71, 25, 44, 49). У беспозвоночных животных разных классов обнаружены ферменты стероидогенеза (37, 41, 65, 64, 20, 51). Кроме того, есть все основания предполагать, что стероидогенез у беспозвоночных животных осуществляется путями, сходными с таковыми у позвоночных животных (50).

Таким образом, анализ изложенного материала свидетельствует о том, что вопрос о возможности стероидогенеза у беспозвоночных животных, в том числе у гельминтов, не может быть решен однозначно и требует пересмотра. Господствовавшее до настоящего времени мнение об отсутствии биосинтетической способности в отношении стероидов у большинства беспозвоночных животных, в том числе и у гельминтов, опровергнуто результатами, полученными в последние годы. Убедительным подтверждением этому является обнаружение у беспозвоночных животных ферментных систем, принимающих участие в стероидогенезе, а также непосредственное обнаружение синтеза стероидов по включению меченых предшественников в холестерин. Интересно отметить, что синтез стеролов был обнаружен у отдельных представителей простейших (62, 58, 42). Это свидетельствует о том, что уже на самых низших ступенях развития беспозвоночных животных происходит образование стероидных веществ. Следовательно, неспособность к синтезу стероидов у некоторых беспозвоночных животных не может быть обусловлена эволюционным фактором развития.

Маловероятно также, что метаболическая ограниченность к синтезу стероидов, выявленная у некоторых гельминтов, является результатом отсутствия генетической способности у этих животных к синтезу стеролов (28). В противном случае гельминты находились бы в полной зависимости от наличия в окружающей среде запасов жизненно важных для них стероидов.

Отсутствие *de novo* синтеза стероидов у отдельных представителей паразитических червей, по всей видимости, не является результатом адаптации этих беспозвоночных к паразитическому образу жизни, так как аналогичная метаболическая ограниченность установлена для некоторых представителей свободноживущих нематод (*Caenorhabditis briggsae*, *Turbatrix aceti*, *Panagrellus redivivus*) (59, 24, 48). Противоречивость

имеющихся в научной литературе данных по этому вопросу отчасти может быть связана с разными методическими уровнями проведенных исследований. Положительные результаты относительно биосинтеза стероидов у гельминтов и других беспозвоночных, появившиеся в последнее время, могут быть обусловлены применением более современных высокочувствительных методов исследований стероидов, а также комплексного использования разных методов для изучения стероидов у этих животных.

По всей видимости, гельминты, как и другие беспозвоночные животные, обладают способностью образовывать стероидные соединения, а также метаболизировать природные стеролы в необходимые для их жизнедеятельности формы. Однако возможно, что система биосинтеза стероидов у них действует непостоянно, а включается в стрессовых для гельминта ситуациях, обусловленных либо недостаточным поступлением стероидных веществ из окружающей среды, либо определенными взаимоотношениями с хозяином. Дальнейшее изучение стероидогенеза у гельминтов — представителей паразитических беспозвоночных — раскроет новые, еще неизвестные стороны взаимоотношений гельминта и хозяина и будет способствовать решению общей проблемы адаптации в системе паразит-хозяин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимова Н.Г. Количественное содержание кортизола и кортикостерона в тканях нематоды *Ascaris suum* // Материалы науч. конф. ВОГ. М., 1976. Вып. 28. С. 23–26.
2. Герасимова Н.Г. К вопросу об исследовании стероидов и стероидных гормонов у трематоды *Fasciola hepatica* // Мед. паразитология. 1980. № 5. С. 69–72.
3. Герасимова Н.Г., Леутская З.К. Исследование кортикостероидных гормонов у нематоды *Ascaris suum* // Паразитология. 1977. Т. 9. С. 321–324.
4. Леутская З.К., Герасимова Н.Г. Исследование холестеринэстеразной активности в тканях нематоды *Ascaris suum* // Тр. ГЕЛАН. 1974. Т. 24. С. 83–86.
5. Леутская З.К., Герасимова Н.Г. Стероиды нематод // Тр. ГЕЛАН СССР, 1978. Т. 28. С. 108–115.
6. Леутская З.К., Пискунова Л.В. Содержание фракций холестерина в тканях *Ascaris suum* // Тр. ГЕЛАН. 1973. Т. 23. с. 110–111.
7. Люсева Н.Г. Сравнительно-гистологическое изучение пищеварительного тракта некоторых паразитических нематод подотряда *Oxyurata* // Материалы науч. конф. ВОГ. М., 1971. Т. 22. С. 139–145.
8. Юдаев И.А., Афиногенова С.А., Булатов А.А. Биохимия гормонов и гормональная регуляция. М.: Наука, 1976. 162 с.
9. Barrett J., Cain G.D., Fairbairn D. Sterols in *Ascaris lumbricoides* (Nematoda), *Macracanthorhynchus hirudinaceus* and *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) and *Echinostoma revolutum* (Trematoda) // J. Parasitol. 1970. Vol 56. P. 1004–1008.
10. Beames C.G., Harris B.G., Happer F. The synthesis of fatty acid from acetate by intact tissue and muscle extract of *Ascaris lumbricoides suum* // Comp. Biochem. and Physiol. 1967. Vol 20. P. 509–521.
11. Bergmann W. Evolutionary aspects of sterols // Cholesterol Lond., 1958. 435 p.
12. Bergmann W. Sterols. Their structure and distribution // Comparative biochemistry / Ed. M. Florkin, S. Mason. N.Y., 1962. Vol 3. P. 103–162.
13. Bloch K. The biological synthesis of cholesterol // Science. 1965. Vol 150. P. 19–28.
14. Bolla R. Developmental nutrition of nematodes: The biochemical role of sterols, heme compounds and lysosomal enzymes // J. Nematol. 1979. Vol 11, N 3. P. 250–259.
15. Bolla R., Weinstein P., Lon C. In vitro nutritional requirements of *Nippostrongylus brasiliensis*. I. Effect of sterols, sterol derivatives and heme compounds on the free-living stages // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1972. Vol 43. P. 487–501.
16. Bottjer K.P. et al. Effects of ozasteroids on growth and development of the free-living stages of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Nematospiroides dubius* // Ibid. 1984. Vol 78, N 4. P. 805–811.
17. Briggs M.H. Metabolism of steroid hormones by schistosomes // Biochim. et biophys. acta. 1972. Vol 280. P. 481–485.
18. Brockelman S. et al. Amino acid, heme and sterol requirements of the nematode *Rabditis maupasi* // J. Parasitol. 1978. Vol 64, N 5. P. 803–809.
19. Calvin G., Beames C. et al. Movement of cholesterol and β -sitosterol across the intestine of *Ascaris suum* // Comp. Biochem. and Physiol. A. 1974. Vol 47. P. 881–888.
20. Caveny S., Drowsowsky M. Gonadal steroidogenesis in the cattle-fish (*Sepia officinalis*) // 7th conf. of Europ. comp. endocrinol. Budapest: Akad. Kiado, 1973. P. 26.
21. Chirwood D.J., Hutzell P.A., Lusby W.P. Sterol composition of corn cyst nematod, *Heterodera zea* and corn roots // J. Nematol. 1985. Vol 17. P. 64–68.

22. *Cole R.J., Dutky S.R.* A sterol requirements in *Turbatrix aceti* and *Panaqrellus redivivus* // *Ibid.* 1969. Vol 1. P. 72-75.
23. *Cole R.J., Krusberg L.R.* Sterol composition of the nematodes *Ditylenchus triformis* and *Ditylenchus dipsaci* and host tissue // *Exp. Parasitol.* 1967. Vol 21. P. 232-239.
24. *Cole R.J., Krusberg L.R.* Sterol metabolism in *turbatrix aceti* // *Lufe Sci.* 1968. Vol 7. P. 713-724.
25. *Collignon-Thiennot, Allais P., Barbier M.* Existence de deux voies de biosynthese du cholesterol chez un mollusque: la Patelle *Patella vulgata* L. (Gasteropode, Prosobranches, Archeogasteropodes) // *Biochimie.* 1973. Vol 55, N 5. P. 579-582.
26. *Dutky S.R., Robbins W.E., Thompson I.* The demonstration of sterols as requirements for the growth development and reproduction of the DD-136 nematode // *Nematologica.* 1967. Vol 13. P. 139-140.
27. *Fairbairn D.* Lipids of female reproductive organs in *Ascaris lumbricoides* // *Canad. J. Biochem. Physiol.* 1955. Vol 33. P. 31-37.
28. *Fairbairn D.* Biochemical adaptation and loss of genetic capacity in helminth parasites // *Biol. Rev.* 1970. Vol 45. P. 29-72.
29. *Fagerlund U.H.M., Idler D.K.* Marine sterols. IV. 24-dehydrocholesterol: Isolation from a barnacle and synthesis by the witting reaction // *J. Amer. Chem. Soc.* 1957. Vol 79. P. 6473-6475.
30. *Fioravanti C.F., MacInnis A.J.* The identification and characterization of a prenoud constituent (farnesol) of *Hymenolepis diminuta* (cestoda) // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1977. Vol 57. P. 227-233.
31. *Frayha G.J.* A study on the synthesis and absorption of cholesterol in hydatid cysts (*Echinococcus granulosus*) // *Ibid.* 1968. Vol 27, N 3. P. 875-878.
32. *Frayha G.J.* Comparative metabolism of acetate in the taniid tapeworms *Echinococcus granulosus*, *E. Multilocularis*, and *Taenia hydatigena* // *Ibid.* 1971. Vol 39. P. 167-170.
33. *Frayha G.J.* Synthesis of certain cholesterol precursors by hydatid protoscoleces of *Echinococcus granulosus* and cysticerci of *Taenia hydatigena* // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1974. Vol 49. P. 93-98.
34. *Frayha G.J., Fairbairn D.* Lipid metabolism in helminth parasites. VI. Synthesis of 2-cis, 6-trans farnesol by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1969. Vol 28. P. 1115-1124.
35. *Gerasimova N.G., Leutskaja Z.K.* On synthesis of steroids in helminths // *Helminthologia.* 1983. Vol. 20. P. 81-88.
36. *Ginger C.D., Fairbairn D.* Lipid metabolism in helminth parasites. II. The major origins of the lipids of *Himenolepis diminuta* (Cestoda) // *J. Parasitol.* 1966. Vol 52. P. 1097-1107.
37. *Gilgan M.W., Idler D.* The conversion of androstendione to testosterone by some lobster (*Homarus americanus* Milne Edwards) tissues // *Gen. and Comp. Endocrinol.* 1967. Vol 9. P. 319-324.
38. *Gupta K., Karavolas H.* Adrenal steroid biosynthesis from 4-¹⁴C-cholesterol (in vitro) during phenobarbitol block of PMS-induced ovulation in immature rats // *Endocrinology.* 1973. Vol 92. P. 1200-1207.
39. *Hieb W.F., Rothstein M.* Sterol requirement for reproduction of a free-living nematode // *Science.* 1968. Vol 160. P. 778-780.
40. *Hingson D.J., Diamond J.M.* Цит. по: Действие физиологических соединений на биологические мембраны. М.: Наука, 1974. С. 40-56.
41. *Idler D., Sangalang G., Karazawa A.* Steroid dismutase of a marine invertebrate, *Placopecten magellanicus* Gmelin // *Gen. and Comp. Endocrinol.* 1969. Vol 12. P. 222-230.
42. *Jardim de Moraes et al.* Synthesis of sterols in *Herpetomonas samuelpessoai*: Influence of growth conditions // *J. Protozool.* 1980. Vol 27, N 2. P. 238-241.
43. *Jenkins T., Frasmus D.* The ultrastructure of the interstitial epithelium of *Metastrongylus* sp. (Nematoda: Strongyloidea) // *Parasitology.* 1969. Vol 59, N 2. P. 335-342.
44. *Khalil M., Idler D.* Steroid biosynthesis in the whelk *Buccinum undatum* // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1976. Vol 55. P. 239-242.
45. *Lee D.L.* Moulting // *The physiology of nematodes.* N.Y., 1965. P. 89-93.
46. *Lee C.C.* *Ancylostoma caninum*: Fine structure of intestinal epithelium // *Exp. Parasitol.* 1969. Vol 24, N 3. P. 336-347.
47. *Lee E.J., Gullik-Krzywicki T.* Origin of plustids and the phulogeng of algae // *Nature. New Biol.* 1972. Vol 237. P. 45-50.
48. *Zu N., Newton C.* Stokstad of sterol and various sterol precursors in free-living nematodes // *Nematologica.* 1977. Vol 23. P. 57-61.
49. *Lupo di Prisco et al.* Identification and biosynthesis of steroids in the marine mollusc *Aplysia depilans* // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1973. Vol 45. P. 303-310.
50. *Lupo di Prisco, Dessi Fulgheri F.* Alternative pathways of steroids biosynthesis in gonads and hepatopancreas of *Aplysia depilans* // *Ibid.* 1975. Vol 50. P. 191-195.
51. *Majumdar A., Medda A.* Histochemical demonstration of Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the female reproductive system of cockroach (*Periplaneta americana*) // *Sci. Cult.* 1981. Vol 47, N 3. P. 110-112.
52. *Meyer F., Kimura S., Mueller J.F.* Lipid metabolism in the larval and adult from the tapeworm *Spirometra mansonioides* // *J. Biol. Chem.* 1966. Vol 241. P. 18-21.
53. *Meyer F., Meyer H.* Loss of fatty acid biosynthesis in flatworms // *Comparative biochemistry of parasites* / Ed. H. van den Bossche. N.Y.; L.: Acad. press, 1972. P. 383-394.

54. Meyer F., Meyer H., Bueding E. Lipid metabolism in the parasitic and free-living flatworms, *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala* // *Biochim. et biophys. acta*. 1970. Vol. 210, N 2. P. 257-266.
55. Morrison A. Effect of host insect sterols on the development and sterol composition of *Steinernema feltiae* // *Mol. and Biochem. Parasitol* 1986. Vol. 19, N 2. P. 135-142.
56. Oldfield E., Chapman D. Deuteron resonance: A woven approach to the study of hydrocarbon chain mobility in membrane systems // *FEBS Lett*. 1971. Vol. 16. P. 102-114.
57. Pierovantoni R. Ricerca delle steroide-deidrogenase nei plattelminti. II. *Taenia saginata* // *Atti Soc. pelorit. sci. fis., mat. e natur.* 1978. Vol. 24, N 2. P. 21-23.
58. Rotman J., Heywoth P.G., Gutteridge N.E. Lipid synthesis by *Trichomonas vaginalis* // *Ann. Trop. Med. and Parasitol* 1978. Vol. 72. P. 583-585.
59. Rothstein M. Lack of sterol biosynthesis in free-living nematodes // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1968. Vol. 27. P. 309-317.
60. Salague A. Sur la biosynthese des sterols de l'huître (*ostrea gruphea*) et de l'oursin (*Paracentrotus lividus*) // *Ibid.* 1966. Vol. 19. P. 45-51.
61. Smith T.M., Brooks T.J. Lipid fractions in adult *Schistosoma mansoni* // *Parasitology*. 1969. Vol. 59, N 2. P. 293-298.
62. Smith N.C. et al. *Plasmodium lophurae*: Quantitative in vitro incorporation of ^{14}C -acetate into lipids // *Exp. Parasitol* 1977. Vol. 37, N 2. P. 193-204.
63. Svoboda J.A., Rebers R.V. Sterol composition of *Rotylenchulus reniformis* and its host plant cotton // *J. Nematol* 1977. Vol. 9, N 4. P. 286.
64. Teshima S., Kawazawa A. Bioconversion of progesterone by the ovaries of crab, *Portunus trituberculatus* // *Gen. and Comp. Endocrinol* 1971. Vol. 17. P. 152-157.
65. Tcholakian R.K., Eik-Nes K. Conversion of progesterone by the androgenic gland of the blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun) // *Ibid.* 1969. Vol. 12. P. 171-173.
66. Thompson S.N. *Brachymeria lasus* and *Pachycrepoideus vindemiae*: Sterol requirements during larval growth of two hymenopterous insect parasites reared in vitro on chemically defined media // *Exp. Parasitol* 1981. Vol. 51. P. 220-235.
67. Thompson M.J., Moselting E., Brand T. van. Unsaponifiable lipids of *Taenia taeniaeformis* and *Moniezia expansa* // *Ibid.* 1960. Vol. 9. P. 127-130.
68. Torpier C., Hirn M., Nirde P. et al. Detection of ecdysteroids in the human trematode *Schistosoma mansoni* // *Parasitology*. 1982. Vol. 84. P. 123-130.
69. Turner A., Hutchison W. Lipid synthesis in adult dog heartworm, *Dirofilaria immitis* // *Comp. Biochem. and Physiol. B*. 1979. Vol. 64. P. 403-405.
70. Van der Horst D.J. Investigation of the synthesis and distribution of fatty acids in the lipids of the snail *Cepaea nemoralis* (L.): The fatty acid composition of the total lipids // *Netherl. J. Zool* 1970. Vol. 20. P. 433-444.
71. Voogt P.A. // *Chemical zoology*. N.Y.: Acad. press., 1972. Vol. 6. P. 245-300.
72. Willett J.D., Downey W.L. Isolation and identification of lanosterol as a normal constituent of the lipids of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1973. Vol. 46. P. 139-142.

УДК 576.895:1.74.577

АЛИФАТИЧЕСКИЕ АМИНЫ И ИХ РОЛЬ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ПАРАЗИТА И ХОЗЯИНА

Е.А. ДРЮЧЕНКО

Лаборатория гельминтологии АН СССР

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме взаимоотношений в системе паразит-хозяин, которая включает вопросы патогенеза и защитных реакций организма. Патогенность гельминтов может быть связана с особенностями их обмена, секретацией ферментов, вызывающих деструкцию клеточных мембран, с выделением в среду паразитирования биологически активных соединений, влияющих на метаболические процессы хозяина. Алифатические амины, продуцируемые и выделяемые гельминтами в среду обитания, обладая определенными токсическими свойствами, могут быть отнесены к одному из факторов, определяющих взаимоотношения гельминта и хозяина. Эти соединения оказывают влияние на физико-химические показатели среды, на обменные процессы хозяина, а также могут быть одной из причин изменения проницаемос-

ти клеточных мембран, развития воспалительных и аллергических реакций при гельминтозах.

Впервые о содержании алифатических аминов с короткой углеродной цепью ($C_1 - C_7$) в составе секреторно-экскреторных продуктов гельминтов стало известно из работы Ванштейна и Хаскинса (52). Исследователи, изучая функцию экскреторной системы *Nippostrongylus muris*, обнаружили эти соединения в составе преципитата, образованного вокруг экскреторной поры гельминтов, помещенных в сыворотку иммунных животных. Качественный анализ состава фракций алифатических аминов показал наличие метил-, этанол-, изобутил-, н-бутиламина, двух диаминов-кадаверина и этилендиамина, одного неизвестного амина и наличие смеси неидентифицированных моноаминов. Необходимо подчеркнуть, что в среде инкубации гельминтов были обнаружены только первичные амины. Авторы убедительно доказали, что эти соединения являются продуктами жизнедеятельности гельминтов и их образование не связано с наличием бактериальной флоры кишечника хозяина. Так, гельминтов перед инкубацией промывали в стерильном солевом растворе, в растворе азохлормеланина, в растворе антибиотика. При проверке гипотезы бактериального происхождения аминов было проведено исследование состава инкубатов *Escherichia coli*, *Alcaligenes faecalis*, и *Proteus* sp., т.е. типичных представителей кишечной флоры. Результаты этих экспериментов позволили Ванштейну и Хаскину прийти к выводу, что амины, найденные в среде содержания, являются секреторно-секреторными продуктами гельминтов. Эти же авторы (34, 35) провели исследование инкубационной среды, в которой находились личиночные формы *Trichinella spiralis* и *Ascaris lumbricoides*. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что гельминты выделяют алифатические амины. Качественный анализ среды содержания личинок трихинелл показал наличие метил-, этил-, пропил-, бутил-, амил-, гептиламина. Были определены два диамина — кадаверин и этилендиамин, два гидроксиамины — этаноламин и 1-амино-2-пропанол, один непредельный углеводород-аллиламин (аминопропилен). В среде, в которой находились личинки аскаридий, были обнаружены те же амины, за исключением амил-, гептиламина и этилендиамина. Анализ яйцевой жидкости аскарид показал полную идентичность составу смеси аминов среды содержания личинок. Также амины были обнаружены в секреторно-экскреторных продуктах личиночных форм плоских червей *Taenia taeniarformis* (33). Авторы этого исследования представили сравнительные данные количественного анализа аминов в среде инкубации личинок цестод и личинок трихинелл. По их данным, личинки нематод выделяют в среду обитания в 28 раз больше аминсодержащих продуктов по сравнению с личиночными формами цестод. У нематод амины составляют 7,4% от общего белка и у цестод 15%.

Позднее было показано, что алифатические амины с короткой углеродной цепочкой выделяются не только личиночными, но и взрослыми формами гельминтов (24). В этих исследованиях для идентификации аминов были применены более совершенные методы по сравнению с методом бумажной хроматографии, которым пользовались другие исследователи. Это методы тонкослойной и газожидкостной хроматографии, позволившие авторам расшифровать ряд аминов. В экспериментах, проведенных на *T. spiralis*, было установлено, что взрослые гельминты выделяют в среду инкубации в 3 раза больше аминного азота по сравнению с личинками. Среди секреторно-экскреторных продуктов как взрослых, так и личиночных форм трихинелл были найдены следующие амины: метил-, этил-, н-пропил-, н-бутил-, н-гексил-, н-гептиламин, два диамина этилендиамин (коламин) и 1,5-пептандиамин (кадаверин). В среде содержания нематод также были найдены сек-бутиламин (2-аминобутан), моноэтанол-амин и непредельный углеводород-аминопропилен.

В таблице представлены обобщенные данные о составе аминов, обнаруженных в секреторно-экскреторных продуктах всех исследованных гельминтов.

Необходимо отметить, что для идентификации первичных, вторичных, третичных и циклических аминов, а также непредельных соединений исследователи использовали групповые специфические реактивы. Это позволило сделать определенный вывод,

**Алифатические амины, экскретируемые личинками
A. lumbricoides, Trichinella spiralis, Nippostrongylus muris, T. taeniaeformis**

Амины	Формула	Haskins, Weinstein, 1955, 1957			Castro et al, 1973	Haskins, Oliver, 1958
		Среда — 0,7% NaCl			Среда — раствор Рингера	Среда — Рингер—Тирода без глюкозы
		A. lumbricoides	N. muris	T. spiralis	T. spiralis	T. taeniaeformis
Метиламин	CH_3-NH_2	+	+	+	+	+
Этиламин	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	+		+	+	+
Пропиламин	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_1-\text{NH}_2$	+	+	+	+	
Бутиламин	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$	+	+	+	+	+
Аминопептан	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$			+	+	
Гексиламин	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$			+	+	
Гептиламин	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2$			+	+	
Аминопропилен (аллиламин)	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	+		+		
Этилендиамина	$\text{NH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{NH}_2$		+	+	+	+
1,5-пентадиамина (кадаверин)	$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$	+	+	+	+	+
Этаноламин (коламин)	$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{OH}$	+	+	+	+	
1-амино-2-пропанол	$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_3-\text{OH}$	+		+		+
Изопропиламин	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{NH}_2$				+	
Изобутиламин	$(\text{CH}_3)_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$		+		+	
2-аминобутан	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-\text{NH}_2-\text{CH}_3$				+	
Неидентифицированные амины		+	+	+	+	+

что гельминты не выделяют в среду вторичных, третичных и циклических аминов. Вторичные и третичные амины были найдены только в инкубатах фитогельминтов (45). Ни один из исследователей не нашел в среде содержания гельминтов таких аминов, как гистамин, тирамин, триптамин или фенилэтиламин, несмотря на то, что эти соединения синтезируются в тканях гельминтов (3, 25, 26, 36).

Как видно из изложенного, алифатические амины, найденные в секреторно-экскреторных продуктах гельминтов, являются продуктами их жизнедеятельности, а не бактериальных форм, и результаты экспериментов, проведенных всеми авторами, свидетельствуют о том, что появление аминов в среде не является результатом разложения тканей гельминтов при их гибели.

Физиологическая роль выделения аминов сегодня остается неясной. Высказывается ряд предположений. Так, Ванштейн и Хаскин (52) считают, что амины и особенно диамины участвуют в синтезе полимерных соединений с хинонами, найденными в преципитате вокруг экскреторной поры, и подтверждают этот вывод экспериментально. Поскольку авторы наблюдали это явление при инкубации гельминтов в сыворотке иммунных животных, то в этом случае может происходить частичное связывание антител.

В работе Хаскина и Оливье (34) высказывается предположение, что выделение этих соединений может играть определенную роль в осуществлении функции осморегуляции. Отмечалось, что в составе яичевой жидкости нематод содержатся те же амины, что и в секреторно-экскреторных продуктах гельминтов. Вполне возможно, что вы-

деление аминов играет роль в процессе повышения осмотического давления внутри яйца в период вылупления личинки. Так, в работе, посвященной изучению механизма выхода личинок нематод из яйца на примере *Necator americanus* (27), было показано, что решающую роль в этом процессе играет изменение осмотического давления внутри яйца.

Существует точка зрения (24), что секрецию аминов необходимо рассматривать с точки зрения становления паразит-хозяинных отношений. Известно, что большинство гельминтозов сопровождается развитием воспалительной реакции и изгнание, приживаемость гельминтов тесно связаны с этим процессом. Это положение нашло подтверждение в целом ряде работ (20, 21, 37, 38, 49, 50). По мнению Кастро и его соавт. (24), локальные физико-химические изменения, резкое повышение концентрации водородных ионов при воспалительных реакциях в тканях хозяина делают эту среду не пригодной для выживания гельминтов и экскреция аминов является ответом паразита на эти изменения. Действительно, водные растворы аминов являются сильными основаниями и могут оказывать влияние на кислотность среды. Также в одной из работ (46) было показано, что в желудке поросят, зараженных личинками *Hyostrogylus rubidus*, наблюдается значительное снижение кислотности. Так, в опытах *in vivo* было показано изменение pH в одном случае от 4,5 в контроле до 6 в опыте и во втором — от 5 до 7,5. Незначительное снижение кислотности было отмечено при заражении ягнят *Ostertagia circumcincta* (28).

Однако нет неоспоримых данных, подтверждающих гипотезу об адаптивном характере выделения аминов в ответ на закисление среды, наблюдаемое при воспалительных реакциях. Более того, это предположение не согласуется с результатами работ, полученными Меттриком, который показал, что у инвазированных животных по сравнению с контрольными происходит не снижение, а повышение кислотности среды. Так, в кишечнике крыс, зараженных цистицеркоидами *H. diminuta*, имеет место значительное закисление среды, при этом кислотность варьирует от pH 5,17 до pH 6,95 (40). Эти данные были подтверждены в экспериментах, проведенных со скребнями *Moniliformis dubius* (41), результаты которых показали значительное снижение pH в кишечнике инвазированных животных. Известно, что величина pH в кишечнике составляет 7,2—7,5 и может достигать 8,6 при интенсивной секреции кишечного сока и в толстом кишечнике — до 9. Существует мнение, что гельминты, в частности *H. diminuta*, способны регулировать кислотность среды обитания, сохраняя ее на уровне pH 5 (47), и в этом случае амины могут играть определенную роль.

Известно, что гельминты способны подавлять активность протеолитических ферментов хозяина. И в связи с этим необходимо отметить, что ряд аминов, найденных в секреторно-экскреторных продуктах гельминтов, являются конкурентными ингибиторами протеиназ хозяина. Эффективность действия резко возрастает с увеличением длины углеродной цепи вплоть до бутиламина. Так, коэффициент ингибирования трипсина (K_i mM) составляет для метиламина — 40, этиламина — 38, пропиламина — 6,1, н-бутиламина — 1,3 и гексиламина — 7,2 (17). Трипсин занимает ключевое положение в системе активации таких зимогенов, как химотрипсиноген А, В и С, прокалбопептидаза А и В и фосфолипаза. И поэтому выделение аминов может в какой-то мере защищать гельминтов от воздействия ферментов хозяина.

Как видно из изложенного, нет однозначного ответа на вопрос о физиологической роли экскреции аминов гельминтами. Вполне возможно, что на разных этапах развития амины могут играть различную роль, принимая участие в осуществлении механизма вылупления личинок нематод из яйца, а также являясь неспецифическим фактором защиты гельминтов.

Однако бесспорно, что экскреция аминов в среду паразитирования вызывает изменения ее физико-химических показателей и может быть причиной ряда патологических сдвигов, наблюдаемых при гельминтозах, поскольку амины, обладая биологической активностью, при определенных концентрациях могут проявлять токсические свойства. Так, при острой интоксикации алифатическими аминами наблюдает-

ся поражение ЦНС, сердечной мышцы, повышение проницаемости стенок сосудов, накопление в тканях серотонина и гистамина, возникновение и развитие воспалительных процессов.

Исследователи, изучавшие зависимость биологической активности аминов от их химического строения, установили, что проявление общетоксического действия увеличивается в ряду $C_3 \rightarrow C_{10}$, т.е. возрастает с увеличением длины углеродной цепочки.

Наиболее ярко выражены общетоксические свойства у непредельных соединений и изомеров алифатических аминов, в то время как наиболее сильное местное раздражающее действие характерно для аминов с короткой углеродной цепью.

Как видно из таблицы, гельминты выделяют алифатические амины, имеющие длину углеродной цепочки от 1 до 7 атомов углерода, среди которых присутствуют непредельные и изомерные соединения и диамины.

Основной путь детоксикации аминов в организме животных — это путь окислительного дезаминирования. Моноаминоксидаза (МАО) (1.4.3.4.) окисляет моноамины, имеющие длину углеродной цепи $C_n > 2$ углеродных атомов и диамины с числом $C_n > 6$ (11). Такие амины, как метиламин и этиламин, практически не окисляются этим ферментом (16). В.З. Горкин (10) приводит данные о том, что интенсивность окислительного дезаминирования таких аминов, как метиламин, этиламин, гексилламин и гептиламин в почках быка не превышает 7%, окисляемость этаноламина в сыроворотке крови составляет 21% и изопропиламина в печени быка 19,2. По данным других авторов, непредельные и изомерные соединения не подвергаются окислительному дезаминированию (6, 7, 8, 15). Субстратами для диаминоксидазы (ДАО) (1.4.3.6.) являются диамины с длиной цепочки от 2 до 10 атомов, оптимум действия находится около $C_n = 5$. Необходимо отметить, что диамины оказывают ингибирующее действие на МАО.

Таким образом, можно констатировать, что ряд аминов, найденных в секреторно-экскреторных продуктах гельминтов, не подвергаются окислительному дезаминированию или дезаминируются очень слабо, способны аккумулироваться тканями хозяина и оказывают ингибирующее действие на МАО. МАО — ключевой фермент, обеспечивающий регуляцию уровня биологически активных аминов, таких, как триптамин, серотонин, адреналин, гистамин и др.

В ряду алифатических аминов, обладающих токсическими свойствами, выделяются непредельные и изомерные соединения и особенно обращает на себя внимание аллил-амин, который обладает способностью вызывать воспалительные и дистрофические изменения в миокарде, ингибировать МАО головного мозга и печени, в результате чего в этих тканях происходит повышение уровня ряда биологически активных аминов. Так, было показано, что при введении животным 0,1 летальной дозы этого амина (3,7 мг на 1 кг веса животного) через 25 мин наблюдается понижение активности МАО на 25% в тканях мозга. Через тот же промежуток времени при введении полной дозы отмечается ингибирование фермента на 46% и увеличение содержания серотонина на 17,4%. При однократном введении летальной дозы в тканях печени этот амин вызывает ингибирование фермента на 50% через 25 мин и через 2 ч на 70%. Восстановление активности происходило очень медленно. Через 6 ч после введения амина было отмечено восстановление активности МАО только до 52%. Исследователи отмечали, что при отравлении этим амином, помимо дистрофических изменений в миокарде и воспалительных процессов, имело место значительное повышение проницаемости стенок сосудов. Явление острой сердечно-сосудистой недостаточности было отмечено при отравлении монометиламином. Пороговая концентрация, установленная для кролика, составляет 200 мкг/дм³. При дозе 130 мкг/дм³ наблюдается замедление дыхания, при дозе 5–10 мкг/дм³ и вдыхании в течение 40 мин — поражение ЦНС (5, 6, 7, 8). Отмечается активизирующее влияние метиламина на холинэстеразу крови (19). Для ряда аминов были определены пороговые концентрации. Так, для н-пропиламина — 10, изопропиламина — 5 мкг/дм³ (9). Клиника острого отравления аминами

при пероральном и ингаляционном воздействиях очень сходна, только в одном случае поражается кишечник, в другом — дыхательные пути (16).

Мы рассматривали действия моноаминов. Необходимо остановиться на свойствах диаминов, найденных в составе секреторно-эксcretорных продуктов гельминта. Этилендиамин у человека при концентрации 480 мкг/дм^3 вызывает раздражение, дерматозы, в основе которых лежат как непосредственное раздражение, так и аллергическое проявление. Допустимая доза амина 2 мкг/дм^3 (9). Причем необходимо отметить, что это соединение не окисляется диаминооксидазой и обладает раздражающим действием на кожу. При отравлении амином имеет место отечность, синдром поражения нервной системы (4). Кадаверин, найденный в инкубатах гельминтов, также может быть одной из причин изменения проницаемости кишечной стенки и развития воспалительных процессов. В эксперименте было показано, что при введении морским свинкам $7,5\text{--}10 \text{ мг}$ кадаверина наблюдается увеличение проницаемости кишечной стенки; у 60% — синька Эвана, введенная внутривенно, была обнаружена в кишечной стенке. Скорость просачивания краски увеличивалась у 50% животных на 37,5%. На гистологических срезах кишечника был обнаружен кровянистый экссудат, слизистая оболочка обнажена, а на некоторых препаратах отсутствовала полностью (48).

Известно, что в патогенезе гельминтозов доминирующую роль играют процессы, опосредованные организмом хозяина, прежде всего токсико-аллергические реакции. Амины, выделяемые гельминтами, могут играть определенную роль в развитии этих процессов. Адо (1) приводит данные о том, что моноамины, имеющие структурную формулу $\text{NH}_2\text{--}(\text{CH}_2)_n\text{--CH}_3$ $n = 2 \rightarrow 12$ и диамины $\text{NH}_2\text{--}(\text{CH}_2)_n\text{--NH}_2$ $n = 2 \rightarrow 16$ относятся к низкомолекулярным веществам — либераторам гистамина и серотонина и могут играть определенную роль в повышении проницаемости и развитии анафилаксии. Увеличение проницаемости слизистой кишечника хозяина было показано при заражении крыс *N. brasiliensis* (44). Автор считает, что это повышение является функцией механического или токсического повреждения кишечного эпителия, а также действия метаболитов паразита и не зависит от увеличения популяции тучных клеток. Однако ранее Мюррей (44), показав в эксперименте резкое увеличение проницаемости при этом же заражении, пришел к выводу, что оно синхронизировано с ростом числа тучных клеток, т.е. связано с развитием иммунологического процесса. Скорее всего, эти процессы взаимосвязаны, и амины, выделяемые гельминтами, могут оказывать определенное влияние на развитие иммунологического процесса при гельминтозах, оказывая влияние на выход вазоактивных аминов из тучных клеток.

В литературе не много сведений о количестве аминов, выделяемых гельминтами в среду содержания. Известно, что личинки цестод *T. taeniaeformis* за 24 ч выделяют 60 мкг аминов в расчете на 1 г сырой ткани, а личинки *T. spiralis* 1036 мкг/г сырого веса (33). По другим данным, личинки *T. spiralis* экскретируют $85 \pm 8 \text{ мкг/мг}$ сухого веса, половозрелые нематоды выделяют в 3,5 раза больше аминов — $256 \pm 41 \text{ мкг/мг}$ сухого веса гельминтов (24). Установлено, что *A. lumbricoides* могут выделять в среду инкубации $0,54 \text{ мкМ}$ кадаверина, или 55 мкг , в расчете на 1 г сырого веса червя (39). Необходимо отметить, что эта величина составляет 80% от лизина, поглощенного гельминтом, и поэтому будет зависеть от содержания аминокислоты в среде. По данным этих авторов, максимальная активность лизиндекарбоксилазы, гомогенатов *A. lumbricoides* составляет $0,28 \text{ мкМ}$, или $28,6 \text{ мкг/г}$ сырого веса червя *Moniezia expansa*, в среднем $0,2 \text{ мкМ}$, или $20,4 \text{ мкг/г}$ сырого веса. По нашим данным, *A. suum* могут поглощать за сутки из среды, имитирующей белок казеина, 56 мкМ/г , или $5,7 \text{ мг/г}$ сырого веса лизина, более того, *A. galli* могут поглощать 90 мкМ/г сырого веса, или $9,2 \text{ мкг/г}$ сырого веса. Активность фермента, выделенного из гомогенатов *A. galli*, составляет $16,8$, *Fasciola hepatica* — $16,85$ и *A. suum* — $11,5 \text{ мкг/мг}$ белка (2, 12, 13, 14). Накопление кадаверина в крови отмечено при шистозоматозе, причем авторы считают, что это характерно только для гельминтоза (23).

Таким образом, в среде паразитирования гельминтов может появляться значительное количество аминов, и при значительной интенсивности инвазии эти соединения мо-

гут оказывать влияние на обменные процессы хозяина. Известно, что при гельминтозах наблюдается повышение концентрации гистамина в тканях хозяина. Также имеются данные о том, что заражение вызывает повышение серотонина и ацетилхолина в тканях хозяина. При аскаридозе у детей наблюдается повышение серотонина в крови (29). В эксперименте с *N. brasiliensis* также показано повышение этого биологически активного амина (30). При имплантировании в брюшную полость крыс живых фасциол, помещенных в мелкоячеистый нейлоновый мешок, также отмечено повышение уровня серотонина (31). Необходимо отметить, что возрастание уровня этого амина в среде вызывает увеличение всасывания глюкозы самими гельминтами (42, 32). Имеются сведения о том, что пероральное введение гистамина и серотонина хозяину стимулирует поглощение родомина — *Trichostrongylus columbriformis* (22).

Изменение концентрации биологически активных аминов может быть причиной изменения проницаемости мембран, моторики гладкой мускулатуры кишечника и ряд других нарушений.

А.В. Покровский (18), разбирая вопрос о биохимической адаптации при воздействии на организм токсических факторов малой интенсивности, отмечал, что они, не вызывая выраженных и характерных патологических нарушений, могут обуславливать нарушение общего состояния. Видимо, выделение гельминтами аминов в среду паразитирования можно, с одной стороны, отнести к факторам малой интенсивности, участвующих и играющих определенную роль в развитии патологического процесса при гельминтозах. С другой стороны, изменение проницаемости кишечной стенки при заражении может играть положительную роль в обеспечении гельминта питательными веществами в период роста и активной половой продукции, а в ранний период развития обеспечивать наряду с другими соединениями изменение осмотического давления в яйце, облегчающего выход личинки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д. Общая аллергология. М.: Медицина, 1978.
2. Бердыева Г.Т., Дрюченко Е.А. Потребление А. змт ряда аминокислот из полноценных и неполноценных смесей аминокислот // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. 1972. Т. 3. С. 28–31.
3. Бердыева Г.Т., Дрюченко Е.А. Обмен гистидина у *Ascaris змт*, *Ascaridia galli* и *Fasciola Hepatica* // Паразитология. 1975. Т. 9, № 1. С. 28–30.
4. Бикбулатов Л.И., Сабирова З.Ф., Беломытцева Л.А. К вопросу о токсичности и сенсibiliзирующих свойствах аминов жирного ряда // Гигиена труда и заболеваемость в нефтяной и нефтехимической промышленности. Уфа, 1976. С. 130–134.
5. Валиев А.Г. К механизму действия алифатических аминов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1967.
6. Валиев А.Г. Влияние некоторых алифатических аминов на активность моноаминоксидазы крыс // Фармакология и токсикология. 1968. Т. 31. С. 238–239.
7. Валиев А.Г. К вопросу о катаболизме биогенных аминов при отравлении некоторыми алкиламидами // Науч. конф. по вопросам биохимии, посвящ. 50-летию Башк. АССР: Тез. докл. Уфа, 1969. С. 55–56.
8. Валиев А.Г. К метаболизму биогенных аминов при интоксикации алкиламидами // Вопр. биохимии и иммунологии человека и животных. Уфа, 1974. С. 33–37.
9. Гадаскина А.В. Аминсоединения жирного ряда // Вредные вещества в промышленности. 1965. Вып. 2. С. 521–532.
10. Горкин В.З. Аминоксидазы и их значение в медицине. М.: Медицина, 1981.
11. Диксон, Узбб. Ферменты. М.: Изд-во иностр. лит., 1961. 296 с.
12. Дрюченко Е.А. Образование кадаверина у гельминтов // 3-й Международ. симпоз. по гельминтологии: Тез. докл. Кошице, ЧССР, 1982.
13. Дрюченко Е.А., Бердыева Г.Т. Потребление нематодами некоторых аминокислот из гидролизата казеина // Паразитология. 1972. № 4. С. 356–359.
14. Дрюченко Е.А., Куликова М.Н. Кадаверин и его возможная роль во взаимоотношениях паразита и хозяина // Паразитология. 1984. № 4. С. 291–294.
15. Кулагина Н.К. Зависимость биологической активности алифатических аминов от химического строения и физико-химических свойств // Токсикология новых пром. хим. веществ. 1975. Вып. 14. С. 80–94.
16. Лойт А.О., Филов В.А. О токсичности алифатических аминов и изменении ее в гомологических рядах // Гигиена труда и проф. заболевания. 1964. № 12. С. 23–28.

17. Майстер А. Биохимия аминокислот. М.: Изд-во иностр. лит., 1961. 194 с.
18. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. М.: Наука, 1971. 63 с.
19. Покровский В.А. К вопросу о биохимической адаптации при воздействии на организм токсических факторов малой интенсивности // Проблемы биохимической адаптации. М., 1965. С. 35–36.
20. Ткачев П.Г., Косибород Н.Р., Наволина Т.И. и др. Влияние выбросов производства алифатических аминов на биохимические показатели крови и мочи у детей // Гигиена и санитария. 1967. № 3. С. 103–105.
21. Askenase Ph.W. Immune inflammatory responses to parasites: The role of basophils, mast cells and vasoactive amines // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1977. Vol. 26, N 6, pt 2. P. 96–102. Discuss.: p. 102–103.
22. Bloch E.H. Inflammation in Schistosomiasis // Publ. anat. 1979. N 17. P. 105–114.
23. Bone L.W., Bottjer K.P. Stimulation of ingestion in *Trichostrongylus colubriformis* (Nematoda) // Proc. Helminthol. Soc. Wash. 1985. Vol. 52, N 1. P. 80–84.
24. Brooks J.B., Basta M.T., Holler J.S. et al. Frequency-pulsed electron-capture gas-liquid chromatographic studies of chemical changes in sera of patients with schistosomiasis // J. Chromatogr. Biomed. Appl. 1985. Vol. 339, N 2. P. 243–251.
25. Castro G.A., Ferguson J.D., Gorden C.W. Amine excretion in excysted larval and adults of *Trichinella spiralis* // Comp. Biochem. and Physiol. A. 1973. Vol. 45. P. 819–828.
26. Catto B.A. *Schistosoma mansoni*: Decarboxylation of 5-hydroxytryptophan, L-dopa, and L-histidine in adult and larval schistosomes // Exp. Parasitol. 1981. Vol. 51, N 1. P. 152–157.
27. Cavier R., Savel J. Etude de quelques aspects du metabolisme intermediaire des acides amines chez l'ascaris du porc (*Ascaris lumbricoides* Linne 1778) // Bull. Soc. chem. biol. 1954. Vol. 36, N 11/12. P. 1631–1641.
28. Croll Neil A. *Necator americanus*: Activity patterns in the egg and the mechanism of hatching // Exp. Parasitol. 1974. Vol. 35, N 1. P. 80–85.
29. Dakkak A., Khallaayonue Kh. Des perturbations physiologiques relevees au niveau de l'intestin chez le mouton infeste, experimentalement, par *Ostertagia circumcincta* // Bull. Acad. vet. France. 1983. Vol. 56, N 2. P. 235–242.
30. Fal W., Lucinska A., Kubiszyn E., Latos T. Metabolizm serotonininy w przebiegu glistnicy u dzieci // Wiad. parazytol. 1983. Vol. 29, N 3. S. 289–295.
31. Farmer S.G., Laniyonu A.A. Effects of p-chlorophenyl-L-alanine on the sensitivity of rat intestine to agonists and on intestinal 5-hydroxytryptamine levels during *Nippostrongylus brasiliensis* infection // Brit. J. Pharmacol. 1984. Vol. 82, N 4. P. 883–889.
32. Genchi C., Agnes F., Sartorelli P. Livelli epatici di serotonina in ratti con innesto intraperitoneale // Arch. vet. ital. 1980. Vol. 31, N 1/2, suppl. P. 25–28.
33. Gruner S., Mettrick D.F. The effects of 5-hydroxytryptamine on glucose absorption by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and by the mucosa of the rat small intestine // Canad. J. Zool. 1984. Vol. 62, N 5. P. 798–803.
34. Haskins W.T., Oliver L. Nitrogenous excretory product of *Taenia taeniaeformis* larvae // J. Parasitol. 1958. Vol. 44. P. 569–573.
35. Haskins W.T., Weinstein P.P. The amino excretory product of *Ascaris lumbricoides* and *Trichinella spiralis* larva // Ibid. 1957. Vol. 43. P. 28–32.
36. Haskins W.T., Weinstein P.P. Nitrogenous excretory products of *Trichinella spiralis* Larvae // Ibid. P. 19–24.
37. Kurelec B., Rihavec M., Klepac. Metabolic fate of histidine in the parasitic worm *Fasciola hepatica* // Comp. Biochem. and Physiol. 1969. Vol. 29, N 2. P. 885–887.
38. Larsh J.E.(Jr.). The present understanding of the mechanism of immunity *Trichinella spiralis* // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1967. Vol. 16. P. 123–132.
39. Larsh J.E.(Jr.). The association in mice of intestinal inflammation, elevated levels of phospholipase B, and expulsion of *Trichinella spiralis* // Wiad. parazytol. 1975. Vol. 21, N 4/6. S. 679–682.
40. Lopez-Gerge J., Monteoliva M., Mayor F. Actividad lisinadescarboxilasa en *Ascaris lumbricoides* y *Moniezia expansa* // Rev. iber. parasitol. 1969. Vol. 29, N 2/3. P. 219–227.
41. Mettrick D.F. *Hymenolepis diminuta* pH changes rat intestinal contents and worm migration // Exp. Parasitol. 1971. Vol. 29, N 3. P. 386–401.
42. Mettrick D.F., Budzinski M.E., Podesta R.B. Net fluxes of electrolytes in the rat intestine infected with *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) // Canad. J. Physiol. and Pharmacol. 1979. Vol. 57, N 8. P. 882–886.
43. Mettrick D.F., Rahman M.S., Podesta R.B. Effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT: serotonin) on in vitro glucose uptake and glycogen reserves in *Hymenolepis diminuta* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 4, N 3/4. P. 217–233.
44. Murray M., Jarrett F.H., Jennings. Mast cell and macromolecular leak in intestinal immunological reactions // Immunology. 1971. Vol. 21, N 17. P. 17–31.
45. News Y. Increased permeability of gut mucosa in rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis* // Intern. J. Parasitol. 1979. Vol. 9, N 3. P. 251–255.
46. Rogers W.P. Nitrogenous components and their metabolism: Acanthocephala and nematoda // Chemical zoology. N.Y.; L., 1969. Vol. 3. P. 379–450.

47. *Titchener R.N., Herbert I.V., Probert A.J., Axford R.F.* Observations on the stomach pH in pigs following massive infections with *Hyostrongylus rubidus* larva // *J. Comp. Pathol.* 1974. Vol. 84, N 1. P. 127–131.
48. *Uglen G.L., Just J.J.* Trypsin inhibition by tapeworms: Antienzyme secretion or pH adjustment? // *Science.* 1983. Vol. 220. P. 79–81.
49. *Veeraraghavan N., Kalyanaraman V., Visalakshi V.K.* Role of pentamethylendiamine (cadaverine) in experimental cholera infection // *Ind. Med. Res.* 1966. Vol. 54, N 2. P. 117–128.
50. *Wakelin D., Wilson M.M.* Analysis of the events responsible for the expulsion of adult *Trichinella spiralis* from the intestine of the mouse // 4th Intern. Congr. parasitol, Warsaw, 1978: Short commun. Sect. E. Warsaw, 1978. P. 59.
51. *Wakelin D., Wilson M.M.* Factors involved in the expulsion of *Trichinella spiralis* from the intestine of the mouse // *Parasitology.* 1978. Vol. 76, N 3. P. 77.
52. *Weinstein P.P., Haskins W.T.* Chemical evidence of an excretory function for the so-called excretory system of the Filariform larva on *Nippostrongylus muris* // *Exp. Parasitol.* 1955. Vol. 4, N 3.

УДК 576.895.121:577.172.823

ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА УРОВЕНЬ СЕРОТОНИНА У ЦЕСТОДЫ *HYMENOLEPIS DIMINUTA* И В КИШЕЧНИКЕ ХОЗЯИНА-КРЫСЫ

Н.Б. ТЕРЕНИНА

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Литературные и наши данные свидетельствуют о том, что в гомогенатах тканей цестод содержится серотонин (5-ОТ) (1, 2, 11, 15, 17, 24). Предполагают, что это вещество имеет важное функциональное значение у гельминтов, являясь или нейротрансмиттером, или модулятором; показано также, что 5-ОТ регулирует ряд процессов жизнедеятельности паразитов — влияет на обмен веществ, выделение яиц, миграцию паразитических червей (9, 10, 18, 19, 20). Локализуясь в организме хозяина, цестоды обладают способностью поглощать 5-ОТ из окружающей среды (9, 14, 20). В связи с этим считают, что значительная часть 5-ОТ, обнаруженного у паразитов, происходит из организма хозяина.

Известно, что резерпин вызывает высвобождение 5-ОТ из мест депонирования у многих животных, в том числе у гельминтов — нематод и трематод (3, 5, 16, 25, 27, 28). Задачей настоящей работы явилось сравнительное изучение действия резерпина на уровень 5-ОТ у цестод *Hymenolepis diminuta* и в кишечнике зараженного цестодами хозяина-крысы. Эти данные представляют интерес с точки зрения изучения особенностей функционирования серотонинергической системы самих цестод, поскольку сведения о влиянии резерпина на содержание 5-ОТ у представителей этого класса гельминтов отсутствуют. Очевидно также, что биохимические и физиологические аспекты исследования как паразита, так и хозяина являются необходимым компонентом при поиске и испытании терапевтических антигельминтных препаратов.

Материалы и методика

Эксперименты проводили на зараженных цестодами крысах весом 200–300 г. Резерпин вводили перорально равными частями в течение от 2 до 8 дней в дозе от 5 до 200 мг/кг. Животных забивали спустя сутки после применения резерпина и определяли содержание 5-ОТ у цестод и в фрагменте тонкого кишечника крысы. Эксперименты, проведенные на гельминтах и фрагментах тонкого кишечника, извлеченных из нерезерпинизированных крыс, служили в качестве контроля.

Уровень 5-ОТ в тканях цестод и кишечника хозяина определяли методом Юденфренда (4) с небольшими модификациями. Навеска ткани составляла 0,5–1,0 г. Спектрофлуориметрический анализ выполнен на флуоресцентном спектрофотометре "Nitchi MPF-4" при длинах волн флуоресценции и возбуждения 540 и 295 нм соответственно. Статистическая обработка проведена с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице. Определение уровня 5-ОТ в ткани *H. diminuta*, извлеченных из нерезерпинизированных крыс (контроль), показало, что эта величина в среднем составляет $0,632 \pm 0,032$ мкг/г ткани и варьирует от 0,292 до 1,4 мкг/г сырого веса ткани. Применение резерпина ведет к снижению содержания 5-ОТ у цестод на 64–79% (в среднем на 73%) по сравнению с контролем и варьирует от 0,05 до 0,37 мкг/г ткани.

Концентрация 5-ОТ в тонком кишечнике крыс составляет 0,964–5,249 мкг/г ($2,269 \pm 0,153$ мкг/г). Резерпин вызывает уменьшение концентрации 5-ОТ на 50–61% (в среднем на 55%). Уровень вещества при этом составляет 0,390–1,750 мкг/г. Сравнение эффекта любой из применяемых доз резерпина на содержание 5-ОТ у цестод и в месте их обитания – кишечнике крысы показывает, что высвобождение 5-ОТ из тканей цестод под действием резерпина происходит в большей степени, чем из тканей тонкого кишечника хозяина (см. таблицу).

Снижение уровня 5-ОТ у цестод под действием резерпина свидетельствует о том, что запас вещества у представителей этого класса гельминтов является резерпиночувствительным, как у нематод и трематод, а также у хозяев, где они обитают (кишечник крысы). Известно, что резерпин вызывает высвобождение 5-ОТ из мест его депонирования в желудочно-кишечном тракте, нервной ткани, плазме крови (кровяные пластинки), селезенке (6, 7, 8, 12, 13, 21, 22, 23, 26). Отмечено, что по сравнению с другими тканями из желудочно-кишечного тракта 5-ОТ высвобождается менее легко (12). Полученные нами данные о действии резерпина на уровень 5-ОТ цестод и кишечнике крыс показывают, что 5-ОТ кишечника хозяина более резистентен к высвобождению резерпином, чем у цестод. Снижение содержания 5-ОТ под действием применяемых концентраций резерпина достигается в большей степени у цестод по сравнению с эффектом на ткань кишечника хозяина. Наряду с этим отличием в реакции цестод и их хозяев на резерпин отмечено сходство, которое проявляется в том, что двигательная активность цестод после действия резерпина, как показали наши данные, не прекращается, как и в случае перистальтики кишечника (7).

Влияние резерпина на уровень 5-ОТ *H. diminuta*
и тонкого кишечника крысы

	Концентрация 5-ОТ (мкг/г ткани)			
	<i>H. diminuta</i>	% снижения	Тонкий кишечник крысы	% снижения
Контроль	$0,632 \pm 0,032$ (49)		$2,269 \pm 0,153$ (50)	
Резерпин				
5–6 мг/кг	$0,224 \pm 0,040^*$ (4)	64	$1,011 \pm 0,240^*$ (4)	55
10 мг/кг	$0,131 \pm 0,029^*$ (7)	79	$0,889 \pm 0,078^*$ (8)	61
30–66 мг/кг	$0,185 \pm 0,031^*$ (17)	71	$0,941 \pm 0,055^*$ (27)	59
70–90 мг/кг	$0,135 \pm 0,056^*$ (4)	79	$1,124 \pm 0,110^*$ (8)	50
150–200 мг/кг	$0,153 \pm 0,066^*$ (4)	75	$1,025 \pm 0,043^*$ (6)	55

Примечание. Цифры в скобках – число экспериментов. * $P < 0,001$ по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Александрюк С.П., Долгун З.С.** Серотонин в ткани цестоды *Ligula intestinalis* // Тр. ГЕЛАН СССР. 1965. Т. 15. С. 26–32.
2. **Теренина Н.Б.** Серотонин и дофамин в тканях цестод *Pseudophyllidea* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1983. Т. 19, № 3. С. 302–303.
3. **Плотникова С.И., Шишов Б.А., Кузьмина Л.В.** К изучению биогенных моноаминов в нервной системе аскариды // Тр. ГЕЛАН СССР. 1969. Т. 20. С. 103–108.
4. **Юденфренд С.** Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. М.: Мир, 1965. 484 с.
5. **Bennett J., Bueding E.** Localization of biogenic amines in *Schistosoma mansoni* // Comp. Biochem. and Physiol. A. 1971. Vol. 39, N 4. P. 857–867.
6. **Benditt E.P., Wong R.L.** On the concentration of 5-hydroxytryptamine in mammalian enterochromaffin cells and its release by reserpine // J. Exp. Med. 1957. Vol. 105. P. 509–520.
7. **Bülbring E., Crema A.** The action of 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxytryptophan and reserpine on intestinal peristalsis in anaesthetized guinea pigs // J. Physiol. 1959. Vol. 146. P. 29–53.
8. **Burks T.F., Long J.P.** Release of 5-hydroxytryptamine from isolated dog intestine by morphine and related agents // J. Pharmacol. and Exp. Ther. 1967. Vol. 156. P. 267–276.
9. **Cho C.H., Mettrick D.F.** Circadian variation of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and 5-hydroxytryptamine levels in the gastrointestinal tract of the laboratory rat // J. Parasitol. 1982. Vol. 84, N 3. P. 431–442.
10. **Cho C.H., Mettrick D.F.** Effects of 5-hydroxytryptamine and histamine on establishment, production and reproduction by *Hymenolepis diminuta* in the final and intermediate hosts // Canad. J. Zool. 1982. Vol. 60, N 4. P. 725–728.
11. **Chou T.C.T., Bennett J., Bueding E.** Occurrence and concentration of biogenic amines in Trematodes // J. Parasitol. 1972. Vol. 58, N 6. P. 1098–1102.
12. **Erspamer V.** Release of 5-hydroxytryptamine by reserpine // Lancet. 1956. Vol. 270. P. 511.
13. **Erspamer V.** Observation the 5-hydroxytryptamine (enteramine) release caused by reserpine in the rat // Experientia. 1956. Vol. 12. P. 63–64.
14. **Gyr D., Gruner S., Mettrick D.F.** *Hymenolepis diminuta*: Uptake 5-hydroxytryptamine (serotonin), glucose and changes in worm glycogen levels // Canad. J. Zool. 1983. Vol. 61. P. 1469–1474.
15. **Hariri M.** Occurrence and concentration of biogenic amines in *Mesocostoides corti* (Cestoda) // J. Parasitol. 1974. Vol. 60, N 5. P. 737–743.
16. **Högger C.H., Estey R.H., Croll N.A.** *Xiphinema americanum*: Cholinesterase and biogenic amines in the nervous system // Exp. Parasitol. 1978. Vol. 45, N 1. P. 139–149.
17. **Lee M.B., Bueding E., Schiller E.L.** The occurrence and distribution of 5-hydroxytryptamine in *Hymenolepis diminuta* and *H. nana* // J. Parasitol. 1978. Vol. 64, N 2. P. 257–264.
18. **Mettrick D.F., Cho C.H.** Migration of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and changes in 5-HT (serotonin) levels in the rat host following parenteral and oral 5-HT administration // Canad. J. Physiol. and Pharmacol. 1981. Vol. 59, N 3. P. 281–286.
19. **Mettrick D.F., Podesta R.B.** Effect of gastrointestinal hormones and amines on intestinal motility and the migration of *Hymenolepis diminuta* in the rat small intestine // Intern. J. Parasitol. 1982. Vol. 12, N 2/3. P. 151–154.
20. **Podesta R.B., Mettrick D.F.** A simple method for analyzing oral and intravenous treatment effects on biomass redistribution of *Hymenolepis diminuta* in the rat intestine // Canad. J. Zool. 1981. Vol. 59. P. 861–863.
21. **Pletscher A., Shore P.A., Brodie B.B.** Serotonin as a mediator of reserpine action in brain // J. Pharmacol. and Exp. Ther. 1956. Vol. 116, N 1. P. 84–89.
22. **Pletscher A., Shore P.A., Brodie B.B.** Serotonin release as a possible mechanism of reserpine action // Science. 1955. Vol. 122, N 3165. P. 374–375.
23. **Penttilä A.** Histochemical reactions of the enterochromaffin cells and 5-hydroxytryptamine content of the mammalian duodenum // Acta physiol. scand. 1966. Vol. 69. P. 1–77.
24. **Terенина Н.Б.** Results of spectrofluorimetric determination of biogenic amines (Serotonin, Dopamine) in cestodes // Helminthologia. 1984. Vol. 21, N 4. P. 275–280.
25. **Tomosky T.K., Bennett J.L., Bueding E.** Tryptaminergic and dopaminergic responses of *Schistosoma mansoni* // J. Pharmacol. and Exp. Ther. 1974. Vol. 190, N 2. P. 260–271.
26. **Schofield G.C., Southwell J.M., Ho A.C.S.** Enterochromaffin cells and 5-hydroxytryptamine content of the colon of mice // J. Anat. 1967. Vol. 101, N 4. P. 711–721.
27. **Sulston J., Dew M., Brenner S.** Dopaminergic neurons in nematode *Caenorhabditis elegans* // Comp. Neurol. 1975. Vol. 163, N 2. P. 215–226.
28. **Wright D.J., Aven F.A.** Catecholaminergic structures in the nervous system of three nematode species, with observations on related enzymes // J. Zool. 1978. Vol. 185, N 4. P. 477–490.

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ КУР: ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ

А.П. БЕЛОВ, Д. ФАИС, Э.К. ЛЕУТСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Хорошо известно, что иммуноглобулины представляют собой семейство сывороточных белков со сходной молекулярной структурной организацией, способных в виде антител взаимодействовать с антигенами. Продукция их в ответ на попадание в организм антигена, в том числе гельминтов, является наиболее изученным аспектом гуморального иммунологического ответа. У кур так же, как и у других видов птиц, в сыворотке крови содержатся иммуноглобулины классов М, G и А, причем преобладают иммуноглобулины класса G, на долю которых приходится около $\frac{2}{3}$ общего содержания иммуноглобулинов (17). Иммуноглобулины этого класса имеют значительно бóльшую, чем иммуноглобулины других классов, степень аффинитета к антигенам, и поэтому их количественное и качественное изучение при гельминтозах, например в системах курица—аскаридия и курица—сингамус, представляет большой интерес. Однако в настоящее время иммуноглобулины птиц изучены значительно слабее, чем иммуноглобулины млекопитающих, хотя известно, что они имеют ряд особенностей в строении молекул и свои особые физико-химические свойства (2, 10, 13, 15, 19). Эти особенности их строения не позволяют использовать существующие для фракционирования иммуноглобулинов млекопитающих и человека методы.

Целью настоящего исследования явилась разработка простого, быстрого и современного метода выделения и количественной оценки иммуноглобулинов класса G из сыворотки крови кур. Кроме того, метод должен дать представление о составе и содержании других иммуноглобулинов, а также основных белков сыворотки, что при воздействии на организм животного различных экзо- и эндогенных факторов имеет большое значение для диагностики заболеваний, оценки и управления физиологическим состоянием организма.

Принцип метода. В основе предложенного метода лежит работа Фейхи и Терри (11) по анализу белков сыворотки крови человека. Для разделения смеси биополимеров широко используются методы хроматографии (6, 8) благодаря обширному спектру физико-химических параметров, по которым осуществляется фракционирование (4). Ионообменная хроматография — один из видов хроматографии, где смесь биополимеров разделяют по разнице суммарного заряда молекул. Данный метод можно использовать не только для фракционирования или очистки отдельных компонентов исследуемой смеси белков, но и для качественной оценки физиологического состояния организма при изучении различных биологических жидкостей (сыворотки крови, лимфы, слюны и т.д.).

Оборудование, реактивы и растворы: стеклянная колонка 1,6 × 7,5 см, УФ детектор, самописец, спектрофотометр, перистальтический насос.

ДЕАЕ-целлюлоза, агароза, сыворотки для иммунохимического анализа: кроличья сыворотка против IgG кур — анти-IgG, кроличья сыворотка против IgG кур — анти-Ig A, кроличья полиспецифическая сыворотка против сыворотки крови кур — анти-С (все фирмы Miles eda LTD), кроличья сыворотка против IgM кур — анти-IgM (фирмы Miles laboratories Inc).

Растворы для хроматографического процесса: основной раствор 0,015M натрий-фосфатный буфер pH 8,0. Растворы 0,05–0,5M NaCl в 0,015M натрий-фосфатном буфере pH 8,0. Растворы для регенерации и подготовки ДЕАЕ-целлюлозы к использованию: 0,5M NaOH; 0,5M HCl.

Подготовка ДЕАЕ-целлюлозы. Сухую ДЕАЕ-целлюлозу для замачивания и набухания засыпают тонкой струйкой с перемешиванием в 10–15 объемах воды и оставляют

на 1 ч. В начале набухания целесообразно удалить воздух из внутреннего объема гранул кратковременной деаэрацией в колбе Бунзена. При всех операциях следует избегать энергичного перемешивания; пользоваться магнитной мешалкой во избежание истирания частиц сорбента не следует. ДЕАЕ-целлюлоза является слабым анионообменником, поэтому для переформирования ее переводят в 15 объемов 0,5М HCl и через 30 мин промывают дистиллированной водой на воронке со стеклянным фильтром. После промывки ДЕАЕ-целлюлозу на 30 мин помещают в 0,5М NaOH и затем промывают водой до нейтрального значения pH промывных вод. Находящийся в такой форме анионообменник легко перевести в любую другую нужную форму, определяемую задачами эксперимента (4). Готовую ДЕАЕ-целлюлозу заливали основным раствором и хранили в холодильнике без замораживания. Во избежание зарастания сорбента микроорганизмами к суспензии ДЕАЕ-целлюлозы добавляли азид натрия до конечной концентрации 0,02%.

Набивка колонки. К стеклянной колонке пристраивают тубус (примерно в 2 раза превышающий ее рабочий объем), в строго вертикальном положении закрепляют в штативе; выходной кран при этом закрыт. Колонку наполовину заполняют основным буферным раствором. Суспензию ДЕАЕ-целлюлозы, подготовленную для работы, нагревают до 40–50 °С и деаэрируют в колбе Бунзена. Суспензию деаэрированного сорбента заливают в колонку, стараясь выполнить эту операцию в один прием, что обеспечивает высокое качество заполнения колонки, после чего открывают выходной кран и выпускают лишний объем жидкости, оставляя над верхней границей сорбента слой раствора, препятствующий обсыханию. Колонку подсоединяют к оптической ячейке УФ детектора и промывают основным раствором. На ленте самописца, регистрирующего показатели УФ детектора, устанавливают базовую линию.

Получение сыворотки крови кур. Кровь у кур брали одним из известных способов, затем отстаивали на холоде в центрифужных пробирках в течение 30 мин. Сыворотку получали при помощи последовательного двухкратного центрифугирования по 10–15 мин каждое при $g = 6000$ (g — определяется по формуле $g = 0,0000112 \cdot R \cdot N^2$, где R — средний радиус углового ротора в см; N — число оборотов в мин).

Подготовка исследуемого образца для нанесения. Обычно смесь исследуемых белков для ионообменной хроматографии переводят в тот буфер, с которым предстоит работать путем диализа или гель-фильтрации (4), но мы заменили эти операции десятикратным разбавлением образца сыворотки основным раствором. При работе с колонкой 1,6 × 7,5 см, как правило, брали 10 мл разведенной сыворотки, содержащей около 30 мг белка. Количество белка определяли спектрофотометрическим методом и выражали в единицах оптической плотности при 280 нм (5) или в мг/мл по формуле $(A_{235} - A_{280}) \cdot 2,51$ (20).

Нанесение на колонку исследуемого образца сыворотки. Подготовленный образец разведенной сыворотки наносили на колонку с ДЕАЕ-целлюлозой с помощью перистальтического насоса, предварительно освободив поверхность сорбента от верхнего слоя жидкости, но следя за тем, чтобы не происходило ее обсыхание. Скорость подачи образца и последующих растворов элюции была постоянной и равной 3 мл/мин (2,5 мл/(мин · см²)). По окончании нанесения образца насосом на колонку подавали основной раствор. При этом часть белков сыворотки "проскакивала" через колонку, не связываясь с ДЕАЕ-целлюлозой. После этого колонка с нанесенным образцом была готова для элюции сорбированных белков сыворотки.

Элюция с ДЕАЕ-целлюлозы сывороточных белков. Известно, что элюцию сорбированных белковых компонентов сыворотки можно осуществить, меняя pH или ионную силу элюента (4). Мы использовали метод элюции, основанный на изменении (увеличении) концентрации NaCl и отдали предпочтение методу "ступенчатой элюции", при котором изменение "силы" элюента происходит скачкообразно, так как этот вариант метода больше отвечает стоящим перед нами задачам, а именно, с одной стороны, простота и воспроизводимость, с другой — лучшее разделение белковых компонентов сыворотки.

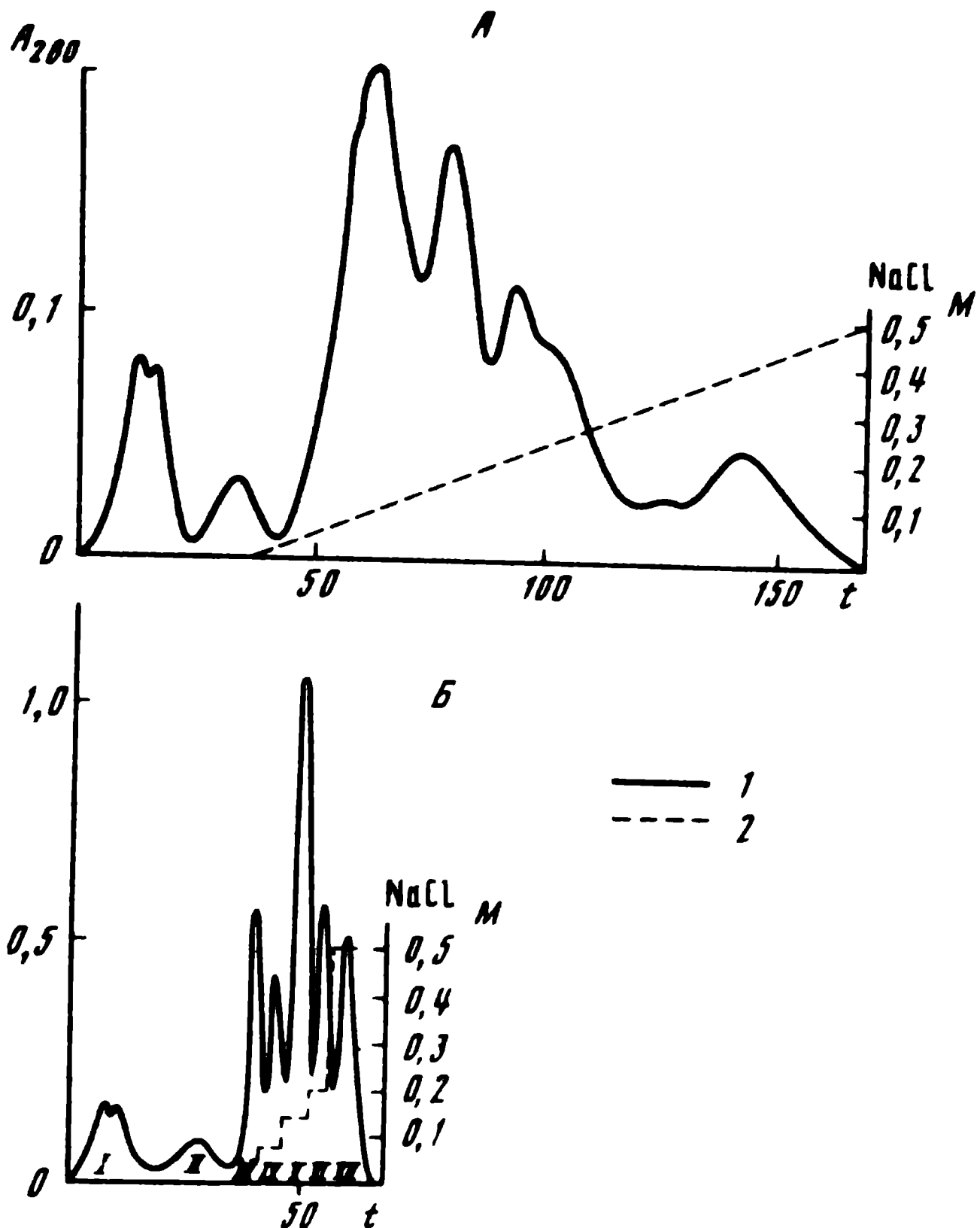


Рис. 1. Ионообменная хроматография белков сыворотки крови кур на ДЕАЕ-целлюлозе в линейном (А) и ступенчатом (Б) градиенте концентрации NaCl

В результате экспериментального подбора условий фракционирования белков сыворотки для создания ступенчатого градиента концентрации NaCl нами были определены следующие концентрации: 0,05M; 0,08; 0,15; 0,2; 0,5M. Все растворы готовили в 0,015M натрий-фосфатном буфере pH 8,0. Подачу каждого из растворов осуществляли до тех пор, пока значения поглощения элюента при 280 нм, регистрируемые на ленте самописца, не становились достаточно низкими и близкими к базовой линии, что указывало на полноту десорбции белков данной фракции. С помощью предложенной схемы элюции мы получили семь фракций белков сыворотки крови кур (рис. 1), каждую из которых собирали отдельно и использовали в дальнейшей работе.

Для последующей характеристики сывороточных белков и их выделения полученные фракции использовали непосредственно: либо концентрировали при ультрафильтрации, либо лиофильно высушивали и переводили в нужный для анализа раствор. Фракции, содержащие 0,02% азиды натрия, можно хранить в холодильнике без замораживания длительное время.

Характеристика белковых фракций. Каждую из полученных при ионообменной хроматографии сыворотки крови кур семи фракций (см. рис. 1) для определения основных физико-химических и биологических параметров ее белковых компонентов подвергали: 1) аналитическому ультрацентрифугированию; 2) электрофорезу в полиакриламидном геле; 3) иммунодиффузии; 4) иммуноэлектрофорезу.

Определение коэффициента седиментации осуществляли при зонально-скоростном

центрифугировании (3). Электрофорез в ПААГе проводили по Лэмли (16) с модификациями (1). Иммунодиффузию по Ухтерлони и иммуноэлектрофорез по Грабарю и Уильямсу осуществляли методами, модифицированными Бемом и Фримелем (7).

Кроме антисывороток к иммуноглобулинам G, A и M классов в распоряжении исследователей по сей день нет моноспецифических антисывороток к основным белкам сыворотки крови кур, вследствие чего в литературе отсутствуют расшифрованные иммуноэлектрофореграммы для куриных сывороток. Тем не менее основным методом идентификации белков полученных нами фракций был метод иммуноэлектрофореза. Остальные три метода играли вспомогательную роль для уточнения полученного при иммуноэлектрофорезе результата, как, например, при иммунодиффузии — наличие или отсутствие во фракции IgG, IgA, IgM; при электрофорезе в ПААГ — информация о молекулярном составе фракции; при седиментационном анализе фракции — определение коэффициентов седиментации основных компонентов, отражающих молекулярный вес белков.

Однако по причине отсутствия расшифрованных иммуноэлектрофореграмм белков сыворотки кур мы для идентификации многих белков использовали картину иммуноэлектрофореза человеческой сыворотки (9).

Результаты и обсуждение

Первую задачу, которую нам предстояло решать в наших исследованиях иммуноглобулинов крови кур, это подбор метода их фракционирования. Эта задача была затруднена тем, что, с одной стороны, иммуноглобулины птиц исследованы значительно слабее, чем иммуноглобулины других классов животных, с другой — тем, что иммуноглобулины птиц отличаются от прочих иммуноглобулинов по целому ряду признаков (состав, молекулярный вес, строение молекул). Мы стремились разработать простой (легко воспроизводимый) современный метод фракционирования белков сыворотки кур. В частности, нам было важно исследовать сывороточные иммуноглобулины, определить их состав, идентифицировать основные классы (IgM, IgG, IgA), разработать современный метод выделения IgG, которые у кур составляют значительную долю общего содержания иммуноглобулинов.

Взяв в основу метод анализа белков сыворотки крови человека (11), основанный на ионообменной хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе, мы прежде всего подобрали концентрацию растворов нанесения образца на колонку и полной элюции всех сорбированных белков. Как видно из рис. 1, эти значения равны соответственно 0 и 0,5M. На рис. 1 хроматографические профили элюции сывороточных белков с ДЕАЕ-целлюлозы даны при линейном (А) и ступенчатом (Б) градиентах концентрации. Преимущества второго варианта элюции перед первым явные: во-первых, разделение фракций более четкое; во-вторых, фракции менее разбавленные; в-третьих, весь процесс элюции происходит значительно быстрее. По этим причинам в данной работе для элюции белков мы применяли ступенчатый способ повышения концентрации NaCl. Как было отмечено в разделе "Методы" при описании нанесения на колонку исследуемого образца сыворотки и как видно из рис. 1 (пики I и II), часть белков "проскакивала" через колонку, не связываясь с ДЕАЕ-целлюлозой.

Ниже приводятся результаты анализа изолированных из сыворотки крови кур семи белковых фракций.

I фракция. Содержание белка в первой фракции сильно варьирует в зависимости от физиологического состояния кур, но у контрольных животных, как правило, составляет около 10% от общего содержания белка в исследуемом образце.

Аналитическое ультрацентрифугирование белков этой фракции позволило установить, что в ней содержится один компонент с коэффициентом седиментации 5,4 S. Однако при электрофорезе в ПААГе в составе I фракции наряду с основным ком-



Рис. 2. Электрофорез белков сыворотки крови кур в полиакриламидном геле. Разделяющий гель 7,5%, ТРИС-HCl pH 8,9; электродный буфер ТРИС-глициновый pH 8,3

C — разбавленная в 10 раз сыворотка крови кур; I, II, ..., VII — фракции белков сыворотки крови кур, полученные при ионообменной хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе; IgG — иммуноглобулины класса G, выделенные нами; IgG_S — иммуноглобулины класса G кур фирмы Sigma

понентом, хотя и в следовых количествах, обнаружен и второй компонент (рис. 2, I; стрелка).

Иммунологические свойства белков фракции I показаны на рис. 3 и 4. Результаты иммуноэлектрофореза белков фракции показывают, что она содержит белок, обладающий в агарозе наибольшей электрофоретической подвижностью к катоду; этот белок образует преципитаты с моноспецифическими анти-IgG (рис. 3, I, 10). Фракция содержит также фибриноген (рис. 3, I, 8). Наличие иммуноглобулинов класса G в первой фракции подтверждается результатами иммунодиффузии ее белков (рис. 4, B, 3, I).

На основании данных о молекулярном весе основного компонента, а также сведений о его иммунологических свойствах можно относить его к классу IgY, особый класс иммуноглобулинов у птиц (18). Однако отсутствие как собственных, так и коммерческих препаратов анти-IgY не позволяет нам считать вывод окончательным.

II фракция. Содержание белка в этой фракции незначительно (около 6% от всего белка в образце сыворотки) и более или менее постоянно в сыворотке кур. Имеющиеся в нашем распоряжении методы не позволили идентифицировать ее белковые компоненты. С уверенностью можно только сказать, что эта фракция не содержит иммуноглобулинов A и M классов (рис. 4, A, Д), но содержит фракцию иммуноглобулинов, которые дают преципитат с анти-IgG сывороткой (рис. 4, B; 3, II).

III фракция. На ее долю приходится около 15% от общего белка исследуемого образца сыворотки.

По данным электрофореза в ПААГе (см. рис. 2, III), третья фракция включает три компонента, причем на долю одного из них приходится 80% белка фракции.

Значение коэффициента седиментации основного компонента равно 7,7 S, что совпадает со значениями коэффициентов седиментации IgG тех немногих представителей класса птиц, которые приводятся в литературе (12, 14). Такое более высокое значение коэффициента седиментации, а следовательно, и молекулярного веса иммуноглобулинов, чем у большинства млекопитающих (известны, кроме кур, также для фазана и перепела), по всей вероятности, являются характерными для класса птиц в целом (14).

Окончательная идентификация белковых компонентов III фракции была получена при иммунодиффузии и иммуноэлектрофорезе. Первый метод позволил установить, что

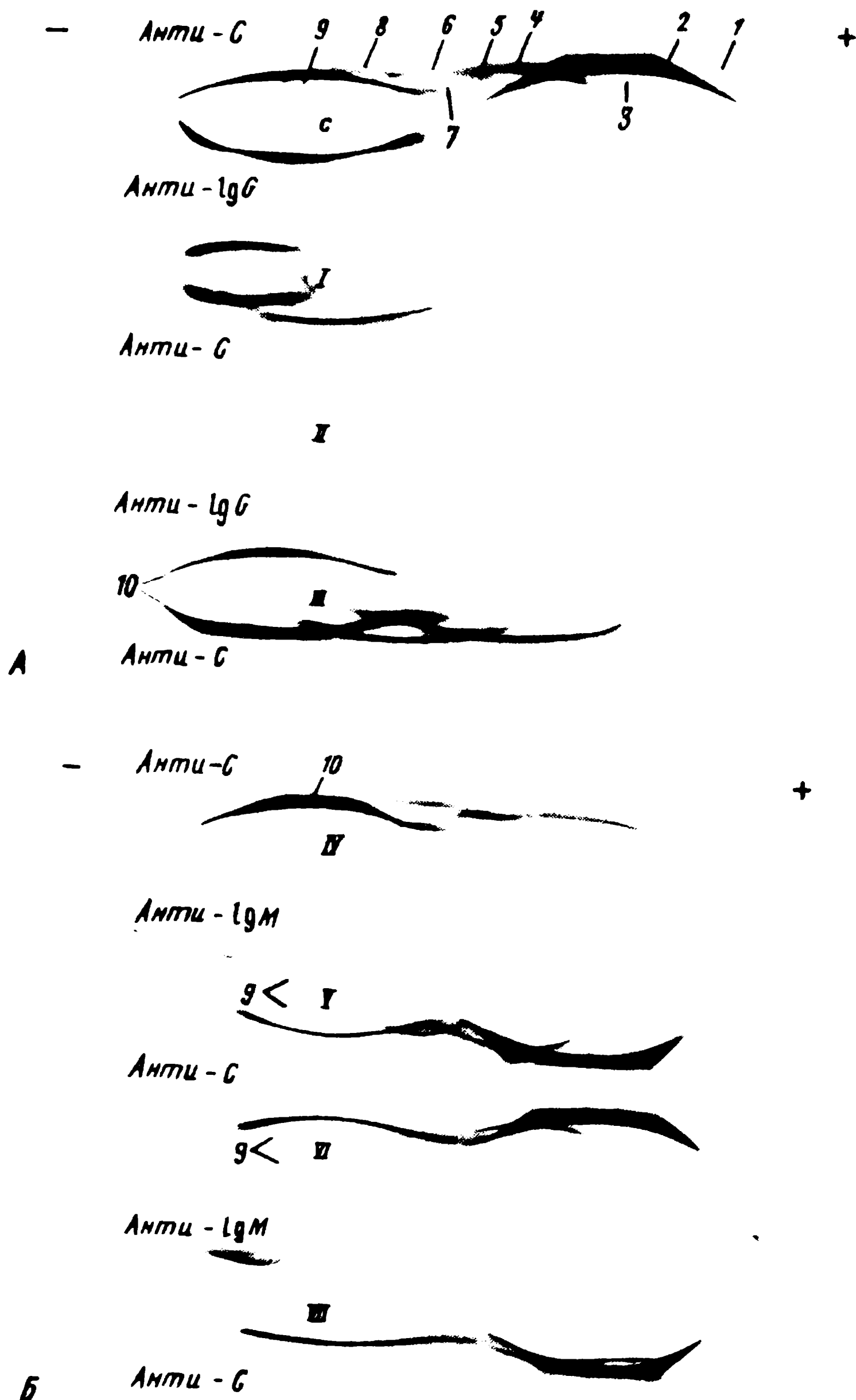


Рис. 3. Иммуноэлектрофорез белков сыворотки крови кур. 1%-ная агароза в веронал-ацетатном буфере pH 8,6. Электрофорез 180 мин. Иммунодиффузия — 48 ч
 С — разбавленная в 10 раз сыворотка крови кур; I, II, ..., VII — фракции белков; анти-С, анти-IgG, анти-IgM — сыворотки к белкам крови кур и соответствующим иммуноглобулинам;
 I — преальбумин, 2 — альбумин; 3 — гликопротеин; 4 — антитрипсин; 5 — гаптоглобулин; 6 — трансферрин; 7 — макроглобулин; 8 — фибриноген; 9 — IgM; 10 — IgG

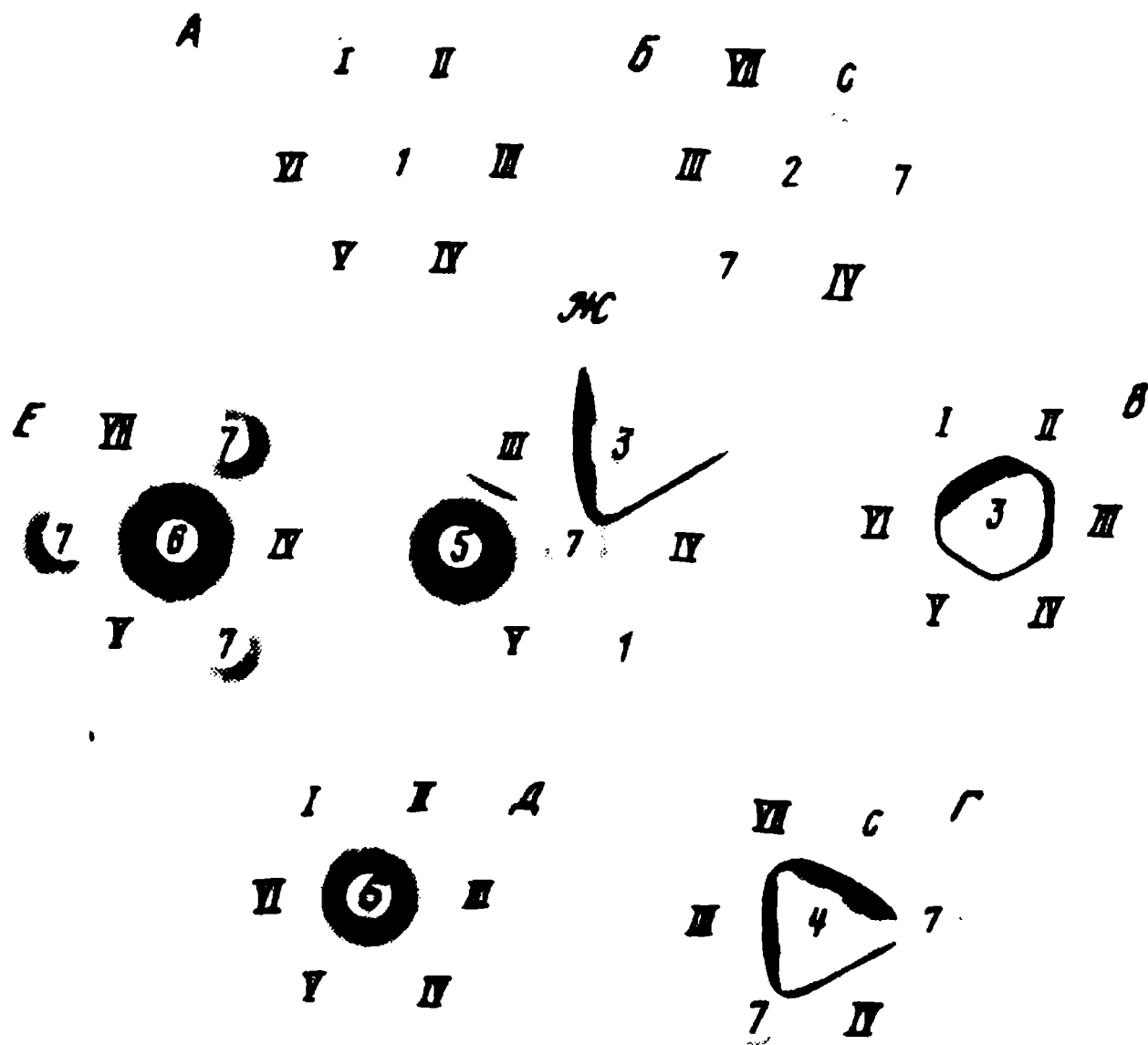


Рис. 4. Двойная иммунодиффузия в геле. 1%-ная агароза в 0,15 М NaCl. Иммунодиффузия — 48 ч. 1, 2 — анти-IgA; 3, 4 — анти-IgG; 5, 6 — анти-IgM; 7 — экстракт из *A. galli*; C — сыворотка крови курицы, иммунизированной экстрактом из *A. galli*; I, II, ..., VII — фракции сыворотки крови

эта фракция не содержит IgA (см. рис. 4, A, 1, III; B, 2, III), но дает преципитаты с анти-IgG (рис. 4, B, 3, III; Г, 4, III), а также с анти-IgM (рис. 4, Д, 5, III). Результаты иммуноэлектрофореза подтверждают наличие в III фракции иммуноглобулинов класса G (рис. 3, III; анти-IgG), а также других белков, которые дают преципитаты с тотальной антисывороткой и по аналогии с иммуноэлектрофореграммами белков сыворотки человека могут быть отнесены к антитрипсину, трансферрину и фибриногену (рис. 3, A, III; анти-C).

IV фракция. Доля белка исследуемого образца, которая приходится на эту фракцию, равна 12%.

Сведения о белковом составе этой фракции получены при электрофорезе в ПААГе. На рис. 2, IV видны три белковых компонента, которые по электрофоретической подвижности можно отнести к IgM (небольшой компонент вблизи старта на геле), к IgG (основной компонент, составляющий 60% всей фракции), к α_2 M-глобулину (следовой компонент) и к альбумину (самый подвижный при электрофорезе компонент).

Как и в III фракции, коэффициент седиментации основного компонента равен 7,7 S, что позволяет отнести его к иммуноглобулинам класса G. К такому же заключению приводят результаты анализа фракции методами иммунодиффузии (рис. 4, B, 3, IV и Г, 4, IV) и иммуноэлектрофореза (рис. 3, Б, IV, 10). В то же время иммунодиффузия показала, что IV фракция не содержит IgA (рис. 4, A, 1, IV; B, 2, IV), но содержит IgM (рис. 4, Д, 5, IV; E, 6, IV). На иммуноэлектрофореграмме, помимо преципитата IgG (рис. 3, Б, IV, 10), видны еще три, которые не отличаются от соответствующих преципитатов III фракции (ср. рис. 3, A, III; анти-C и рис. 3, Б, IV; анти-C).

V фракция. Эта фракция является самой богатой белком из всех семи полученных в ней содержится около 28% белка всего образца сыворотки при значительных колебаниях от 22 до 33%.

По составу фракция гетерогенна: седиментационный анализ выявляет в ней три компонента, отличающихся по молекулярному весу, о чем свидетельствуют значения

коэффициентов седиментации, равных соответственно 3,4 S, 4,9 S и 19 S, причем более тяжелый компонент, чье значение коэффициента седиментации позволяет идентифицировать в нем иммуноглобулины класса М, в этой фракции присутствует в большей степени, чем в других, в которых более чувствительный метод иммунодиффузии также выявляет наличие этого иммуноглобулина (рис. 4, Д, 5, I; 5, III; 5, IV; 5, V).

Такая же степень гетерогенности, но в данном случае по суммарному заряду молекул, выявляет электрофорез фракции в ПААГе (см. рис. 2, V). Из этого же рис. 2, V видно, что в этой фракции основной компонент — это альбумин. Денситометрия этой электрофореграммы позволяет определить, что содержание альбумина во фракции равно около 70%.

Информация о V фракции, полученная при иммунодиффузии, говорит о том, что в ней содержатся IgA (см. рис. 4, А, I, V), IgG (см. рис. 4, В, 3, V), а также IgM (см. рис. 4, Д, 5, V; Е, 6, V). Дополнительная информация об этой фракции получена при иммуноэлектрофорезе. На рис. 3, Б, V (анти-IgM) видно наличие в ней IgM, а на рис. 3, Б, V (анти-С) наличие других, обнаруженных с помощью применяемых методов, компонентов, а именно IgG, макроглобулина, антитрипсина и альбумина.

VI фракция. Эта фракция содержит в среднем 16% белка образца сыворотки, но эта величина может сильно варьировать в зависимости от физиологического состояния животного.

Так же, как и предыдущие, VI фракция гетерогенна по составу. Эта характеристика проявляется по всем использованным критериям оценки: по электрофоретическим, седиментационным и иммунохимическим свойствам молекул. Так, например, седиментационный анализ выявляет два компонента (3,8 S и 4,9 S), один из которых (4,9 S) характерен для альбумина. Несколько компонентов видно также на электрофореграмме (см. рис. 2, VI) и в картине иммуноэлектрофореза (рис. 3, Б, VI; анти-С), по которой можно установить наличие во фракции пяти компонентов: альбумин, антитрипсин, макроглобулин, IgG, IgA.

Наличие, хотя и в следовых количествах, IgG, IgA и IgM показано при иммунодиффузии фракции (см. рис. 4).

VII фракция. В седьмой фракции содержится около 13% белка.

Степень гетерогенности этой фракции выражена по-разному в зависимости от метода ее исследования. Так, седиментационный анализ выявляет только один компонент, а электрофоретический — два четко выраженных компонента и размытую зону неидентифицируемых компонентов. В то же время при иммуноэлектрофорезе наряду со следами IgG обнаружены альбумин и преальбумин, которые являются основными компонентами.

И наконец, иммунодиффузия белков фракции показывает, что из трех классов иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM), против которых располагали антисыворотками, только IgG, хотя и в слабой форме, вызывают преципитат с соответствующей антисывороткой (см. рис. 4, I; 4, VII).

Заключение

Предлагаемый нами в работе метод фракционирования белков сыворотки крови кур позволяет быстро и достоверно исследовать не только иммуноглобулины, но и другие белки сыворотки. Метод позволяет получить иммуноглобулины класса G: фракции III и IV обогащены IgG соответственно до 80 и 60%. Высокая степень обогащения этих фракций иммуноглобулинами класса G позволяет легко решать вопрос о получении чистого препарата IgG. Выделенный нами препарат не отличается от коммерческого препарата фирмы Сигма (США) (сравнить на рис. 2 электрофореграммы IgG и IgGs), а если судить по данным иммуноэлектрофоретической проверки, несколько превосходит его. По данным иммунохимических методов иммуноглобулины класса G присутствуют также в I фракции, хотя по другим физико-химическим параметрам (электрофоретическая подвижность в агарозе, коэффициент седиментации) эти IgG отличаются от тех, которые элюируются с ДЕАЕ-целлюлозы в III и IV фракциях.

При ионообменной хроматографии сыворотки кур на ДЕАЕ-целлюлозе иммуноглобулины класса М локализованы в основном в V фракции, о чем однозначно свидетельствуют данные седиментационного анализа. Из этой фракции они могут быть легко отделены от других компонентов (в основном альбумина) с помощью простых методов, как, например, гель-фильтрация.

Иммуноглобулины класса А присутствуют в сыворотке крови кур в следовых количествах и обнаружены при фракционировании белков с помощью ионообменной хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе только в V и VI фракциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Виноградова Р.П., Цудзевич Б.А., Храпунов С.Н.* Физико-химические методы в биохимии. Киев: Вища шк., 1983. 287 с.
2. *Кяйвярйнен Е.И.* Строение и физико-химические свойства иммуноглобулинов М и G кур // Биохимические и морфологические основы иммунологии птиц. Петрозаводск, 1982. С. 28–42.
3. *Остерман Л.А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование: (Практ. пособие). М.: Наука, 1981. 288 с.
4. *Остерман Л.А.* Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. 536 с.
5. *Скоупс Р.К.* Методы очистки белков. М.: Мир, 1985. 358 с.
6. *Урванцева Г.А., Рязанова А.В., Титова О.В., Черняковский Ф.П.* Хроматографические методы исследования в биологии: (Учеб. пособие). Ярославль, 1983. 77 с.
7. *Фримель Х.* Иммунологические методы. М.: Мир, 1979. 518 с.
8. *Хроматография в биологии и медицине: Сб. науч. тр. П ММИ им. Н.И. Пирогова / Под ред. Р.Т. Тогузова и М.Н. Савиной. М., 1985. 158 с.*
9. *Якубке Х.-Д., Ешкайт Х.* Аминокислоты, пептиды, белки. М.: Мир, 1985. 353 с.
10. *Ambrosius N., Häde D.* A phylogenetic view of avian immunology // *Folia biol. (CSSR)*. 1982. Vol. 28, N 1. P. 1–21.
11. *Fahey J.L., Terry E.W.* Ion exchange chromatography and gel filtration // *Handbook of experimental immunology*. Lond., 1978. Vol. 1: Immunochemistry / Ed. D.M. Weir. P. 5B1–5B8.
12. *Gallagher J.S., Voss E.W.* Molecular weight of a purified chicken antibody // *Immunochemistry*. 1969. Vol. 6. P. 199–206.
13. *Hersh R.T., Benedict A.A.* Aggregation of chicken γ G immunoglobulin in 1.5M sodium chlorid solution // *Biochim. et biophys. acta*. 1966 Vol. 115. P. 242–244.
14. *Hersh P.T., Kubo R.T., Leslie G.A., Benedict A.A.* Molecular weights of chicken, pheasant and quail IgG immunoglobulins // *Immunochemistry*. 1969. Vol. 6, N 5. P. 762.
15. *Kubo R.T., Benedict A.A.* Comparison of various avian and mammalian IgG immunoglobulins for salt-induced aggregation // *J. Immunol.* 1969. Vol. 103, N 5. P. 1022–1028.
16. *Laemmli N.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature*. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
17. *Lebacqz-Verheyden A.M., Yaerman J.-P., Heremans J.F.* Quantification and distribution of chicken immunoglobulins IgA, IgM and IgG in serum and secretions // *Immunology*. 1974. Vol. 27, N 4. P. 683–692.
18. *Leslie G., Clem L.W.* Phylogeny of immunoglobulin structure of function. III. Immunoglobulins of the chicken // *J. Exp. Med.* 1969. Vol. 130, N 6. P. 1337–1352.
19. *Tenenhouse H.S., Deutsch H.F.* Some physical-chemical properties of chicken gamma-globulins and their pepsin and papain digestion products // *Immunochemistry*. 1966. Vol. 3, N 1. P. 11–20.
20. *Whitaker J.R., Granum P.E.* An absolute method for protein determination based on difference in absorbance at 235 and 280 nm // *Anal. Biochem.* 1980. Vol. 109. P. 156–159.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КРОВИ КУР ПРИ АСКАРИДИОЗЕ

З.К. ЛЕУТСКАЯ, А.П. БЕЛОВ, Д. ФАИС

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Известно, что гельминты, как и другие патогены, стимулируют в зараженном организме формирование реактивного иммунитета, обеспечивающегося иммуноглобулинами, фагоцитами, лимфоцитами и комплементом. Однако степень участия этих факторов в защитном действии того или иного организма против соответствующего возбудителя различна и зависит как от филогенетической позиции хозяина, так и от типа гельминта. Поэтому успешное целенаправленное использование иммунитета для повышения естественной сопротивляемости организма к гельминтам на современном этапе требует изучения в каждой отдельной системе паразит—хозяин всех компонентов иммунитета, сформированных хозяином, степени их участия в данной системе взаимоотношений и факторов, влияющих на их формирование.

В нашей лаборатории в течение ряда лет на модели курица—аскаридия проводятся исследования формирования гуморального иммунитета у кур и поиски условий его повышения. Нами ранее было показано, что иммунизация цыплят антигеном из аскаридий приводит к перераспределению белков крови (глобулинов и альбуминов) и повышению синтеза гуморальных специфических антител (4, 5, 9), а в выделенной из сыворотки крови на ДЕАЕ-целлюлозе фракций IgG специфические антитела в наших экспериментах составляли в среднем от 5 до 15%, отдельные же фракции содержали до 30–50% специфических антител.

Так как вся предыдущая работа была проведена только на иммунизированных курах, то возникла необходимость провести сравнительные исследования динамики изменений белков сыворотки крови кур и IgG, в частности при заражении птиц аскаридиями и иммунизации их антигеном из аскаридий.

Материалы и методы

Опыты проводили на цыплятах породы белый леггорн, полученных с Томилинской птицефабрики в возрасте 6 недель. Заражение и иммунизацию проводили через 7–10 дней после привоза. В экспериментах по изучению влияния заражения цыплят делили на две группы. Цыплята первой группы получали по 500 инвазионных яиц аскаридий в виде водной суспензии. Второй группе цыплят — контрольной — давали такое же количество воды. Забой цыплят и анализ белков сыворотки крови производили на 2, 7, 14 и 21-й день после заражения.

Иммунизацию цыплят проводили возрастающими дозами антигена из аскаридий (10 инъекций внутрибрюшинно) с последующей реиммунизацией части цыплят последней дозой антигена (6). Антиген готовили в лаборатории из свежих аскаридий и хранили в лиофилизированном виде (1).

Динамику изменений иммуноглобулинов у цыплят при инвазии и иммунизации изучали с помощью ионообменной хроматографии белков сыворотки крови на ДЕАЕ-целлюлозе по предложенной нами модификации метода (3). Метод основан на элюции с колонки семи фракций белков с помощью раствора NaCl со ступенчатым градиентом концентрации. При этом основная часть IgG присутствует в III и IV фракциях, а IgM — в V фракции. Белок во фракциях определяли по оптической плотности раствора при 280 нм. Статистическую обработку полученных данных осуществляли на программируемой микро-ЭВМ-2 "Электроника БЗ-34" (2).

Результаты исследования и обсуждение

Первая оценка изменений белков сыворотки крови зараженных кур основана на определении общего белка.

Так как у опытных цыплят на 2-й день после заражения содержание белка, как общего в сыворотке, так и в каждой из семи фракций, изолированных при ионообменной хроматографии сыворотки, не отличалось от содержания белка контрольных цыплят, то в изложении работы даны только результаты, полученные на 7, 14 и 21-й день после экспериментального заражения. На рис. 1 даны результаты этих определений. Данные этого рисунка показывают, что на 7-й день после заражения у опытных цыплят содержание белка в сыворотке на 29% выше, чем у контрольных. На 14-й день после заражения картина другая: в то время как у контрольных цыплят между 7-м и 14-м днями содержание белка в сыворотке увеличивается на 47%, у зараженных цыплят в этом же интервале времени оно уменьшается и в итоге в их сыворотке содержание белка становится ниже, чем у контрольных цыплят. С 14-го по 21-й день у цыплят как контрольной, так и опытной группы происходит увеличение содержания белка в сыворотке, однако у зараженных птиц, хотя скорость этого роста у них выше, чем у контрольных, белка в сыворотке в итоге содержится меньше, чем у контрольных.

Таким образом, данные рис. 1, а показали, что для оценки гуморального ответа на заражение у цыплят информация о содержании общего белка в сыворотке недостаточна. Для этого требуются детальные сведения о различных белковых компонентах сыворотки, и в особенности об иммуноглобулинах.

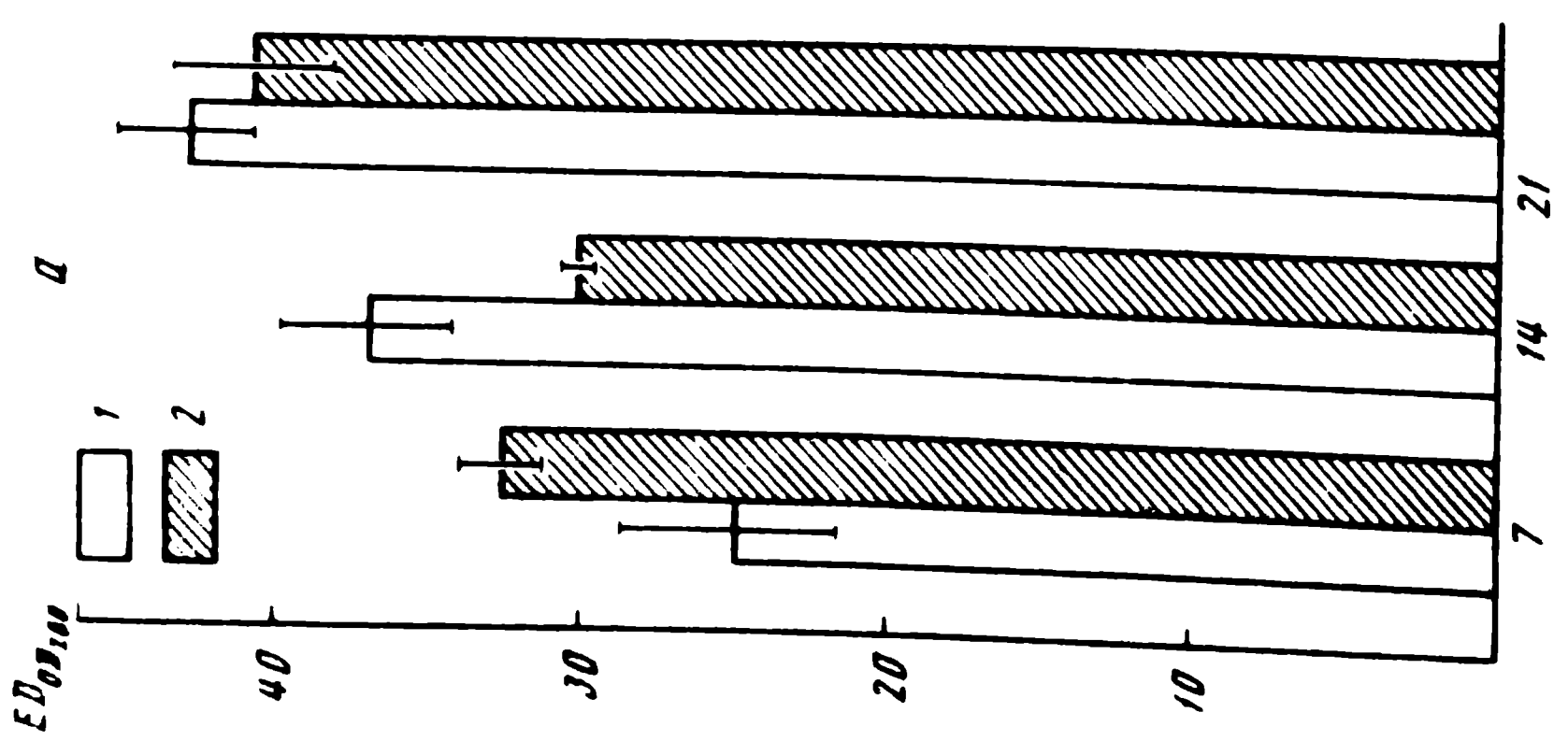
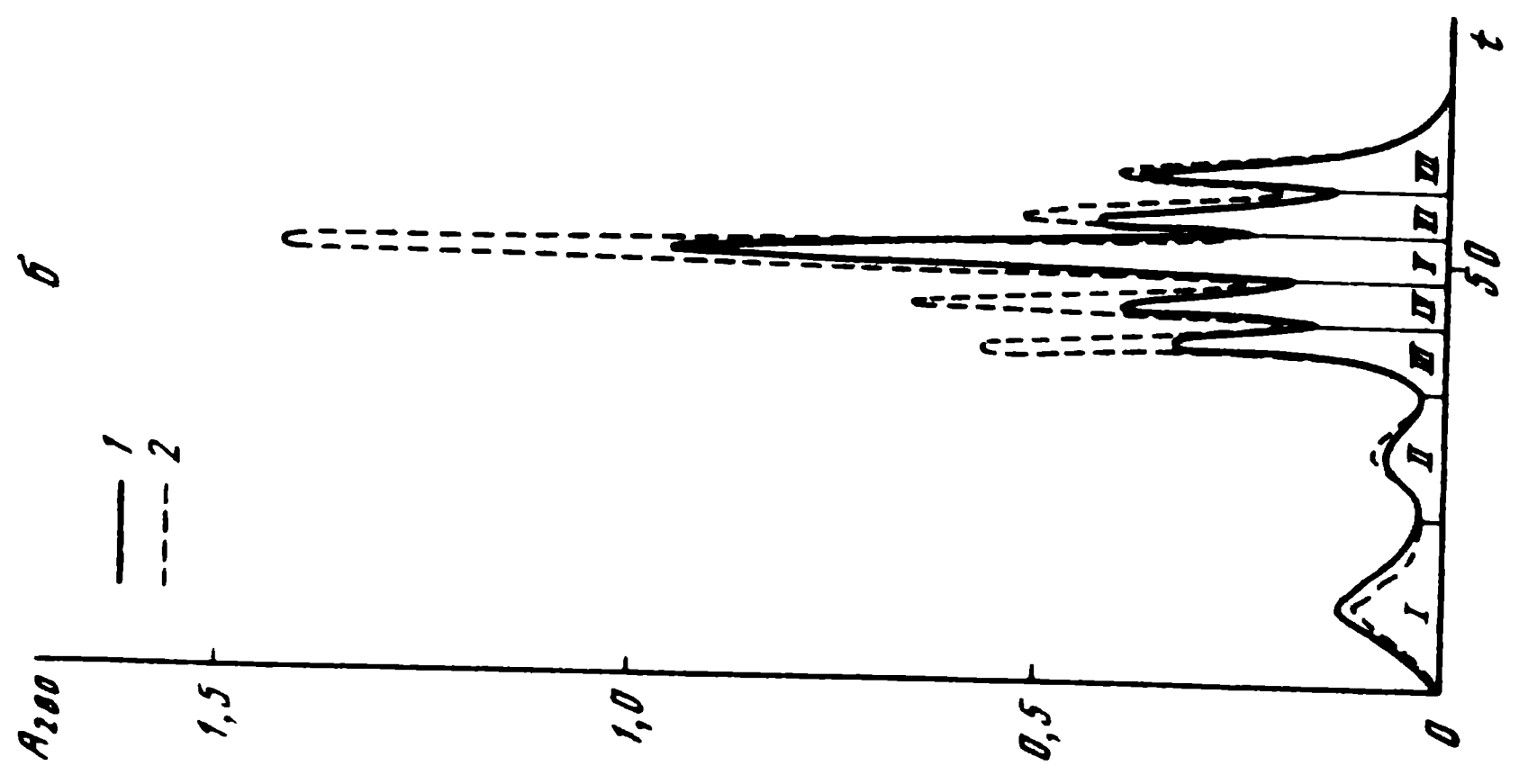
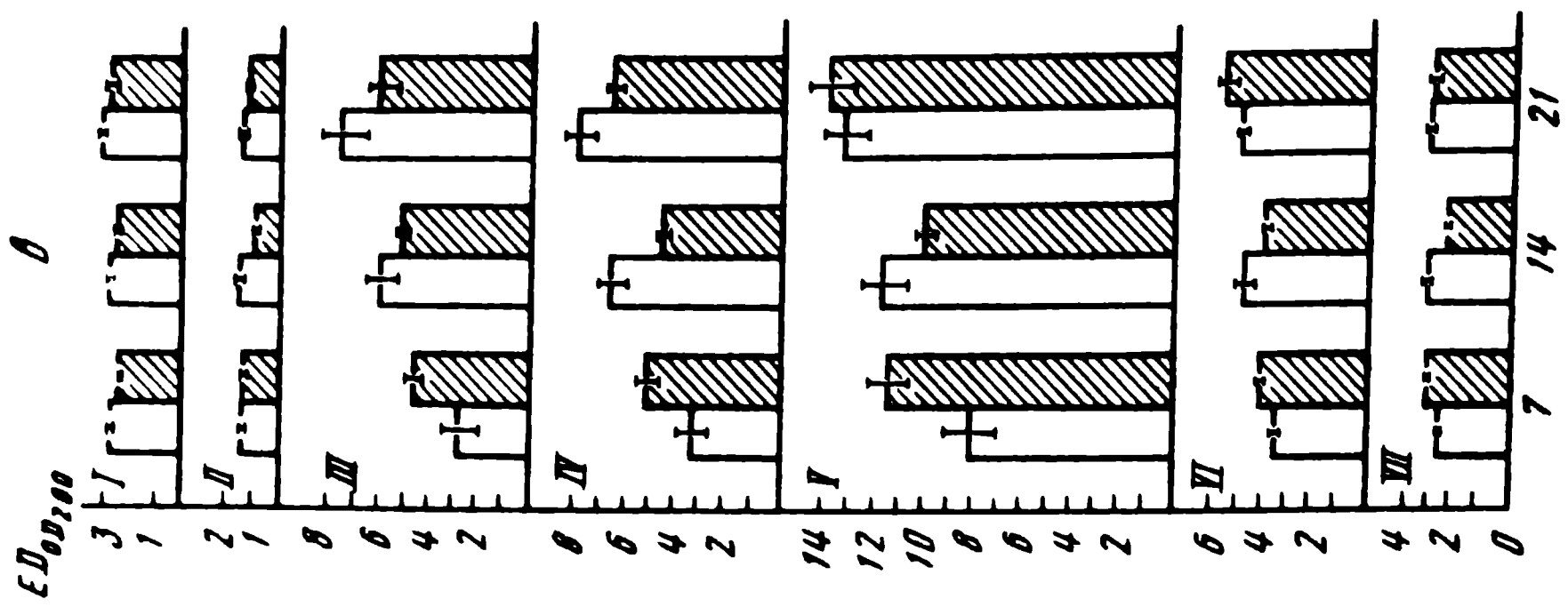
Для этой цели мы провели фракционирование сыворотки кур с помощью ионообменной хроматографии белковых компонентов на колонках с ДЕАЕ-целлюлозой. На рис. 1, б приведены профили элюции белков сыворотки крови контрольных и зараженных аскаридиями цыплят на 7-й день после начала опыта. Такие же кривые элюции были получены для сывороток зараженных цыплят на 14-й и 21-й день после заражения и соответствующих им по возрасту цыплят контрольных групп.

Нами ранее было показано, что при данном методе фракционирования IgG локализованы в основном в III и IV фракциях; "легкие" IgG (5,4S) — в I фракции; IgA — в VI фракции; IgM — в основном в V фракции, где локализованы также альбумины (80%) (3).

Результаты фракционирования сывороток суммированы на рис. 1, в. Они показали, что заражение цыплят аскаридиями не вызывает значимых изменений в I, II, VI и VII сывороточных фракциях ни в один из дней анализа (7, 14, 21-й день после заражения). На содержание белков в других фракциях сыворотки (III, IV и V), наоборот, заражение цыплят влияет, и степень этого влияния разная в зависимости от дня анализа после заражения. Так, например, III и IV фракции, состоящие в основном из IgG, у зараженных цыплят содержат больше белка, чем соответствующие фракции у контрольных на 7-й день после заражения, и, наоборот, меньше, чем у контрольных на 14-й и 21-й день. Характер изменений содержания белка V фракции (IgM + альбумин) по дням у зараженных птиц по сравнению с контрольным следующий: на 7-й день — больше; на 14-й — меньше; на 21-й — больше или равно.

Таким образом, при экспериментальном заражении в организме цыплят наблюдается перестройка гуморального ответа. К 7-му дню после инвазии, что соответствует личиночной стадии аскаридий, пораженный организм вырабатывает значительное количество IgG. В это же время увеличивается и количество белка в V фракции, обогащенной альбуминами, но содержащей и IgM. Поэтому необычное при заболеваниях увеличение содержания альбумина может быть обусловлено именно этим. К 21-му дню происходит выравнивание наступивших в крови изменений практически во всех фракциях. Это совпадает с окончанием тканевой фазы аскаридоза и выходом молодых гельминтов в просвет кишечника (11, 8).

Второй аспект данной работы заключается в исследованиях динамики изменений белков сыворотки крови, в частности иммуноглобулинов класса G при иммунизации



цыпляют антигеном из аскаридий. Для этой цели так же, как в случае заражения цыплят применяли метод ионообменной хроматографии белков сыворотки.

Результаты фракционирования сывороточных белков цыплят после их иммунизации и последующей реиммунизации антигеном из аскаридий представлены соответственно на рис. 2, а и б.

Анализ данных, суммированных на рис. 2, а, показал, что в результате иммунизации наблюдаются изменения белкового состава сыворотки и что эти изменения в разных фракциях проявляются по-разному. Так, например, по содержанию белка I фракция, содержащая "легкие" (5,4S) IgG, II фракция и V фракция, состоящая в основном из альбумина, но содержащая также IgA и IgM, не отличаются от соответствующих фракций сыворотки контрольных (неиммунизированных) птиц. И наоборот, по сравнению с соответствующими фракциями сыворотки контрольных птиц увеличение содержания белка в результате иммунизации наблюдается в III и IV, а также в VI и в VII фракциях. Этот прирост содержания белка более выразителен в III и IV фракциях (соответственно на 87 и 75%), которые, как было показано (3), содержат IgG.

На рис. 2, б приведены результаты фракционирования сыворотки крови цыплят на 7-й и 14-й день после их реиммунизации. Для оценки изменений состава крови в результате реиммунизации на рис. 2, б в качестве контрольных значений содержания белка даны соответствующие величины по фракциям в конце процесса иммунизации. Из сравнения рис. 2, а, б видно, что картина состава крови после реиммунизации резко отличается от таковой после иммунизации и тем более заражения.

Реиммунизация, как известно (10, 7), резко стимулирует синтез иммуноглобулинов, в том числе антител уже к 5-му дню после ее проведения. Подобный эффект мы наблюдали и в наших экспериментах: уже на 7-й и еще более на 14-й день после реиммунизации мы регистрировали значительное повышение содержания белков в III фракции (на 54 и 180% соответственно; см. рис. 2, б). Направление, но не мощность этих изменений соответствует тому, что мы отмечали при экспериментальном заражении цыплят аскаридиями и при их первичной иммунизации антигеном из аскаридий. В отличие от IgG III фракции при реиммунизации птиц значительно слабее синтезируются более зараженные IgG IV фракции: содержание их к 7-му дню даже не достигает уровня IgG соответствующей IV фракции после первичной иммунизации и только к 14-му дню оно незначительно возрастает. Очевидно, синтез этой группы IgG стимулируется при повторной иммунизации значительно слабее, чем при первичной и при заражении.

Особо следует остановиться на "легких" (5,4S) IgG, входящих в состав I фракции. Количество белка этой фракции при заражении не возрастало и возрастало незначительно при первичной иммунизации, в то время как при реиммунизации уровень его возрос на 70% к 7-му дню и на 550% к 14-му дню. Иными словами, реиммунизация стимулирует значительный синтез именно этих иммуноглобулинов. На основании полученных результатов мы не можем судить, к каким именно подклассам IgG относятся специфические антитела, но можно предположить, что они присутствуют в тех фракциях сыворотки, которые претерпевают наибольшие изменения, а именно при экспериментальном заражении и первичной иммунизации — III и IV фракции, при реиммунизации — III и IV и в еще большей мере I фракции.

Таким образом, поступление в организм антигенов одного и того же гельминта, но при разном способе их введения (инвазионные яйца при экспериментальном заражении: инъекции экстракта аскаридий при иммунизации) и на разных стадиях развития гельминта (личинки при заражении: взрослые формы при иммунизации) стимулирует в организме синтез иммуноглобулинов, отличающихся по ряду свойств, хотя и принадлежащих к одному и тому же классу (IgG). Поэтому уровень суммарно выделенных

Рис. 1. Изменение содержания белков сыворотки крови кур при экспериментальной инвазии *A. galli*
а — общий белок на 7, 14 и 21-й день: 1 — К; 2 — *A. galli*; б — профили элюции белков сыворотки с ДЕАЕ-целлюлозы на 7-й день: 1 — К; 2 — *A. galli*, в — фракции белков на 7, 14 и 21-й день; I, II, ..., VII — фракции белков сыворотки крови кур

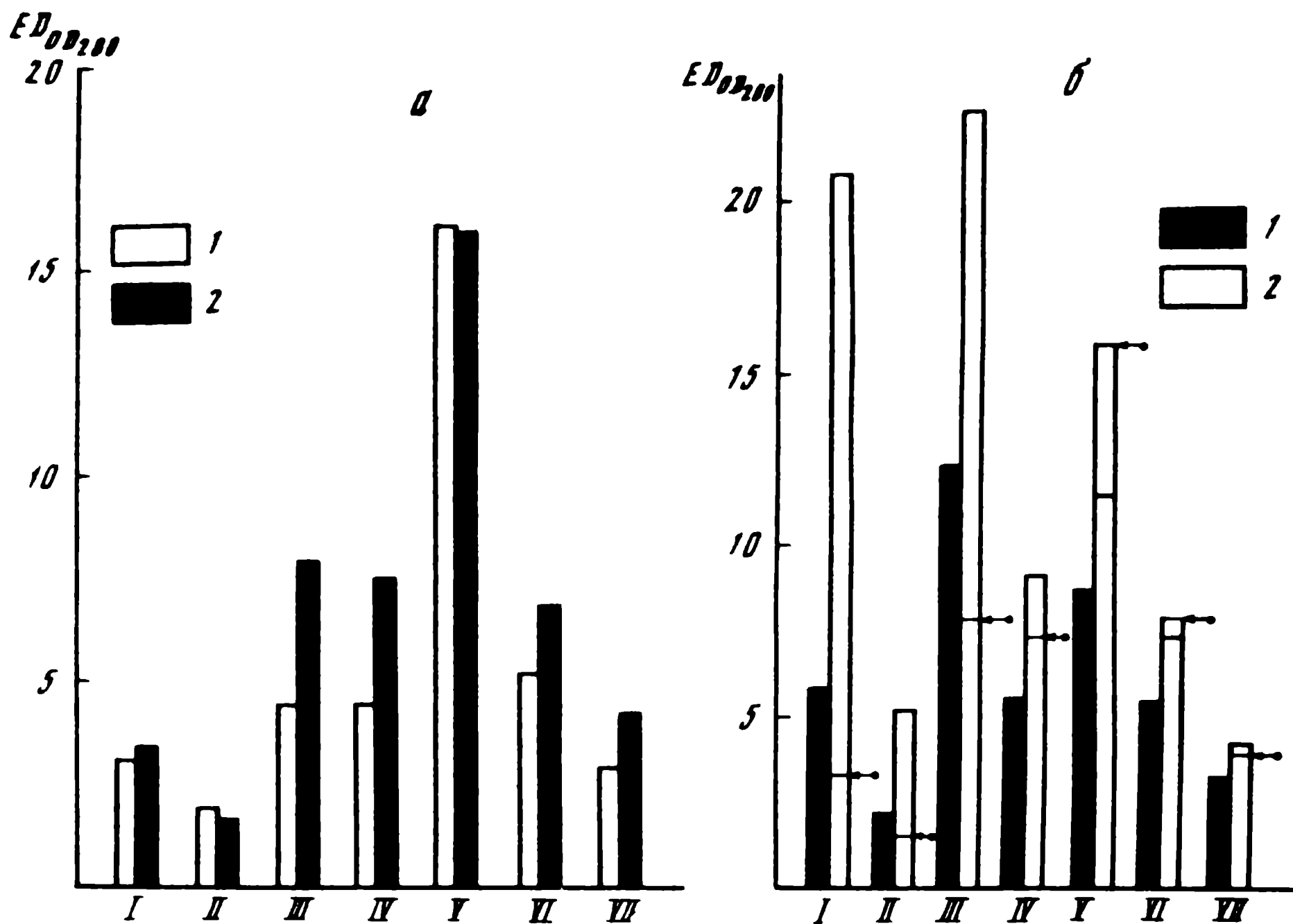


Рис. 2. Изменение содержания белков во фракциях сыворотки крови кур
 а – при первичной иммунизации; б – при реиммунизации экстрактом из *A. galli* на 7 и 14-й день (значком обозначен уровень белков во фракциях при первичной иммунизации: 1 – 7-й день; 2 – 14-й день)

иммуноглобулинов одного и того же класса при гельминтозе не всегда может быть показателем иммунологического сдвига в организме.

Выражаем глубокую благодарность Н.А. Ерановой за приготовление инвазионной культуры, заражение и иммунизацию цыплят.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабянскас М., Медзявичюс А., Эймонтас З. Метод изготовления антигена из гельминтов // *Acta parasitologica Lituanica*. 1977. Vol 15. P. 105–108.
2. Бальчускас Л.П. Математическое обеспечение микро-ЭВМ "Электроника БЗ-34" программы обработки биологических данных. Вильнюс, 1984.
3. Белов А.П., Фаис Д., Леутская З.К. Иммуноглобулины сыворотки крови кур: фракционирование и идентификация. Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина // *Наст. сб.*
4. Леутская З.К. Электрофоретическое исследование белков сыворотки цыплят при формировании иммунитета к *Ascaridia galli* // *Тр. ГЕЛАН СССР*. 1964. Т. 14. С. 128–130.
5. Леутская З.К. Включение метки C^{14} витамина А-спирта в белковые и липопротеидные фракции крови у иммунизированных цыплят // *Докл. АН СССР*. 1969. Т. 185, № 2. С. 449–451.
6. Леутская З.К., Прохорова Л.В. Исследование роли витамина А во взаимоотношениях хозяина и гельминта. Гельминты животных и растений // *Тр. ГЕЛАН СССР*. 1979. Т. 29. С. 89–92.
7. Михайлова А.А., Гурвич А.Е., Петрова Р.В. Влияние ионизирующей радиации на синтез антител и неспецифических γ -глобулинов клетками селезенки мыши // *Вопр. мед. химии*. 1969. Т. 15, № 2. С. 123.
8. Цветаева Н.П. Патоморфология основных гельминтозов птиц. М. Колос. 1971.
9. Leutskaya Z.K., Faiss D. Antibody synthesis stimulation vitamin A in chickens // *Biochim. et biophys. acta*. 1977. Vol 475. P. 207–216.
10. Roszmani T., Slavitsky A.B. // *Nucleic acids in immunology* / Ed. I.J. Plecia W. Broun N.Y. Springer. 1968.
11. Sadun E. // Gonadal hormones in experimental *Ascaridia galli* infection in chickens // *Exp. Parasitol.* 1951. Vol. 1.

БЕЛКИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ

А.П. БЕЛОВ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

При изучении динамики белков сыворотки крови цыплят в системе курица—аскаридия нами было обнаружено, что у животных в контрольной группе, не подвергавшихся воздействию экспериментальной инвазии, через несколько дней после начала эксперимента происходит значительное снижение уровня общего белка, причем в наибольшей степени эти изменения касаются фракций иммуноглобулинов класса G.

Первоначально у нас возникло предположение, что эти изменения связаны с возрастными факторами или отражают воздействие новых условий содержания животных. Для проверки наших гипотез нами была проведена серия опытов по изучению сыворотки крови цыплят в возрастном аспекте.

Целью настоящей работы явилось исследование содержания общего белка, альбуминов и иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови цыплят в зависимости от возраста и разных сроков после их привоза с птицефабрики.

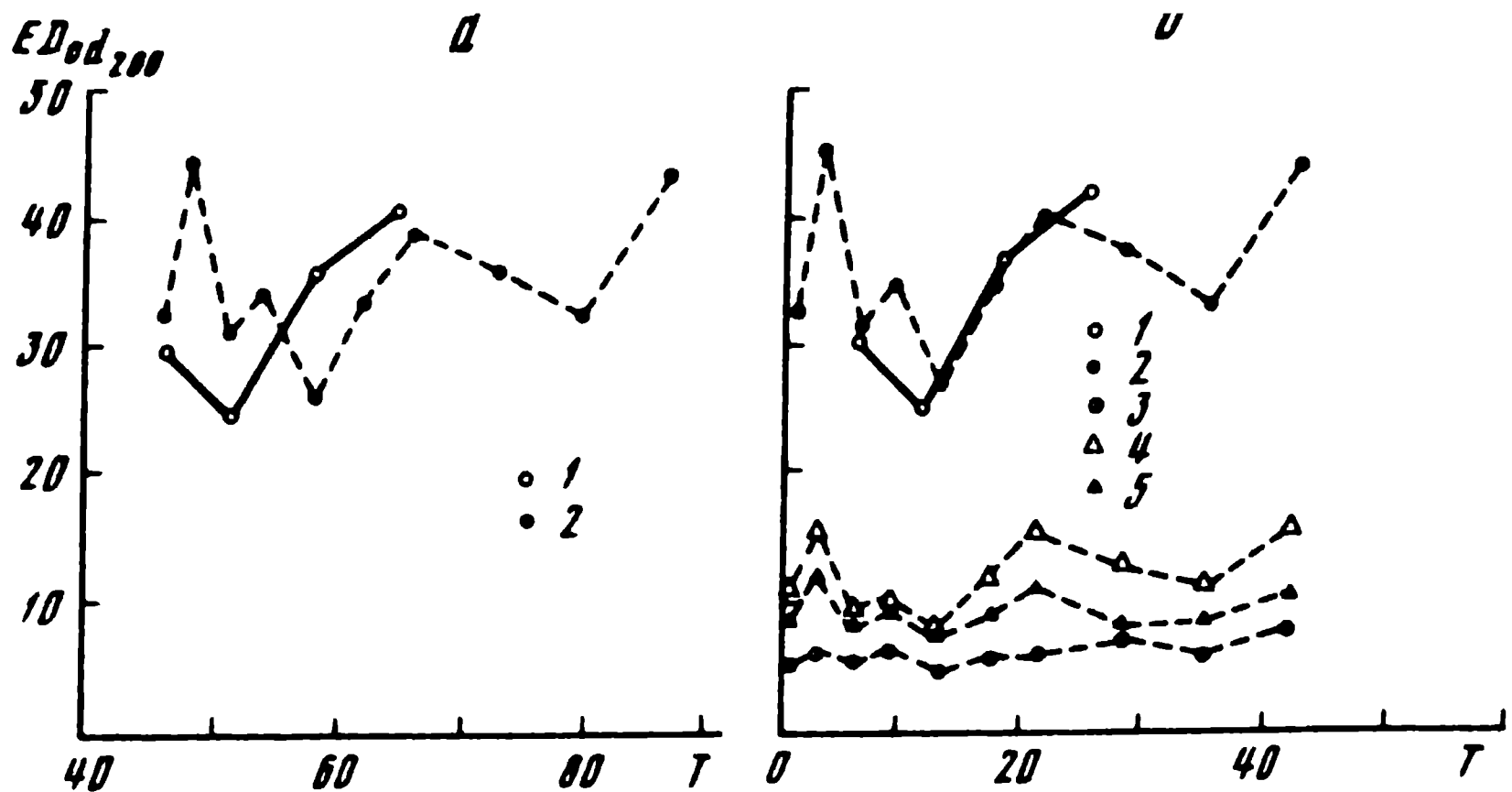
Материалы и методы. Исследования проводились на курах породы белый леггорн, полученных с Томилинской птицефабрики в возрасте 40 (I группа) и 45 дней (II группа). Анализ белков сыворотки крови цыплят проводили на 1, 3, 6, 9, 13, 17, 21, 28, 35 и 42-й день после привоза с птицефабрики. Фракционирование белков сыворотки осуществляли методом ионообменной хроматографии в ступенчатом градиенте NaCl (1), количество белка во фракциях и общий белок сыворотки крови определяли прямым спектрофотометрированием при 280 нм и выражали в единицах оптической плотности (ЕДод₂₈₀) (5).

Результаты и обсуждение. Данные по динамике белка сыворотки крови цыплят из двух разных возрастных групп (I группа — 40-дневные, II группа — 45-дневные) приведены на рисунке (а).

Как видно из представленных данных, у цыплят обеих групп минимальный уровень общего белка в сыворотке крови отмечается в разные дни: в I группе — в возрасте 51 дня; во II группе — в возрасте 58 дней ($24,94 \pm 3,55$ для I, $26,72 \pm 2,14$ для II группы). У этих же групп птиц была исследована динамика содержания общего белка в зависимости от времени с момента их привоза с птицефабрики. Как видно на рисунке (б), у цыплят I и II групп значительное снижение уровня общего белка фактически совпадает во времени и наблюдается на 11–13-й день после привоза.

В дальнейшем как в I, так и во II группе уровень общего белка возрастает к 21-му дню и не очень значительно изменяется в последующие дни опыта (для II группы) — снижение уровня общего белка на 35-й и повышение на 42-й день опыта не достоверны. В наибольшей степени в первые 21 день опыта в сыворотке крови цыплят меняется содержание IgG_2 (иммуноглобулинов класса G, имеющих наибольшую электрофоретическую подвижность к катоду при электрофорезе в агарозе по сравнению с IgG_1). Изменения в уровне альбуминов и IgG_1 менее значительны (см. рисунок, б). Минимальный уровень IgG_1 , IgG_2 и альбуминов наблюдается на 13-й день опыта ($7,80 \pm 1,1$; $4,67 \pm 0,57$ и $7,16 \pm 0,37$). Затем, к 21-му дню уровень этих белков возрастает ($15,26 \pm 4,74$; $5,95 \pm 0,75$ и $11,03 \pm 0,30$), а с 21-го по 42-й день опыта изменения в уровне белков сыворотки крови цыплят незначительны. Динамика отдельных белков сыворотки практически полностью совпадает с изменениями, происходящими в уровне общего белка сыворотки крови в зависимости от времени, прошедшего после доставки цыплят в виварий лаборатории.

Таким образом, изменение условий содержания цыплят резко меняет не только уровень общего белка сыворотки крови, но и синтез иммуноглобулинов класса G, что, несомненно, сказывается на иммунном статусе птиц.



Изменение содержания белков сыворотки крови цыплят

a — общий белок в зависимости от возраста (1 — I группа, 2 — II группа); *б* — общий белок (1, 2), IgG₁ (3), IgG₂ (4) и альбумины (5) в зависимости от сроков после привоза (n = 5)

В работах Болотникова с соавт. (2) приводятся данные по изменению состава сыворотки крови при одноразовом воздействии на организм кур тепловой экспозиции. В этих исследованиях изучение динамики белков сыворотки крови после воздействия стресс-факторов рассматривалось в довольно узком временном интервале.

Полученные нами данные дают возможность предполагать, что изменения, происходящие в содержании белков сыворотки крови цыплят, являются отражением приспособительных реакций организма на воздействие неблагоприятных факторов. Неблагоприятными факторами в нашем случае могут быть изменения условий содержания животных (температура, влажность, освещение, режим кормления), стрессовое воздействие отлова перед транспортировкой и сама транспортировка, перегруппировка в стаде. Вполне вероятно, что подобные изменения в содержании белков сыворотки крови у цыплят вызваны синдромом общей адаптации (4, 6), поскольку привыкание организма к воздействию факторов внешней среды сопровождается изменением активности синтеза нуклеиновых кислот и белков, и что именно эти процессы лежат в основе адаптации (3).

Данные, полученные нами, позволяют сделать важный вывод о необходимости определения карантинного периода для каждого типа животного перед началом экспериментов, направленных на изучение вопросов приживаемости гельминтов, иммунитета при гельминтозах и т.д., для того чтобы не исказить картину взаимоотношений в системе паразит-хозяин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белов А.П., Флис Д., Леутская З.К. Иммуноглобулины кур фракционирование и идентификация // Наст. сб. 1988.
2. Болотников И.А., Михкеев В.С., Олейник Е.К. Стресс и иммунитет у птиц. Л.: Наука, 1983. 118 с.
3. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука, 1981. 280 с.
4. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медицина, 1960. 254 с.
5. Скоупс Р.К. Методы очистки белков. М.: Мир, 1985. 358 с.
6. Ould P., Welch H.E. The effect of stress on the parasitism of mallard ducklings by *Echinuria uncinata* (Nematoda: Spirurida) // Can. J. Zool. 1980. Vol. 58, N 2. P. 228–234.

К ВОПРОСУ О РОЛИ КАДАВЕРИНА В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ

Е.А. ДРЮЧЕНКО, Н.А. ЕРАНОВА, З.К. ЛЕУТСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Резистентность животных к гельминтам определяется рядом факторов и тесно связана с проблемой приживаемости паразитов, регуляцией их численности. Сейчас можно считать доказанным, что ведущая роль в этом процессе принадлежит иммунологическим реакциям. Изгнание гельминтов, по мнению большинства авторов, изучавших этот феномен, синхронизировано с острой вспышкой активности тучных клеток, с изменением проницаемости клеточных мембран, с повышением содержания биологически активных веществ как в тканях, так и в сыворотке крови зараженных гельминтами животных. Ранее нами было показано, что у инвазированных животных наблюдается индукция процесса образования биологически активного амина — кадаверина, и было высказано предположение, что это увеличение может быть обусловлено развитием иммунологического процесса. Эти исследования были выполнены на модели аскаридия—курица (2). Целью настоящей работы явилось изучение влияния иммунизации кур на активность процесса образования кадаверина в тканях кишечника и печени опытных животных.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на цыплятах породы леггорн, иммунизированных либо 10 инъекциями возрастающими дозами антигена из аскаридий, либо вирусом табачной мозаики в течение месяца. Реиммунизацию проводили последней дозой соответствующего антигена через два месяца после иммунизации. Использование двух антигенов было вызвано тем, что они обладают разной иммуногенностью и ожидаемые иммунологические реакции организма на их введение должны быть разными. Исследования проводились на 5, 7, 14 и 21-й день после реиммунизации.

Цыплят забивали методом декапитации, активность лизиндекарбоксилазы определяли в тканях кишечника и печени кур. Ткани замораживали, гомогенизировали в физиологическом растворе, центрифугировали при 4°С и 10 000 g. Для выделения ферментов был использован метод фракционирования сернокислым аммонием. Активность лизиндекарбоксилазы определяли модифицированным методом Дубина (6), основанным на спектрофотометрическом определении 2,4-динитро-1-фтор-производного кадаверина, экстрагированного хлороформом. Инкубационная смесь состояла из 1 мл 0,01 М фосфатно-цитратного буфера, 5,4 мкМ лизина, 40 мкМ пиридоксальфосфата и 0,5 мл экстракта ткани. Активность фермента выражали в количестве кадаверина (в нМ), образованного за 1 ч инкубации в расчете на 1 мг белка. Белок определяли по методу Лоури (8).

Результаты исследований и обсуждение

Как видно из приведенных в таблице данных, иммунизация цыплят антигеном из аскаридий (АГА) и вирусом табачной мозаики (ВТМ) приводит к увеличению активности фермента лизиндекарбоксилазы (т.е. к активации процесса образования кадаверина) по сравнению с контролем в тканях кишечника и печени. Нами были взяты для исследования именно эти ткани, так как печень является местом активного синтеза многих белков, а кишечник богат лимфоидными тканями и участвует в формировании гуморального иммунитета.

Исследования активности ЛДК проведены на 5, 7, 14 и 21-й день после реиммунизации. Нами ранее было показано, что при иммунизации и реиммунизации кур антигеном

**Влияние реиммунизации различными антигенами
на активность лизиндекарбоксилазы кишечника и печени кур (нМ/мг белка)**

№ опы-та	Дни после реиммуни-зации	Контрольные			АГА*		ВТМ**		
		число живых	активность ЛДК***		активность ЛДК***		число живых	активность ЛДК***	
			кишечник	печень	кишечник	печень		кишечник	печень
1	5-й день	6	0,56 ± 0,12	0,43 ± 0,1	2,1 ± 0,3	1,1 ± 0,5	6	1,74 ± 0,97	0,5 ± 0,3
2	7-й "	6	Следы	0	3,6 ± 0,7	6,1 ± 2	4	2,98 ± 0,9	0
3	14-й "	4	"	0	0,6	3,2	4	0,2	1,05
4	21-й "	4	"	0	0	2,7	3	0,3	—

*АГА — антиген, выделенный из гомогената аскаридий.

**ВТМ — вирус табачной мозаики.

***ЛДК — лизиндекарбоксилаза (1.4.3.4).

из аскаридий максимум синтезированных специфических антител наблюдается на 14-й день (3, 7). К 7–14-му дню возрастает и количество в сыворотке крови как иммунизированных, так и реиммунизированных кур (4). Однако активация процесса синтеза антител при реиммунизации наблюдается уже к 5-му дню (5, 10). Как видно из таблицы, максимальное значение активности ЛДК отмечается в общих случаях (иммунизация АГА и ВТМ) на 7-й день реиммунизации цыплят, т.е. в период активации процесса синтеза иммуноглобулинов и специфических антител, в частности. Затем, к 14-му дню после реиммунизации, когда происходит накопление гумморальных антител и спад синтетического процесса, активность ЛДК (т.е. синтеза кадаверина) идет на убыль. Причем в печени и в кишечнике активность этого процесса больше в случае иммунизации цыплят характерным для них, хотя и менее иммуногенным, антигеном (АГА). При иммунизации АГА эти изменения более выражены в печени цыплят, в то время как в случае иммунизации ВТМ печень реагирует слабее, чем кишечник.

Есть предположение, что в организме кур существует две иммунологические системы — бурсозависимая, реагирующая на "знакомые" в предыдущих поколениях антигены, и бурсонезависимая, реагирующая на антигены, встречающаяся впервые (1). Вполне возможно, что ранняя реакция ЛДК на иммунизацию цыплят разными антигенами каким-то образом связана с иммунологической реакцией разных иммунных систем в организме хозяина. Чтобы ответить на этот вопрос, мы определили в сыворотке крови этих цыплят количество общего белка, иммуноглобулинов и специфических антител. Оказалось, что при иммунизации цыплят АГА на 7, 14 и 21-й день количество общего белка было 10,5; 7,5 и 7,5 EDog₂₈₀ соответственно, в то время как при ВТМ — 7; 6,5 и 3,4 EDog₂₈₀. Количество иммуноглобулинов в сыворотке было примерно одинаково при иммунизации обоими антигенами. Количество специфических антител распределялось следующим образом; при АГА на 7, 14 и 21-й день — 0,55, 0,37 и 0,2 мг/мл, а при ВТМ — 0,925; 1,1 и 0,25 мг/мл соответственно.

Таким образом, в результате проделанной работы отмечается четкая зависимость между повышением активности ЛДК и нарастанием иммунологической активности. Однако эти изменения различны и зависят как от типа иммуногенного начала, так и от иммунного ответа хозяина. Как видно из таблицы, изменения ЛДК в печени отмечаются в большей степени при иммунизации АГА и коррелируют с повышением (по сравнению с ВТМ) синтеза общих белков крови. Что же касается активности ЛДК в ткани кишечника, то нарастание ее активности по дням после реиммунизации находится в обратной связи с количеством синтезируемых с разным антигеном специфических антител. Это может быть обусловлено тем, что степень участия разных иммунологических органов в синтезе гумморальных антител к разным антигенам — даже при одинаковом способе их введения (парентерально) — может быть разной. И в таком случае роль кишечной лимфоидной ткани в нашем эксперименте при иммунизации может

значительно отличаться при иммунизации АГА и ВТМ. Какова же возможная роль кадаверина в иммунологическом процессе? Ранее (2) нами была рассмотрена возможная роль кадаверина как одного из факторов, влияющих на увеличение проницаемости клеточных мембран, а также создание путей между эпителиальными клетками для проникновения секреторных антител. Однако увеличение образования кадаверина может быть связано с увеличением синтеза полиаминов (спермина, спермидина) – биологически активных соединений, играющих определенную роль в синтезе белка. Как известно, в норме синтез полиаминов осуществляется через путресцин. В последние годы появились работы, свидетельствующие о наличии в клетках млекопитающих такого компенсаторного механизма (9, 11).

Поскольку известно, что при гельминтозах в месте локализации паразита наблюдается стремительное выделение огромного количества антипаразитарных антител, наблюдаемая в наших экспериментах активация процесса образования кадаверина при заражении и иммунизации может объясняться необходимостью увеличения уровня полиамина, который обеспечивает максимальный синтез антител в короткий промежуток времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болотников И.А., Михкеева В.С., Олейник Е.К. // Стресс и иммунитет у птиц. М.: Наука, 1983. С. 29–42.
2. Дрюченко Е.А., Голикова Л.С. Влияние аскаридной инвазии на образование кадаверина в тканях цыплят // Вопросы биоценологии гельминтов. М.: Наука, 1986. С. 40–44.
3. Леутская З.К. Исследование роли витамина А в иммуногенезе при гельминтозах на примере изучения искусственной иммунизации цыплят к аскаридиям. Исследования по систематике, жизненным циклам – биохимии гельминтов // Тр. ГЕЛАН СССР. 1975. Т. 25. С. 71–90.
4. Леутская З.К., Белов А.П., Фаис Д. Изучение иммуноглобулинов крови кур при аскаридозе // Наст. сб. 1988.
5. Михайлова А.А., Гураич А.Е., Петрова Р.В. Влияние ионизирующей радиации на синтез антител и неспецифических глобулинов клетками селезенки мыши // Вопр. мед. химии. 1969. Т. 15, № 2. С. 123.
6. Dubin D. The assay and characterization of amines by means of 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) // J. Biol. Chem. 1960. Vol. 235, N 3. P. 783.
7. Leutskaya Z.K., Fais D. Antibody synthesis stimulation vitamin A in chickens // Biochim. et biophys. acta. 1977. Vol. 475. P. 207–216.
8. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, N 1. P. 265–267.
9. Pegg A.E., Coward J.K. Inhibition of aminopropyltransferases // Advances in polyamine research. 1981. P. 153–163.
10. Roszmann T., Stavitsky A.B. // Nucleic acids in immunology / Ed. L.J. Plescia, W. Broun. N.Y.: Springer, 1970.
11. Williams-Ashman H.G., Schenone. Methyl glyoxal bis 3(guanyl hydrazone) as potent inhibitor of mammalian and yeast S-adenosylmethionine decarboxylases // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1972. Vol. 46, N 1. P. 288.

УДК 576.895.132

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ НЕМАТОД РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Т.Г. КОЛОСКОВА, О.А. ШИШОВА-КАСАТОЧКИНА

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Протеиназы – ферменты, осуществляющие гидролиз белков, – делятся на экзо- и эндопептидазы. Место приложения действия первых – концевые участки полипептидной цепи, вторых – внутренние участки цепи. Если классификация экзопептидаз может основываться на их субстратной специфичности, то специфичность эндопептидаз слишком сложна и не может быть использована в качестве критерия при их классификации. Наиболее удобно систематизировать эти ферменты по механизму каталитического

действия. В зависимости от структуры основной каталитической группы эндопептидазы разделяются на четыре класса: сериновые, тиоловые, карбоксильные, металлсодержащие. К пятому классу отнесены все прочие пептидазы, которые нельзя отнести ни к одному из четырех основных классов.

Как известно, биологическая эволюция развивается от более простого к более сложному уровню организации, и поэтому весьма вероятно, что протеиназы, выполнявшие поначалу только пищеварительные функции, постепенно приспособились к выполнению более специфических и сложных задач физиологической регуляции. Они приобрели высокую степень специализации вплоть до ограничения своего действия разрывом определенных пептидных связей, находящихся на определенной стороне одного специфического белкового субстрата. Такой ограниченный протеолиз не разрушает белковый субстрат, но изменяет его свойства и физиологическую роль. Многие физиологические процессы регулируются именно таким типом действия протеиназ, например свертывание крови и фибринолиз, освобождение гормонов из неактивных предшественников, транспорт секреторных белков через мембраны, трансформация клеток, воспроизведение и т.д.

Регуляторная функция протеолитических ферментов осуществляется также внутриклеточным протеолизом, играющим важную роль в кругообороте белков в организме. Внутриклеточный протеолиз происходит преимущественно в лизосомах, удельный вес которых в деградации белков составляет около 40%. В лизосомах обнаружено большое количество различных эндо- и экзопептидаз из всех классов протеиназ. Большая часть лизосомальных ферментов имеет рН-оптимум при кислой реакции среды и обычно объединяется под общим названием "катепсины", которые обозначаются буквами латинского алфавита: А, В, С, D, Е и т.д. в зависимости от субстратной специфичности и оптимального значения рН.

В настоящее время изучению катепсинов из разных органов и тканей животных посвящено много работ (33, 35, 38, 49, 53). Изучена субстратная специфичность многих катепсинов, определены оптимумы рН, влияние различных активаторов и ингибиторов (11, 12, 28, 60).

Изучение связи структуры и функции ферментов дает дополнительные сведения об их происхождении и эволюции, в связи с этим значительный интерес для сравнительной биохимии представляет изучение протеолитических ферментов у беспозвоночных. По мнению Нейрат (45), изучая ферменты с полностью аналогичными функциями у представителей животных различных родов и видов, можно построить филогенетические ряды, которые совпадают с рядами, построенными на основании таксономических доказательств. В связи с этим нам представляется интересным привести некоторые данные по изучению протеолитических ферментов гельминтов.

Утрата пищеварительного канала в процессе адаптации к паразитизму наложила свой отпечаток на строение и функции поверхностного слоя (тегумента) цестод. Последний служит не только как защитная оболочка, но главным образом как метаболически активный слой, через который абсорбируются пищевые вещества. Электронно-микроскопические исследования показали сложное строение тегумента цестод, который морфологически и функционально аналогичен слизистой кишечника позвоночных, которая, как известно, выполняет функцию всасывания, а также функцию синтеза и выделения некоторых пищеварительных ферментов (14).

В отношении наличия протеиназ у цестод в литературе имеется мало сведений, и они достаточно противоречивы. Смородинцев и Бебечин (57) обнаружили в экстрактах цестод *Taenia saginata* и *T. solium* трипсин, пепсин и катепсин. Разделение протеиназ авторы проводили, исходя только из оптимумов рН расщепления естественных субстратов: казеина и желатины. Одни исследователи обнаруживали низкую протеолитическую активность у ряда видов цестод (48), другие считают, что у цестод протеолитические ферменты не обнаруживаются (5). В работе Дубовской (4) показано, что цестоды *Triacnophorus nodulosus*, *Eubothrium rugosum* от рыб, *Moniezia expansa*, *Dyphyllobothrium latum* от млекопитающих *D. dendriticum* и *Schistocephalus solidus* от птиц облада-

ют протеолитической активностью. При этом автор наблюдал адаптацию активности протеиназ гельминтов к интенсивности обмена хозяина, а также участие протеолитических ферментов цестод в мембранном пищеварении.

В сколексе спарганума *Spirometra erinacei* Ква (37) обнаружил протеолитический фермент, который, по мнению автора, выполняет гистолитическую роль при проникновении спарганума через ткани кишечника и коллагеновые волокна промежуточного хозяина. Еренская (6) указывает, что при сохранении способности проводить гидролиз белка у *D. latum* снижена активность протеиназ типа трипсина. Матчаши и Юхач (44) показали наличие химотрипсиноподобного фермента в гомогенатах плероцеркоидов и взрослых форм цестод *Ligula intestinalis*, причем активность ферментов у взрослых форм была значительно выше, чем у личинок. В более поздней работе Матчаши и Немец (43) описали выделение протеолитического фермента из плероцеркоидов лигулы методом гель-фильтрации через Сефадекс Г-100. При разделении было получено два пика активности, первый связан с высокомолекулярными веществами, другой является свободной формой и имеет молекулярную массу 60 000—65 000. Фермент имел оптимум pH 7,4—7,8, активировался ионами Ca^{2+} , Mg^{2+} и Mn^{2+} и ингибировался ионами Cu^{2+} . Авторы сообщают, что фермент расщеплял синтетический субстрат БТЭЭ, специфичный для химотрипсина и инактивировался после 30 мин инкубирования при 56°С. Фенилметилсульфонилфлюорид подавлял активность этого фермента.

Показано отсутствие протеолитических ферментов в онкосферах *T. saginata* (30). Возможно, что в этом случае был применен низкочувствительный метод определения.

Как уже отмечалось, протеиназы цестод являются наименее изученными по сравнению с протеиназами трематод и нематод. Сведения по этому вопросу противоречивы.

У трематод гидролитические ферменты, выделяемые кишечными клетками играют значительную роль в расщеплении тканей хозяина. Кишечник трематод обладает ферментами, которые выделяются эпителиальными клетками, причем наблюдаются определенные циклы секреции и абсорбции (54). Впервые Тиммс и Бюдинг (61) нашли кислую гемоглобинолитическую протеиназу у трематод *S. mansoni*, паразитирующих в крови позвоночных. Сенфт (54) наблюдал более интенсивное расщепление трематодами *S. mansoni* глобина по сравнению с белками сыворотки крови. Авторы достигли частичной очистки фермента осаждением из экстракта этанолом в концентрации от 50 до 75%, что давало повышение специфической активности в 7—9 раз. В более поздней работе Зауер и Сенфт (52) сообщили о выделении и 71-кратной очистке глобинолитической протеиназы из гомогенатов лиофилизированных трематод *S. mansoni*. Молекулярная масса фермента 27 000, а оптимум pH переваривания глобина был в пределах 3,9—4,5. Позднее с помощью афинной хроматографии на Сефарозе 4В, активированной бромцианом, была выделена кислая протеиназа гемоглобиназа с молекулярной массой 27 000—32 000 и оптимумом pH 4,0 (23). Активность фермента повышалась в присутствии соединений, содержащих SH-группы, кроме того, фермент обладал способностью активировать трипсиноген и не активировал химотрипсиноген. В присутствии детергента Тритона X-100 экстракция фермента увеличивалась, что говорит о его связи с мембранами. В заключение авторы высказали предположение, что изучаемый фермент подобен катепсину В позвоночных. При дальнейшем изучении (16) методом гель-хроматографии и изoeлектрического фокусирования в гомогенатах половозрелых трематод было обнаружено по крайней мере пять казеинолитических и четыре азоколлитических протеиназы. Кроме того, найдены три аминоксептидазы, из которых одна оказалась иминопептидазой. В дальнейшем методом флуоресцентной гистохимии было обнаружено, что именно кишечный эпителий является тем местом, где образуются кислые протеиназы, участвующие в переваривании гемоглобина у *S. mansoni* (17). Методом электрофореза в полиакриламидном геле выявлены две протеиназы с молекулярной массой 32 500 и 28 500 (20).

У шистозом *S. japonicum* было показано наличие кислой протеиназы, расщепляю-

щей глобин человеческого гемоглобина, с оптимумом pH 4,0, молекулярной массой — 31 000 и изоточкой — 4,4—6,0 (63).

Обнаружено наличие в экстрактах и гомогенатах *F. hepatica* протеолитической активности с максимумом pH около 2,0 (41). Авторы считают, что фасциолы выделяют протеолитический фермент через ротовую присоску и таким образом расщепляют белки окружающих тканей. В работе Чепмен и Колс (19) показано наличие ряда гидролитических ферментов в содержимом кишечника *F. hepatica*, в том числе протеолитический фермент с оптимумом pH 3,6, который расщеплял глобин активнее, чем глобулин и альбумин. В работе болгарских исследователей (50) описано выделение и частичная очистка методами гель-хроматографии и афинной хроматографии на активированной Сефарозе 4В протеолитического фермента из *F. hepatica*. Показано, что ряд специфических ингибиторов, таких, как пепстатин, диазоацетилнорлейцин, ингибитор из *A. suum*, подавляют активность фермента, в то время как ряд одно- и двухвалентных ионов металлов, ЭДТА и меркаптоэтанол не оказывали ингибирующего влияния. Полученные результаты позволили авторам отнести протеиназу из *F. hepatica* к группе карбоксипроteinаз. Однако в работе Хайду и соавт. (31) описывается протеолитический фермент из экстракта *F. hepatica* активный в щелочной среде при pH 8,0. Фермент расщеплял синтетические субстраты ВАЭЭ и ВТЭЭ, специфичные для химотрипсиноподобных ферментов.

Другие виды трематод являются менее изученными в отношении протеиназ. Руповой и Оссияковским (51) с помощью гель-хроматографии и ионообменной хроматографии проведена частичная очистка и изучены некоторые свойства протеиназы *Paramphistomum microbothrium*. С помощью афинной хроматографии на антитрипсин-Сефарозе 4В и ДЭАЭ-целлюлозе получен протеолитический фермент из легочной трематоды *Paragonimus westermani* с оптимумом pH 3,9 и молекулярной массой около 30000 (32). Активность его ингибировалась соевым ингибитором трипсина, химостатином, лейпептином и антипаином, однако пепстатин не давал выраженного ингибирующего эффекта. По ряду параметров фермент похож на катепсин Д, но отсутствие ингибирования пепстатином говорит о том, что это не катепсин Д, а специфический для этого вида трематод протеолитический фермент со своими особыми свойствами.

Протеолитическая активность была обнаружена у личиночных форм трематод (32, 21, 24, 56). Газинелли, Ромальо-Пинто (26) изучали протеолитическую активность экстрактов лиофилизированных церкарий *S. mansoni* и проводили фракционирование протеолитического комплекса, входящего в этот экстракт. Оказалось, что в изучаемых экстрактах имеется несколько протеолитических ферментов. В дальнейшем было установлено (22), что протеиназы церкарий являются сериновыми с молекулярной массой около 27 000. Эти ферменты имеют оптимум pH в щелочной области, не активируются сульфгидрильными реагентами, сходны с протеиназами позвоночных по влиянию на них специфических ингибиторов. По-видимому, эти ферменты функционируют в момент проникновения церкарий через покровные ткани хозяина, гидролизуют белки этих тканей.

В яйцах *S. mansoni* также имеются протеолитические ферменты, причем максимальная их активность находится в кислой области pH (4,8—5,2). Фермент нуждается в стимуляции тиоловыми соединениями и имеет молекулярную массу 25 000—26 000. Применение ингибиторов показало, что фермент относится к классу тиоловых и имеет сходство с катепсином В. По мнению авторов (15), эта протеиназа может участвовать в различных процессах: поглощение питательных веществ яйцами или спороцистами, проникновение яиц или мирацидиев через ткани хозяина и др.

Таким образом, протеолитические ферменты, безусловно, играют важную роль в жизнедеятельности трематод, причем в течение жизненного цикла имеет место смена одних ферментов на другие в зависимости от выполняемой ими функции.

В отличие от других паразитических червей нематоды имеют сквозной кишечник, что в процессе эволюции явилось важнейшей морфологической предпосылкой для усовершенствования физиологии пищеварения. Только при сквозном кишечнике, когда

пищевые массы движутся в одном направлении, создается возможность разделить кишечник на зоны с различными фазами переваривания и обеспечить целиком полостное пищеварение, которое у нематод начинается еще в ротовой полости под действием ферментов фарингеальных желез. Однако главная фаза переваривания и всасывания пищи имеет место в средней кишке, которая представляет собой простую трубку из одного слоя клеток, за счет которых осуществляются все этапы переваривания и всасывания пищи. С одной стороны, это указывает на относительную примитивность организации энтодермального отдела пищеварительного тракта нематод, с другой — предполагает высокую физиологическую активность клеток.

Клетки средней кишки на апикальной поверхности снабжены микровиллями, образующими сплошную щеточную каемку. Структурно клетки средней кишки мало отличаются друг от друга, хотя одни из них являются главным образом всасывающими, а другие — секретирующими. Все типы клеток снабжены микровиллями и сначала функционируют как всасывающие. На определенном этапе клеточного цикла они начинают активно секретировать мерокринным или голокринным способом и погибают, выпадая в просвет кишечника. Пищеварение протекает в просвете кишечника и контактно на поверхности микровиллей, где сосредоточена максимальная энзиматическая активность. У многих нематод в клетках средней кишки найдены лизосомы, а у некоторых форм — пищеварительные вакуоли, свидетельствующие о наличии внутриклеточного пищеварения (2, 3).

О протеолитических ферментах нематод в литературе имеется значительное количество сообщений, причем указывается, что протеиназы могут иметь различное биологическое значение для их жизнедеятельности. Одни ферменты играют существенную роль в акте проникновения гельминтов через неповрежденные кожные покровы и ткани различных органов хозяина, вторые — способствуют разрушению прежних структур нематод при метаморфозе, третьи — выделяются наружу для внекишечного переваривания и, наконец, четвертые — служат для кишечного пищеварения. Поэтому в настоящей статье ограничимся рассмотрением современных данных о протеолитических ферментах, участвующих в пищеварении нематод.

Ли (39, 40) проанализировал имеющиеся в литературе сведения о протеолитических ферментах нематод и пришел к заключению, что количественное содержание гидролитических ферментов в кишечном тракте гельминтов связано с экологическими условиями, в частности с характером питания. Нематоды, питающиеся кровью и тканями хозяина, имеют более активные гидролитические ферменты по сравнению с нематодами, питающимися содержимым кишечника хозяина. Считалось, что протеиназы гельминтов, в частности нематод, имеют триптическую, а не пептическую природу, однако этот вывод нельзя было считать доказанным, поскольку активность протеиназ исследовалась в узкой области pH (от 6 до 9) и не применялись специфические субстраты и ингибиторы.

Исключение составляла работа Ниммо-Смита и Килинга (46), которые изучали протеиназы нематоды *Trichiuris muris* в широком диапазоне pH. Они обнаружили, что максимальная активность протеиназ в отношении казеина и гемоглобина лошади проявляется при pH 2,7–3,5. Кроме того, гидролиз казеина в присутствии мочевины характеризовался вторым максимумом при pH 4,8. При pH > 6 гидролиз полностью отсутствовал. В этой работе приведены данные по влиянию на протеолиз различных ингибиторов и активаторов. Было показано, что цианид в концентрации 10^{-2} не оказывал влияния на активность протеиназ гельминтов, в то время как цистеин ингибировал протеолиз. Исходя из характеристик pH ферментов *T. muris*, авторы отнесли протеиназы этих гельминтов к катепсинам, не проводя конкретной идентификации.

Мажуга (9, 10) изучала активность и свойства частично очищенных протеиназ нематод *A. suum* и *As. galli*. Для обоих видов нематод показано наличие оптимума pH протеиназ в кислой области (от 2,8 до 3,5). Ферменты изучаемых видов не расщепляли синтетические субстраты, специфичные для трипсина и химотрипсина, и хорошо расщепляли субстрат, специфичный для катепсина А. Сульфгидрильные соединения

не увеличивали активность протеиназ, что дало основание автору сделать вывод о наличии у названных нематод протеолитических ферментов, подобных катепсинам А и Д позвоночных животных (катепсины А и Д действуют синэргически). Автором, однако, не были изучены нематоды, питающиеся кровью и тканями животных.

Японские исследователи (47) показали, что фермент нематоды *Ancylostoma caninum* гидролизует как денатурированный, так и нативный гемоглобин, оптимум pH ферментативной активности был 4,3—4,4. Активность ингибировалась ионами меди, цинка, ртути и трехвалентного железа, но стимулировалась ионами двухвалентного железа. Кроме того, активность возрастала под действием цистеина и снижалась при добавлении модацетата и бромацетата, что дало авторам основание считать фермент тиоловой протеиназой. В работе Болла и Вейнштейна (18) описаны изменения активности идентифицированного ими катепсина Д в течение жизненного цикла нематоды *Nippostrongylus brasiliensis*. Максимальная активность проявлялась у активно питающихся личинок 1-й и 2-й стадий и была низкой у инвазионной, непитающейся личинки Л₃. Через 42 ч после заражения окончательного хозяина протеолитическая активность вновь возрастает. Высокую активность протеиназы у личинок авторы связывают с участием катепсина Д в процессе линьки, а также с активным питанием личинок.

У ряда паразитических червей, в частности у нематод *Anguostrogylus cantonensis*, *Dirofilaria immitis*, *T. muris*, *A. suum*, изучали активность кислых протеиназ, гидролизующих гемоглобин (42). Наиболее высокой активностью протеиназ обладали нематоды *A. cantonensis*, *D. immitis* — паразиты крови. Максимальная активность обнаруживалась в кишечнике гельминтов в том случае, когда его можно было анатомически отделить от других органов. Оптимум pH гидролиза гемоглобина находился в промежутке от 3,1 до 4,6, причем гемоглобин расщеплялся быстрее, чем все исследованные белки. Специфический ингибитор карбоксильных протеиназ пепстатин ингибировал гидролиз гемоглобина протеиназами всех видов нематод. Кислые протеиназы нематод *A. cantonensis* и *A. suum* не реагировали на присутствие в инкубационной смеси ингибиторов тиоловых, сериновых и металлопротеиназ. На основании этих данных авторы делают вывод о том, что субстратная специфичность кислых протеиназ исследованных гельминтов сходна с таковой катепсина Д, а не пепсина.

Из водного экстракта *D. immitis* были выделены две протеиназы с молекулярной массой 170 000 и 48 000. Оказалось, что первый фермент представляет собой тиоловую протеиназу с оптимумом pH 4,6—5,8, а второй сходен по свойствам с катепсином Д и имел оптимум pH 2,6—3,4. Эта протеиназа была высоко чувствительна к ингибированию пепстатином (55).

Таким образом, из приведенной здесь литературы видно, что в настоящее время увеличился интерес исследователей к протеолитическим ферментам паразитических нематод. Выполнен ряд исследований по выделению, очистке и идентификации протеиназ. По мнению большинства исследователей, основными ферментами, гидролизующими белки у нематод, являются катепсин Д или подобный ему по свойствам фермент и тиоловая протеиназа.

Учитывая изложенные данные литературы, мы попытались выяснить, имеется ли связь между характером питания нематод в различных органах и тканях хозяев и основными свойствами их протеолитических ферментов. Нами изучались следующие нематоды: *Dictyocaulus filaria* — из легких овцы, *Metastrongylus elongatus* — из легких свиньи, *Haemonchus contortus* — из желудка овцы, *Rhabdias bufonis* — из легких лягушки, *Anisakis shupakovi* — из желудка тюленя, *Syngamus skrjabinomorphus* — из трахеи курицы, *Ascaris suum* — из кишечника свиньи, *Contracaecum aduncum* — из кишечника трески, *Teppanova decipiens* L. — из полости тела бычка.

Перечисленных нематод по характеру питания можно разделить на две группы: питающиеся тканями и кровью хозяина: *M. elongatus*, *H. contortus*, *R. bufonis*, *A. shupakovi*, *S. skrjabinomorphus*, *T. decipiens* L.; питающиеся содержимым кишечника хозяина: *A. suum*, *C. aduncum*.

Нематод собирали от спонтанно зараженных животных, промывали в физиологи-

ческом растворе, высушивали и хранили в холодильнике при -10°C . Нематод *M. elongatum* привозили из Института паразитологии ПАН в лиофильновысушенном виде и также хранили в холодильнике при -10°C . Методы определения активности протеолитических ферментов описаны нами в предыдущих работах (7, 36, 8).

С каждым изучавшимся видом нематод была проведена серия опытов по определению оптимума pH расщепления казеина под влиянием протеолитических ферментов в интервале pH от 1 до 9. У всех девяти видов нематод отмечена протеолитическая активность с максимумом в кислой области pH. Самое низкое значение для оптимума pH 2,2–2,3 отмечено у нематод из легких лягушки *R. bufonis* и нематоды из трахеи курицы *S. skrjabinomorpha*, а наиболее высокое – 5,3 у нематоды из желудка овцы *H. contortus*. У остальных видов оптимум pH находился в пределах 3,0–3,4. Таким образом, наши данные согласуются с приведенными работами ряда авторов, показавших, что оптимум действия протеиназ изучавшихся нематод находится в кислой области pH. Исходя из полученных нами и литературных данных, можно высказать предположение, что для всего класса нематод характерно наличие кислых протеолитических ферментов, сходных с лизосомальными ферментами высших животных – катепсинами.

В области оптимума pH протеиназ каждого вида нематод мы исследовали влияние на гидролиз белков солей различных, в основном двухвалентных, металлов. Использовали также активатор тиоловых протеиназ цистеин и ингибитор металлопротеиназ – этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА). Как видно из таблицы, протеиназы нематод *D. filaria*, *H. contortus*, *R. bufonis*, *T. decipiens*, *M. elongatum* значительно увеличивают свою активность под влиянием цистеина. Это свидетельствует о том, что ферменты содержат в своем активном центре тиоловые группы.

Однако протеиназы каждого из перечисленных видов нематод активируются в различной степени. Наибольшее возрастание активности (на 405%) наблюдается у протеиназ *R. bufonis*, а минимальное (73%) – у *T. decipiens*. По-видимому, различия в увеличении активности находятся в связи со строением молекулы фермента, в частности с расположением активного центра и количеством тиоловых групп в нем.

Как известно, активность тиоловых протеиназ подавляется солями тяжелых металлов. Из таблицы видно, что ион ртути подавляет активность протеиназ всех видов нематод, но также в различной степени. Например, для ферментов *H. contortus* наблюдается полное ингибирование, а у *R. bufonis* активность подавлялась только на 31%. Ингибирование протеолитической активности ионами ртути является еще одним доказательством того, что изучаемые ферменты содержат в активном центре тиоловые группы.

Интересно отметить тот факт, что ионы меди значительно активировали протеолиз у *M. elongatum*, *D. filaria*, *T. decipiens*, *A. shupakovi* и практически не оказывали влияния на протеолиз у *H. contortus* и *R. bufonis*. В литературе по протеолитическим ферментам медь чаще всего упоминается в качестве ингибитора тиоловых и карбоксильных протеиназ. В то же время активация свиного пепсина небольшими концентрациями меди была отмечена (34, 59). Стейнхарт (58) утверждает, что ион меди в кислой среде образует стабильный комплекс с ферментом, изменяя, по-видимому, его третичную или четвертичную структуру. В литературе по протеолитическим ферментам имеется одна аналогичная работа об активирующем влиянии меди на протеолиз у черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (25). Многие исследователи, изучавшие минеральный обмен в организме животных, зараженных гельминтами, отмечают, что в этих случаях в органах и тканях значительно снижается уровень микроэлементов, в особенности меди (1, 13). Возможно, что в случае паразитирования нематод *M. elongatum*, *D. filaria*, *T. decipiens*, *A. shupakovi* поглощаемая ими из организма хозяина медь используется в качестве стимулятора протеолитических ферментов.

Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) – ингибитор металлопротеиназ – практически не оказывала влияния на ферменты *H. contortus* и *M. elongatum*, однако в небольшой степени (от 25 до 39%) снижала активность протеиназ *D. filaria*, *R. bufonis*, *T. decipiens*, *A. shupakovi*.

Активность протеиназ нематод от теплокровных животных в значительной степени (около 100%) возрастала при внесении в инкубационную среду ионов марганца. Известны протеолитические ферменты – иминодипептидаза и имидодипептидаза, для активации которых необходимы ионы марганца, однако эти ферменты расщепляют только определенные дипептиды и активны в щелочной среде, поэтому нельзя говорить о соответствии протеиназ нематод пептидазам позвоночных.

Остальные ионы металлов – кальция, цинка, кобальта, железа и магния – во всех случаях в той или иной степени ингибировали реакцию расщепления белка.

Аналогичное исследование было проведено на нематодах, обитающих в полости кишечника хозяина – *A. suum* и *C. aduncum*. Их протеолитические ферменты не могут быть отнесены к группе тиоловых, поскольку SH-группы практически не оказывали влияния на протеолиз. Подобное влияние цистеина на протеиназы отмечено в работе Ниммо-Смита, Килинга (46), которые изучали протеолитическую активность экстрактов нематоды из толстого кишечника мышей *T. muris*. Аналогичные данные получены также Мажугой (9), которая показала, что сульфгидрильные соединения не влияют на процесс расщепления синтетического субстрата Кбз-Глю-Тир под действием протеиназ нематод *A. suum* и *A. galli*.

Для ответа на вопрос о типе протеиназ изучавшихся нематод мы провели опыты по расщеплению синтетического субстрата бензоил-аргинин-*p*-нитроанилида (БАПА), который при различных значениях pH расщепляют трипсин и катепсин В (11). В инкубационную среду в некоторых случаях вносили 10 мкМ цистеина. Результаты опытов свидетельствовали о том, что протеолитические ферменты изучавшихся нами нематод не расщепляют синтетический субстрат БАПА и не являются подобными трипсину и катепсину В позвоночных животных. В этом отношении наши данные согласуются с выводами Мажуги и Шишовой-Касаточкиной (10), которые также показали отсутствие расщепления субстрата БАПА ферментами нематод *A. suum* и *As. galli*.

Затем нами было проведено исследование расщепления синтетического субстрата карбобензоксиглютамин-*L*-тирозина (Кбз-Глю-Тир), специфичного при различных значениях pH для катепсина А (5,3), пепсина (1,5–2) и катептической карбоксипептидазы (3,5). Полученные результаты показали, что протеиназы нематод *D. filaria*, *M. elongatum*, *H. contortus*, *R. bufonis* с различной интенсивностью расщепляют этот субстрат при pH 5,3. Данное значение pH является оптимальным только для протеиназ нематоды *H. contortus*. Однако у других нематод при pH 5 имеет место второй небольшой пик активности протеолитических ферментов. Добавление в инкубационную среду цистеина значительно стимулировало процесс расщепления субстрата. Показано (29), что в экстрактах селезенки и некоторых других тканей имеется фермент – катептическая карбоксипептидаза, гидролизующая Кбз-Глю-Тир при pH 3,5 и активирующаяся под влиянием SH-соединений, причем ионы цинка являются мощными ингибиторами фермента. Как видно из таблицы, цинк в значительной степени тормозил активность протеиназ перечисленных видов нематод. Мы считаем, что по крайней мере один из ферментов в суммарной протеолитической активности нематод может быть сходен с катептической карбоксипептидазой.

Специфическая активность при действии на субстрат Кбз-Глю-Тир протеолитическими ферментами нематод *A. suum* и *C. aduncum* при добавлении цистеина не увеличивалась так же, как это было показано при использовании в качестве субстрата белка казеина. Аналогичные результаты были получены Мажугой и Шишовой-Касаточкиной (10) при изучении субстратной специфичности протеиназ нематод *A. suum* и *As. galli*. Авторы высказали предположение, что протеолитические ферменты этих нематод сходны по свойствам с катепсинами А и Д позвоночных животных. Действительно, катепсин А гидролизует синтетический субстрат Кбз-Глю-Тир с оптимумом pH около 5,6, причем фермент не активируется цистеином. Поэтому, видимо, протеолитические ферменты нематод *A. suum* и *C. aduncum* также можно считать подобными катепсинам А и Д позвоночных животных.

Затем нами были проведены опыты по ингибированию протеолиза двумя специфич-

ческими ингибиторами — р-хлормеркурийбензоатом (ПХМБ) и пепстатином. Первый ингибитор является диагностическим ингибитором тиоловых протеиназ, второй — единственным известным специфическим ингибитором карбоксипротеиназ, в частности основной лизосомальной кислой протеиназы — катепсина Д. С применением этих ингибиторов изучали протеиназы нематод *R. bufonis*, *M. elongatum* и *A. suum*, на которых показано, что оба эти ингибитора в различной степени тормозят гидролиз белков. У нематод *M. elongatum* пепстатин тормозил процесс протеолиза на 80%, а ПХМБ — на 23%, что позволяет сделать вывод о том, что у этого вида нематод имеются по крайней мере два различных фермента: катепсин Д и тиоловая протеиназа, активность которой увеличивается под действием сульфгидрильных соединений и снижается под действием ПХМБ.

Аналогичные опыты были проведены на экстрактах кишечника *A. suum*, поскольку основная протеолитическая активность у нематод сосредоточена именно в кишечнике. Показано, что пепстатин ингибирует активность протеиназ на 80%, а ПХМБ оказывает на них слабое влияние. Таким образом, показано, что основным протеолитическим ферментом у нематоды *A. suum* является катепсин Д, что уточняет данные, полученные Мажутой (9) о том, что у *A. suum* имеется протеиназа, сходная по свойствам с катепсином А или Д.

Как было показано нами ранее (7), протеолитическая активность у нематод *R. bufonis* значительно увеличивалась под влиянием SH-соединений, поэтому предполагалось, что ПХМБ будет являться сильным ингибитором процесса расщепления белка. Однако он тормозил процесс только на 8–10%, в то время как пепстатин — на 90%. Использование еще одного ингибитора тиоловых групп — моноиодацетата — дало такой же эффект, как ПХМБ. Поэтому вопрос о принадлежности протеиназ *R. bufonis* к определенному классу остается нерешенным. Можно предполагать, что у *R. bufonis* также имеются две протеиназы. Одна из них тиоловая, сходная по свойствам с катептической карбоксипептидазой, другая — катепсин Д.

Таким образом, приведенные литературные и полученные нами данные дают следующие результаты.

1. Для класса нематод характерно наличие протеолитических ферментов, активных в кислой области рН.

2. Протеиназы изученных нами тканевых нематод, т.е. имеющих в той или иной степени контакт с кровью, активируются сульфгидрильными соединениями, расщепляют синтетический субстрат Кбз-Глю-Тир, не расщепляют синтетический субстрат БАПА

Влияние некоторых химических соединений на активность протеолитических ферментов различных видов нематод

Вещество	Прирост или снижение активности, % по отношению к контролю							
	H.con- tortus	M.elon- gatum	D. fi- laria	Rh. bu- fonis	T. de- cipiens	A.shu- pakovi	A.suum	C.adun- cum
CaSO ₄	-16	-24	14	7	-18	+3	-28	-
MgCl ₂	+5	-34	13	-1	-31	-11	+11	-
ZnSO ₄	-46	-40	-62	-15	-40	+1	-57	-19
CuSO ₄	0	+70	+54	+1	+15	+55	-70	-15
MnCl ₂	+82	+119	+120	42	+3	-14	+29	-
CoSO ₄	-22	-30	42	-41	-30	-69	-77	-23
HgCl ₂	-98	-55	48	31	-44	-4	-20	-
FeCl ₃	-25	-60	-61	-29	-61	-62	-80	-
ЭДТА	-2	0	39	25	-37	-23	16	-
Цистеин	+218	+90	+75	+405	+73	+36	0	13
ПХМБ		23		8	-		30	-
Пепстатин		80	-	91			80	-

и сходны, таким образом, по свойствам с катептической карбоксипептидазой позвоночных животных.

3. Протеолитические ферменты нематод, паразитирующих в просвете кишечника и питающихся частично переваренной хозяином пищей, сульфгидрильными соединениями не активируются, не расщепляют синтетический субстрат БАПА и гидролизуют субстрат Кбз-Глю-Тир при pH 5,3, что позволяет считать их сходными по свойствам с катепсинами А или Д.

4. Ионы металлов оказывают различное действие на протеолитические ферменты изучавшихся нематод. Отмечено активирующее действие меди на протеиназы *M. elongatum*, *D. filaria*, *T. decipiens*, *A. shupakovi* и активирующее влияние марганца на протеиназы нематод от теплокровных.

5. Применение диагностических ингибиторов — пепстатина и ПХМБ — показало наличие у нематод *M. elongatum* и *R. bufonis* двух ферментов — катепсина Д и тиоловой протеиназы, в то время как у нематоды кишечника *A. suum* в наличии имеется один фермент — катепсин Д.

Таким образом, по-видимому, в процессе эволюции нематод в связи с приспособлением их к питанию различными субстратами эволюционировали и их протеолитические ферменты. Этим обусловлены различия в свойствах ферментов исследованных видов нематод.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаев Д.Е. О влиянии гельминтов на содержание микроэлементов (меди, молибдена, марганца, железа) в тканях и органах овец // Зоол. сб. 1982. Вып.18. С. 46–56.
2. Боголелова И.И. Морфофункциональный анализ пищеварительной системы паразитических нематод различных экологических групп // I Всесоюз. съезд паразитоценологов: Тез. докл. Полтава, 1978. Ч. 1. 47 с.
3. Боголелова И.И. Морфофункциональная характеристика кишечных паразитических нематод различных таксономических и экологических групп // Паразитол. сб. АН СССР, 1983. Т.31 С. 108–120.
4. Дубовская А.Я. Исследование протеолитической активности у некоторых видов цестод // Паразитология. 1973. Т. 7, № 2. С. 154–159.
5. Кротов А.И. Сравнительная физиология гельминтов // Тр. Всесоюз. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. 1971. Т. 17. С. 141–147.
6. Еренская А.С. Изучение протеолитической активности лентеца широкого // Тр. Ленингр. сан-гигиен. мед. ин-та. 1974. Т. 107. С. 82–84.
7. Колоскова Т.Г. Выделение, очистка и некоторые свойства протеиназы нематоды *Rhabdias bufonis* // Гельминты в пресноводных биоценозах. М.: Наука, 1982. С. 109–113.
8. Колоскова Т.Г., Шишова-Касаточкина О.А. Характеристика протеолитических ферментов нематод различной локализации в связи с проблемой адаптации к паразитированию // Вопр. биологии гельминтов. М.: Наука, 1986. С. 60–65.
9. Мажуга Н.А. Особенности ферментов, расщепляющих белки у *Ascaris suum* // Тр. ГЕЛАН СССР. 1975. Т.25. С. 98–101.
10. Мажуга Н.А., Шишова-Касаточкина О.А. Изучение специфичности протеолитических ферментов *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1976. Т. 15, № 2. С. 184–186.
11. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. М.: Наука, 1971.
12. Степанов В.М., Орехович В.И., Лобарева Л.С., Мжельская Т. Действие ингибитора пепсина на катепсин Д бычьей селезенки // Биохимия. Т. 34, № 2. С. 309–312.
13. Степанян С.Г., Сакулян Г.В. Роль меди во взаимоотношениях хозяина и гельминта // II Всесоюз. съезд паразитоценологов: Тез. докл. Киев: Наук. думка, 1983. С. 326–328.
14. Уголев А.М. Пристеночное (контактное) пищеварение. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963.
15. Asch H.L., Dresden M.N. Acidic thiol proteinase activity of *Schistosoma mansoni* egg extracts // J. Parasitol. 1979. Vol.65, № 4. P. 543–549.
16. Aurlault C., Pierce R., Cesarl I.M., Capron A. Neutral protease activities at different developmental stages of *Schistosoma mansoni* in mammalian hosts // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1982. Vol. 72, № 3. P. 377–384.
17. Boglish B.J., Dresden M.H. Fluorescent histochemistry of acid proteases in adult *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum* // J. Parasitol. 1983. Vol. 69, №1 P. 106–110.
18. Bolla R., Weinstein P.P. Acid protease activity during development and aging of *Nippostrongylus brasiliensis* // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1980. Vol. 66, № 4. P. 475–581.

19. *Chapman C.R., Coles G.C.* Digestion in the common liver fluke *Fasciola hepatica* // *Parasitology*. 1977. Vol. 75, №2.
20. *Chappell C.L., Dresden M.N.* Schistosoma manson: Proteinase activity of "Hemoglobinase" from the digestive tract of adult worms // *Exp. Parasitol.* 1986. Vol. 61, №2. P. 160-167.
21. *Dresden M.H., Asch H.L.* Proteolytic enzymes in extracts of *Schistosoma manson* cercariae // *Biochim. et biophys. acta*. 1972. Vol. 289, №2. P. 378-384.
22. *Dresden M.H., Asch H.L.* Comparison of proteinases from *Schistosoma manson* cercariae, adult worms eggs // 4th Intern. Congr. parasitol., Warsaw, 1978: Short commun. Sect. F. Warsaw, 1978. P. 58.
23. *Dresden M.H., Deelder A.M.* Schistosoma manson: Thiol proteinase properties of adult worm "hemoglobinase" // *Exp. Parasitol.* 1979. Vol. 48. P. 190-197.
24. *Dresden M.H., Edlin E.M.* Schistosoma manson: Effect of some cations on the proteolytic enzymes of cercariae // *Ibid.* 1974. Vol. 35, №2. P. 299-303.
25. *Dumitru I.F., Niculescu S., Iordachescu D., Ghitescu E.* Evidencing some acid proteases in the sea mussels *Mytilus galloprovincialis* // *Rev. roum. biochem.* Vol. 12. P. 159-165.
26. *Gazzinelli G., Ramalho-Pinto F.J., Pelegriño J.* Complexo proteolítico de cercaria do *Schistosoma manson* // *An. Acad. brasil. ciênc.* 1970. Vol. 42, supl. P. 187-192.
27. *Grant C.T., Senft A.W.* Schistosome proteolytic enzyme // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1971. Vol. 38, №4. P. 663-678.
28. *Greenbaum L.M., Fruton J.S.* Purification and properties of beef spleen cathepsin B. // *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. P. 173.
29. *Greenbaum L.M., Sherman R.* Studies on catheptic carboxypeptidase // *J. Biol. Chem.* 1962. Vol. 237. P. 1082.
30. *Halawa B., Jakacka B.* Aktywnosc proteolityczna onkosfer *Taenia saginata* badana metoda izotopowa // *Wiad. parasytol.* 1977. Vol. 23, N 4. S. 363-367.
31. *Haidu E., Matskasi I., Juhasz S.* *Fasciola hepatica* (L., 1758): Studies on protease and protease inhibitor activity // *Parasitol. hung.* 1979. Vol. 12, N 12. P. 21-30.
32. *Hamajima F., Yamagami K.* Purification and inhibition of acid hemoglobin protease of a lung fluke by antiproteases from human plasma // *Jap. J. Parasitol.* 1981. Vol. 30, N 2. P. 127-134.
33. *Iodice A.A., Leong V., Weinstock I.M.* Separation of cathepsins A and D of skeletal muscle // *Arch. Biochem. and Biophys.* 1966. Vol. 117. P. 477.
34. *Kirchgessner M., Beyer M.G., Steinhart H.* Activation of pepsin by heavy-metal ions including a contribution to the mode of action of copper sulphate in pig nutrition // *Brit. J. Nutr.* 1976. Vol. 36. P. 15-22.
35. *Kirschke H., Langner J., Wiederanders B. et al.* A new proteinase from rat-liver lysosomes // *Europ. J. Biochem.* 1977. Vol. 74. P. 293-301.
36. *Kolaskova T.G.* Properties of proteolytic enzymes of the nematodes *Dictyocaulus filaria* and *Haemonchus contortus* // *Helminthologia (ČSSR)*. 1984. Vol. 21, N 2. P. 161-167.
37. *Kwa B.H.* Studies on the sparganum of *Spirometra erinacea*. II. Proteolytic enzyme in the scolex // *Intern. J. Parasitol.* 1972. Vol. 2, N 1. P. 29-33.
38. *Lapresle C., Webb T.* The purification and properties of a proteolytic enzyme, rabbit cathepsin E, and further studies on rabbit cathepsin D // *Biochem. J.* 1962. Vol. 84. P. 455.
39. *Lee D.L.* Digestion in *Leidyneema appenendiculata* (Leidy 1850), a nematode parasitic in cockroaches // *Parasitology*. 1958. Vol. 48. P. 437-447.
40. *Lee D.L.* The physiology of nematodes. Edinburgh; L., 1965
41. *Locatelli A., Beretta C.* Detection of aminoacid in saline or serum media incubated with "*Fasciola hepatica*" and proteolytic activity excreted by liver fluke in vitro // *Arch. vet. ital.* 1969. Vol. 20, N 5. P. 385-391.
42. *Maki J., Furuhashi A., Yanagisawa T.* The activity of acid proteases hydrolysing haemoglobin in parasitic helminths with special reference to interspecific and intraspecific distribution // *Parasitology*. 1982. Vol. 84, N 1. P. 137-148.
43. *Matskasi I., Nemeth I.* *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudofillidea): Studies on the properties of proteolytic and protease inhibitor activities of plerocercoid larvae // 4th Intern. Congr. parasitol. Warsaw, 1978. Short commun. Sect. F. Warsaw, 1978. P. 66.
44. *Matskasi I., Juhasz S.* *Ligula intestinalis* (L., 1758) investigation on plerocercoids and adults for protease and protease inhibitor activities // *Parasitol. hung.* 1977. Vol. 10. P. 51-60.
45. *Neurath H.* Evolution of proteolytic enzymes // *Science* 1984. Vol. 224, N 4647. P. 350-357.
46. *Nimmo-Smith R.H., Keeling J.B.D.* Some hydrolytic enzymes of the parasitic nematode *Trichuris muris* // *Exp. Parasitol.* 1960. Vol. 20, N 3. P. 337-355.
47. *Oya Y., Noguchi I.* Some properties of hemoglobin protease from *Ancylostoma caninum* // *Jap. J. Parasitol.* 1977. Vol. 26, N 5. P. 307-313.
48. *Pennolt de Choman E., Van Grembergen S.* Vergelijkend onderzoek van het fermenten system bij vrijlevende en parasitaire plathelminthen // *Verh. Kon. vlam. acad. geneesk. Belg.* 1942. N 4. S. 7-77
49. *Press E.M., Porter R.R., Gebra J.* The isolation and properties of a proteolytic enzyme, cathepsin D, from bovine spleen // *Biochem. J.* 1960. Vol. 74. P. 501.
50. *Rupova L., Keilova H.* Isolation and some properties of an acid protease from *Fasciola hepatica* // *Ztschr. Parasitenk.* 1979. Bd. 61, N 1. S. 83-91.
51. *Rupova L., Oankovski E.* Isolation of a proteolytic enzyme from *Paramphistomum microbothrium*

- (Fischhoeder, 1901) and characteristics of some of its properties // 4th Intern. Congr. parasitol., Warsaw, 1978: Short commun. Sec. F. Warsaw, 1978. P. 62.
52. Sauer M.C.V., Senft A.W. Properties of a proteolytic enzyme from *Schistosoma mansoni* // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1972. Vol. 42, N 2. P. 205–220.
 53. Schwartz W.E., Barrett A.J. Human cathepsin H. // Biochem. J. 1980. Vol. 191. P. 487–497.
 54. Senft A.W. Studies in arginine metabolism by Schistosomes: Arginine uptake and lysis by *Schistosoma mansoni* // Comp. Biochem. and Physiol. 1966. Vol. 18, N 1. P. 209–216.
 55. Sriedhars S., Jaffe J.J. Isolation, partial purification and some properties of two acid proteases from adult *Dirofilaria immitis* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1983. Vol. 9, N 1. P. 1–14.
 56. Smith M.A. Radioassays for the proteolytic enzyme secreted by living eggs of *Schistosoma mansoni* // Intern. J. Parasitol. 1974. Vol. 4, N 6. P. 681–683.
 57. Smorodincev J.A., Bebechin K.V. Les proteinases des Tenias // Bull. Soc. chim. biol. 1936. Vol. 18, N 3. P. 1097–1105.
 58. Steinhart H., Kirschgessner M., Beyer M.G. Interaktionen zwischen einigen Übergangselementen in ihrem Einfluss auf die Pepsinaktivität // Arch. Tserenähr. 1976. Bd. 26. S. 629–635.
 59. Steinhart H., Beyer M.G., Kirschgessner M. Zur Komplexbildung von Proteinen mit Cu^{2+} – Ionen im sauren Milieu // Ztschr. Lebensmitteluntersuch. und Forsch. 1975. Bd. 159. S. 73–77.
 60. Taylor S.L., Tappel A.L. Characterization of rat liver lysosomal cathepsin A // Biochim. et biophys. acta. 1974. Vol. 341. P. 112–119.
 61. Timms A.R., Bueding E. Studies of a proteolytic enzyme from *Schistosoma mansoni* // Brit. J. Pharmacol. and Chemother. 1959. Vol. 14. P. 68–73.
 62. Yang E.P., Chow L. Acid protease in adult *Schistosoma japonicum* (Formosan strain) // Chin. J. Microbiol. and Immunol. 1981. Vol. 14, N 3. P. 179–186.

УДК 576.895.121.577.15

РОЛЬ ФЕРМЕНТА АРГИНАЗЫ В ОБМЕНЕ ГЕЛЬМИНТОВ

А.Я. ДУБОВСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Одним из интересных вопросов эволюционной биохимии является вопрос о формировании уреотелического механизма нейтрализации аммиака. По мнению Козна и Брауна (29, 38), уреотелизм возник на определенном этапе эволюции в результате интеграции в печени животных филогенетически очень древнего процесса биосинтеза аргинина с еще одним звеном – ферментативной реакцией расщепления его аргиназой. Долгое время существовало представление об аргиназе (ЕСКФ 3.5.5.3.1) как органоспецифичном ферменте печени, катализирующем реакцию $\text{L-аргинин} + \text{H}_2\text{O} = \text{орнитин} + \text{мочевина}$ в орнитиновом цикле. Обширные исследования, проведенные в сравнительно-эволюционном аспекте и анализ многочисленных литературных данных привели к заключению о широком биологическом распространении аргиназы и существовании по крайней мере двух ее молекулярных форм.

Мора и др. (69, 70) показали, что аргиназа печени урикотелических животных (ящериц и цыплят) имеет молекулярный вес 276 000, т.е. в два раза выше молекулярного веса аргиназы уреотелических животных, при этом сродство к субстрату в 10 раз меньше. На основе этого он постулировал существование двух типов аргиназ уреотелической и неуреотелической и наличие той или другой связывал с типом азотистого метаболизма. Однако эта зависимость не была подтверждена. В работе Порембской и др. (75) приводится таблица установленных молекулярных весов аргиназы аммонотелических, уреотелических и урикотелических животных. Так, у уреотелической планарии была обнаружена аргиназа с молекулярным весом 238 000, тогда как молекулярный вес аргиназы урикотелической чайки составил 138 000. Аргиназа с низким молекулярным весом (70 000) была обнаружена у земляного червя, таракана и лягушки. Таким образом, обнаруживаемые аргиназы у животных можно разделить на две группы. Аргиназа первой группы имеет молекулярный вес 110 000–138 000, высокое сродство к аргинину, не подвергается влиянию соединений, содержащих SH-группу. Аргиназа

второй группы имеет более высокий молекулярный вес, более низкое сродство к субстрату, ингибируется SH-соединениями. По мнению Порембской, обе эти аргиназы могут встречаться как у позвоночных, так и у беспозвоночных и не зависят от типа азотистого метаболизма. В настоящее время условные названия аргиназ сохранились. Уреотелической называется аргиназа, присутствующая лишь в печени уреотелических животных, неуреотелической — аргиназа, имеющая большое биологическое распространение и не участвующая в нейтрализации аммиака.

Неуреотелическую аргиназу следует считать эволюционно более древним ферментом, имеющим свою самостоятельную функцию независимо от уреотелизма. Предполагается, что при становлении уреотелизма в печени индуцируется специфическая новая аргиназа наряду с имеющейся, филогенетически более древней, неуреотелической (5, 29).

Уреотелическая аргиназа локализована в печени, тогда как неуреотелическая присутствует в разных органах и тканях животных, начиная от эпидермиса и кончая головным мозгом (23, 90). Этот фермент был обнаружен в почках и молочной железе (47, 80, 76), в клетках крови (32, 72, 27), в фибробластах (42, 35, 61, 62), в подчелюстной железе (71), в коже и двенадцатиперстной кишке и поджелудочной железе (51), в тонком кишечнике (48, 60) и слюне (22).

Если роль уреотелической аргиназы установлена точно, то функции и роль неуреотелической в метаболизме клетки пока не выяснены. Предполагается участие этой аргиназы в регуляции определенного содержания мочевины, аргинина и других гуанидиновых соединений, участвующих в ряде обменных процессов. Так, в ткани мозга аргиназа ответственна за оптимальное содержание мочевины, обеспечивающей адаптацию метаболизма нервной ткани при воздействии на организм низких температур (23). Так как в ткани молочной железы не обнаружено карбамилфосфатсинтетазы и орнитинкарбомилтрансферазы, включение аргиназы в цикл мочевины можно исключить. Поскольку наряду с появлением аргиназы в период лактации появляется еще три фермента, участвующих в синтезе пролина (орнитин аминотрансфераза, пролин-5-карбоксилат редуктаза, пролин-5-карбоксилат дегидрогеназа), считают (68, 51), что аргиназа молочной железы участвует в биосинтезе пролина из образовавшегося орнитина. Таким образом, неуреотелическая аргиназа может принимать участие в синтезе пролина, так как лактирующая молочная железа превращает значительное количество аргинина, поступившего из крови, в пролин, который включается в белки молока. Кроме того, орнитин может являться предшественником биосинтеза полиаминов, которые необходимы для деления и дифференциация клеток (50). В настоящее время появились работы, указывающие на новые метаболические функции аргиназы. Так, стало известно (39), что аргиназа секретируется макрофагами и участвует в подавлении роста аргининозависимых клеток, таких, как лимфобласты и лимфоциты (53, 36, 91). Полагают (30), что аргиназа является неспецифическим модификатором иммунореакций. Иммунологическое влияние аргиназы на патологическую печень рассматривалось в ряде работ (30, 37, 49).

Как видно из изложенного, неуреотелическая аргиназа имеет широкое биологическое распространение и разнообразные физиологические функции.

Обращает на себя внимание тот факт, что почти во всех органах аргиназа представлена множественными формами. Видимо, этот фермент имеет не только органные и видовые различия, но и в самой клетке может быть представлен множественными формами, отличающимися как по своей внутриклеточной локализации, так и по функциональному значению.

Множественные молекулярные формы были обнаружены в печени головастика и взрослых лягушек *Rana esculenta* (75, 2) и гепатопанкреасе улиток *Helix pomatia* и *Helix aspersa* (24, 25, 77) в фибробластах человека (42, 62), в печени и почках крыс, крупного рогатого скота, ящериц и лягушек (46, 47, 1, 88, 92, 76, 78), в легких мышей (79), в мозге крыс (90).

В работе Трапезниковой и др. (18) приводятся доказательства наличия в печени крысы двух изоформ аргиназы, отличающихся по заряду. Изoeлектрическая точка изо-

формы I, на долю которой приходилось 90% всей активности аргиназы, находилась в области pH 9.3, тогда как изoeлектрическая точка изоформы II – в области pH 7. Изоформы имели близкие молекулярные веса (120 000) и значения K_m для обеих изоформ (1–3 мМ). В целях стабилизации активности обе изоформы аргиназы были получены в иммобилизованном состоянии. Изучение действия некоторых хелатных соединений, SH-реагентов и ингибиторов на растворимые и иммобилизованные изоформы позволило выявить ряд различий в свойствах этих изоформ. Наличие положительного заряда у изоформы I соответствует данным других исследований и позволяет отнести ее к уреотелической форме фермента, тогда как изоформа II по заряду близка к неуреотелическим аргиназам из почек и мозга.

Как видно из приведенных работ, вопросу об изоформах аргиназы посвящено большое количество исследований, но в связи с тем, что они являются противоречивыми в основном из-за различий в способах идентификации фермента, трудно сделать вывод об истинном присутствии или балансе изоформ в том или другом органе. Так, наряду с данными, подтверждающими существование лишь одной формы аргиназы в печени крысы (26), имеются доказательства наличия двух (18, 52) или трех ее изоформ (90).

Для проведения сравнительных исследований изоформ аргиназы желательно пользоваться общей методикой выделения фермента. Однако большинство хроматографических методов очистки основаны на ионообменной хроматографии и из-за широкого диапазона изoeлектрических точек аргиназы различных видов один метод не может быть применен для всех исследуемых видов. Эти трудности можно обойти, используя аффинную хроматографию на иммуносорбентах, которые могут быть успешно использованы для связывания генетически близких белков независимо от их физических свойств (31).

Что касается гельминтов, то фермент аргиназа обнаружен у многих видов гельминтов, принадлежащих к разным классам. Впервые наличие аргиназы было показано у цестод (74), позднее – у паразитических нематод *Ascaris lumbricoides*, *Ascaridia galli* (83). Активность аргиназы была также выявлена у трематоды *Fasciola hepatica* и цестод *Moniezia expansa*, *Echinococcus granulosus*, *Taenia pisiformis* (59). Шишовой-Касаточкиной и др. (20) показано наличие фермента аргиназы у нематод *Contracaecum aduncum* от трески. Николаишвили всесторонне изучила свойства аргиназы *A. galli* (12, 13). Методом гель-хроматографии через сефадекс Г-200 и использованием белков-свидетелей в качестве стандарта ею установлен молекулярный вес фермента – 110 000. Свойства аргиназы *A. galli* (молекулярный вес, оптимум pH и температуры, способность активироваться ионами Co^{2+} и Mn^{2+} , чувствительность к ингибиторам) позволяют заключить, что она близка к аргиназам позвоночных животных. Методом дифференциального центрифугирования было изучено распределение аргиназы в субклеточных фракциях *A. galli*, *Fasciola hepatica* (13) и *C. aduncum* (15) и установлено, что аргиназа исследованных гельминтов является преимущественно ядерным ферментом.

Нами было проведено исследование наличия аргиназы у различных видов половозрелых цестод и плероцеркоидов. Все цестоды были получены из спонтанно зараженных животных, за исключением *D. latum*, которых получали при экспериментальном заражении собак и хомяков. Результаты представлены в таблице.

Анализ полученных нами результатов позволяет сделать предположение о видовых различиях в активности аргиназы. Так, мы обнаружили, что плероцеркоиды *D. latum* и *T. nodulosus*, паразитирующие у одной и той же рыбы (окунь), обладают разной активностью аргиназы, в то время как плероцеркоиды *T. nodulosus*, паразитирующие у разных рыб, имеют близкую активность. То же самое можно отметить и для взрослых форм. Мы обнаружили близкую активность фермента у представителей рода *Proteocephalus* sp., паразитирующие у сига, окуня, сига и ерша (см. таблицу).

Как видно из таблицы, у всех видов плероцеркоидов активность аргиназы была значительно ниже, чем таковая взрослых форм. Так, у плероцеркоидов *T. nodulosus*, извлеченных из печени окуня и налима, активность аргиназы составила соответственно 48.78 ± 10.17 и 40.72 ± 8.19 , у взрослой формы от щуки – 85.6 ± 4.8 мкг/мг белка. Такую

Вид гельминта	Хозяин	Активность аргиназы, мкг мочевины/30 мин/мг белка
Плероцеркоиды		
<i>Triaenophorus nodulosus</i>	Налим	48,78±10,17
	Окунь	40,72±8,19
<i>Diphyllobotrium latum</i>	Щука	100,91±8,3
	Окунь	98,9±12,08
<i>Cyatocephalus truncatus</i>	Гамарус	196,2±44,2
<i>Pyramicocephalus phocarum</i>	Треска	25,44±5,43
<i>Ligula intestinalis</i>	Плотва	3,76±2,5
Взрослые формы		
<i>Triaenophours nodulosus</i>	Щука	85,6±4,8
<i>Eubothrium rugosum</i>	Налим	92,1±5,1
<i>E. salvelinum</i>	Паляя	139,8±13,3
<i>C. truncatus</i>	Сиг	288,0±13,6
<i>D. latum</i>	Собака	171,3±13,5
	Хомяк	195,0±6,3
<i>D. dendriticum</i>	Чайка	305,9±28,5
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	Лещ	19,0±0,65
<i>Proteocephalus gen sp.</i>	Сиг	3,69±0,08
	Окунь	2,10±0,2
	Синец	3,67±0,1
	Ерш	3,69±0,02
<i>Bothriocephalus scorpii</i>	Бычок-керчак	18,97±2,73
<i>L. intestinalis</i>	Чайка	34,4±1,0

же закономерность мы наблюдали и в случае *C. truncatus*. У *Ligula intestinalis* различия активности фермента взрослых и личиночных стадий развития были наиболее выраженными. Мы наблюдали десятикратное увеличение активности аргиназы у взрослых форм по сравнению с плероцеркоидами. Таким образом, наши данные указывают на возрастание активности аргиназы в онтогенезе цестод. Интересно сравнить наши результаты с имеющимися в литературе. Нужно отметить, что на цестодах подобных работ не проводилось. Что касается нематод, то Сохиной (16) показано, что наименьшей активностью аргиназы обладают инвазионные личинки *A. galli*, наибольшей — 20- и 30-дневные личинки, развивающиеся в хозяине. Автор выявил также стимулирующее действие гормона тироксина на активность фермента инвазионных личинок *A. galli*. Проведенное нами (19) исследование активности аргиназы на разных стадиях развития *Haemonchus contortus* показало, что самой высокой активностью аргиназы обладали личинки I и II стадий, самой низкой — личинки III стадии. Личинки этой стадии развития не питаются и обитают вне тканей хозяина. Половозрелые нематоды по активности аргиназы занимают промежуточное положение. Наши результаты коррелируют с результатами, полученными Сохиной на *Ascaridia galli* (89).

Исследование активности аргиназы на разных стадиях развития трематод *Fasciola hepatica* показало, что активность фермента появляется впервые у молодых фасциол 15-дневного возраста, которые уже попали в ткань печени (82). Яйца, мирацидии, метацеркарии развивающегося гельминта активностью аргиназы не обладали. Авторы пришли к заключению, что аргиназа у исследованного гельминта может индуцироваться при контакте с печенью хозяина. Индукцию фермента могут вызвать изменения ферментационно-кинетических условий, концентрации субстратов, питания, гормонального статуса и других физиологических механизмов. Одним из факторов, вызывающих повышение активности ферментов, является температура. Поскольку при попадании плероцерков-

дов, паразитирующих у рыб, в дефинитивного хозяина (в случае *Ligula intestinalis* — чайка) наблюдается резкое изменение температуры, мы решили проверить влияние этого фактора на активность аргиназы (6). Извлеченных из плотвы лигул мы помещали в раствор Рингера и содержали в течение 24 ч при температуре 41°C в термостате. Активность аргиназы при этом десятикратно возрастала. Аналогичные эксперименты были проведены с плероцеркоидами *T. nodulosus* (дефинитивный хозяин — холоднокровное животное щука). В данном случае мы обнаружили не повышение активности фермента, а его понижение. У *T. nodulosus*, видимо, имеют место другие механизмы, индуцирующие активность аргиназы.

Нами проведено сравнительное изучение влияния различных ингибиторов и активаторов на активность аргиназы плероцеркоидов и взрослых форм цестод, паразитирующих у рыб (8). Показано, что ионы Mg^{2+} оказывают активирующее действие, причем оно более выражено в случае аргиназы плероцеркоидов. Ионы Co^{2+} не оказывают значительного влияния на активность фермента, а ионы Zn^{2+} , лизин и ЭДТА заметно ингибируют активность аргиназы исследованных цестод.

Было проведено сравнительное исследование влияния температуры на активность аргиназы нематод, паразитирующих у холоднокровных и теплокровных животных. Показано, что оптимальные термодинамические и кинетические характеристики аргиназы взрослых форм нематод рыб соответствуют зоне более низких температур, тогда как у нематод птиц — зоне более высоких температур (17, 20). В серии работ (8, 9, 10, 40) нами проводилось сравнительное изучение термостабильности и температурной зависимости аргиназы у взрослых и личиночных форм цестод. На большом экспериментальном материале выявлена корреляция температурного оптимума и термостабильности аргиназы взрослых форм цестод с температурным гомеостазом хозяина.

Так, мы обнаружили, что аргиназа цестод рыб активна в широком диапазоне относительно низких температур ($0-27^{\circ}\text{C}$), тогда как аргиназа цестод от птиц и млекопитающих — в области значительно более высоких температур ($37-57^{\circ}\text{C}$). Это явление можно рассматривать как важную адаптивную особенность ферментов гельминтов. По-видимому, в процессе эволюции приспособление гельминтов к жизни в определенных температурных условиях сопровождается образованием ферментов, у которых зависимость активности от температуры находится в соответствии с температурным гомеостазом хозяина. Приобретение способности функционировать в области высоких температур сочетается с утратой способности проявлять активность в области низких температур. Адаптация к более холодным условиям приводит к обратному. Исследование термостабильности аргиназы, проведенное нами, подтверждает эту точку зрения. Оказалось, что термостабильность аргиназы изученных нами цестод располагается в следующий ряд: *D. dendriticum* > *D. latum* > *T. nodulosus*. При изучении температурной зависимости аргиназы плероцеркоидов нами было показано, что фермент аргиназа по ряду свойств (температурный оптимум, термостабильность) преадаптирован к температурному режиму дефинитивного хозяина (7).

Приведенные работы о наличии аргиназы у гельминтов разных систематических групп, на разных стадиях развития дают возможность заключить, что этот фермент играет важную метаболическую роль, связанную с обменом аргинина. Об этом свидетельствуют работы, показавшие исключительно важную роль аргинина в жизнедеятельности гельминтов. В своей работе Сенфт (86) показал, что аргинин активнее, чем остальные аминокислоты, включался в белки червей, а последние были богаче аргинином, чем белки тканей мышей. Кроме того, Сенфт (87) отметил, что инвазия *Schistosoma haematobium* вызывала заметное уменьшение (в некоторых случаях до полного исчезновения) содержания аргинина в крови хозяина. Показано (3, 4, 11), что *in vitro* *A. suum*, *A. galli* и *Moniezia expansa* активно поглощают аргинин из среды содержания.

Поскольку, как указывалось ранее, фермент аргиназа является ключевым ферментом цикла синтеза мочевины, представляет интерес рассмотрение данных по наличию системы уреогенеза у гельминтов. Ранее считалось, что гельминты являются аммонотеллическими организмами, однако позднее было показано, что они способны выделять и

мочевину. Так, большинство видов плоских червей относятся к уреотелическим. Кембел, Ли (33), изучая образование мочевины у гименолепид, установили, что ее биосинтез повышается в присутствии аргинина. Установлено также, что в мочевиноу включается преобразованная угольная кислота $C^{14}O_2$. Эти данные являются несомненным доказательством в пользу существования биосинтеза мочевины у *Hymenolepis diminuta*. Серия работ югославских исследователей (81, 82, 41, 63) посвящена изучению мочевинообразования и активности ферментов уреогенеза у некоторых трематод. Их результаты можно считать доказательством возможности синтеза мочевины у фасциол по пути орнитинового цикла.

Вероятность образования мочевины и наличие ферментов уреогенеза показаны у ряда нематод (83, 84, 93). Исследователи отметили стимулирующее действие аргинина и орнитина на образование и экскрецию мочевины. Кишечник исследованных нематод является главным местом локализации ферментов уреогенеза. В своей монографии Шишова-Касаточкина (21) провела анализ имеющихся в литературе работ по уреогенезу у гельминтов и выявила ряд противоречий. Так, она отмечает: "Из работ Эрлиха с соавторами вытекает вывод о том, что у кишечных паразитов не отмечается уреотелического типа обмена. Однако эти выводы сделаны на небольшом количестве видов гельминтов. Исследования проведенные на низших цестодах от рыб, указывают на возможность образования мочевины у тетрафилид. Таким образом, цестод *Calliobothrium verticulatum*, *Phyllobothrium foliatum*, в противоположность мнению Эрлиха, можно отнести к животным уреотелического типа обмена, несмотря на их локализацию в кишечнике. Необходимо также отметить несоответствие результатов Гел, Смит с выводами Эрлиха. Эрлих считает специфичным для трематод, обитающих в желчных протоках и крови, уреотелический тип обмена. Однако, по данным Гел, Смит, трематода *Fasciola gigantica*, обитающая также в желчных протоках, не образует мочевиноу" (21).

Таким образом, работами ряда исследователей показано наличие уреогенеза у ряда трематод, нематод и цестод. Однако не все гельминты обладают полным набором ферментов уреогенеза.

Некоторые авторы не считают, что у гельминтов функционирует орнитиновый цикл, так как они не могли обнаружить всех ферментов цикла у исследованных ими видов гельминтов (73, 59).

Полагают, что отдельные ферменты цикла, обнаруженные у гельминтов, участвуют в обеспечении гельминтов другими важными для их жизнедеятельности соединениями (28).

Как уже отмечалось, самым активным и наиболее часто встречаемым ферментом цикла, обнаруживаемым у гельминтов, является аргиназа. Наличие аргиназы у гельминтов разных систематических групп свидетельствует о том, что этот фермент, видимо, играет важную метаболическую роль в жизнедеятельности гельминтов, не всегда связанную с функционированием цикла Кребса-Хензеляйта. Существует несколько точек зрения в отношении роли аргиназы в обмене гельминтов. Так, Ли (67). Бранд (28) считают, что функцией аргиназы является обеспечение гельминтов пролином. Эту точку зрения подтверждают результаты Изероффа с соавт. (58), показавшие, что имеет место экскреция пролина в среду инкубации в случае содержания гельминтов *in vitro* и повышение уровня пролина в желчи зараженного хозяина. Позднее было показано, что повышенная концентрация пролина вызывает гиперплазию желчных протоков и анемию инвазированного животного (56, 57, 45, 85, 44).

Интересные данные по выявлению путей превращения аргинина у фасциол представлены Кюрелеком (64, 65). Полученные результаты показывают, что в результате превращения аргинина происходит восстановление НАД. После 60-минутной инкубации радиоактивная метка аргинина распределялась следующим образом: 79% — в пролине, 19,6 — в мочевино, 0,2 — в орнитине и только 0,5% — в аргинине.

Первым этапом превращения является расщепление аргинина под влиянием аргиназы на орнитин и мочевино, затем образование пирролин-5-карбоновой кислоты (ПКК) и образование пролина в результате действия пирролин-5-карбокси дегидрогеназы.

Изерофф с соавт. провели сравнительное изучение активности ферментов, образующих пролин у гельминтов, и в печени их хозяев и установили, что активность фермента орнитин-трансаминазы (ОТА), который катализирует образование непосредственного предшественника пролина-пирролин-5-карбоновой кислоты (ПКК), в 7–10 раз превышает активность данного фермента печени крыс и кроликов. Показано также, что фермент орнитин-6-трансаминаза фасциолы и шистосом соответственно в 4–10 раз, а пирролин-редуктаза в 3–4 раза активнее у гельминтов, чем в печени хозяев. Кроме того, у фасциол не было обнаружено фермента, расщепляющего пролин-пролиноксидазы. На возможность образования пролина указывает также высокий уровень α -кетоглутарата – акцептора аминогрупп у гельминтов (43, 54, 55, 34).

Нужно отметить, что подобных работ на представителях других классов гельминтов не проводилось. Можно предположить, что у кишечных гельминтов пролин не является дефицитной незаменимой аминокислотой; он в значительных количествах содержится в пищевых белках, доступных гельминтам. Исходя из этого, Шишова-Касаточкина считает, что основной функцией фермента аргиназы у гельминтов, в частности обитающих в кишечнике морских рыб, является обеспечение тканей гельминтов мочевиной, которая осуществляет у нематод жизненно важную функцию – осморегуляцию на клеточном уровне (21).

Таким образом, из изложенного вытекает, что аргиназа является важным для жизнедеятельности гельминтов ферментом, выполняющим разнообразные метаболические функции. Поскольку в настоящее время единого мнения о наличии или отсутствии орнитинового цикла у гельминтов нет, можно допустить, что у некоторых видов гельминтов аргиназа включается в цикл синтеза мочевины, которая как низкомолекулярное вещество может принимать участие в процессе осморегуляции на клеточном уровне. У тех видов гельминтов, которые не имеют полного набора ферментов орнитинового цикла, аргиназа участвует в катаболизме экзогенного аргинина, обеспечивая гельминтов орнитином, который может являться предшественником полиаминов или пролина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асланян Г.А., Давтян Н.А. Исследование изоферментного спектра аргиназы почек крыс // Биол. журн. Армении. 1976. Т. 29, № 2. С. 62–65.
2. Барсегян Э.Х., Никогосян Ф.Ц., Давтян М.А. Изучение ферментного спектра аргиназы печени лягушки в процессе онтогенеза // Биол. журн. Армении. 1977. № 6. С. 12–20.
3. Бердыева Г.Т. Поглощение аминокислот аскаридиями при содержании их в различных аминокислотных средах // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. 1972. Т. 5. С. 74–77.
4. Бердыева Г.Т., Дрюченко Е.А. Потребление *A. suum* аминокислот из полноценных и неполноценных смесей аминокислот // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. 1972. Т. 3. С. 20–31.
5. Давтян М.А., Буялян Т.Х. Очистка и свойства аргиназы головного мозга крыс // Биохимия. 1970. Вып. 3. С. 412–415.
6. Дубовская А.Я. Исследование активности аргиназы у плероцеркоидов и взрослых форм цестод // Тр. ГЕЛАН СССР. 1979. Т. 29. С. 46–49.
7. Дубовская А.Я. Исследование зависимости активности аргиназы плероцеркоидов *Triaenophorus nodulosus* и *Diphyllbothrium latum* от температуры // Паразитология. 1982. Т. 16, № 6. С. 494–497.
8. Дубовская А.Я. Исследование свойств фермента аргиназы у взрослых и личиночных форм цестод – паразитов пресноводных рыб // Гельминты в пресноводных биоценозах. М.: Наука. 1982. С. 85–90.
9. Дубовская А.Я. Термостабильность фермента аргиназы цестод и температурный гомеостаз хозяина // Гельминты сельскохозяйственных и охотничье-промысловых животных. М., 1984. С. 5–10.
10. Дубовская А.Я., Шишова-Касаточкина О.А. Адаптация и преадаптация гельминтов к температурному режиму дефинитивного хозяина // Тр. ГЕЛАН СССР. 1984. Т. 32. С. 24–37.
11. Дубовская А.Я., Шишова-Касаточкина О.А. Исследование транспорта аминокислот у цестод // Материалы II Всесоюз. симпозиума по физиологии и патологии всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973. С. 163–165.
12. Николаишвили К.Г. Аргиназная активность в тканях *Ascaridia galli* // Паразитол. сб. 1973. № 3. С. 158–162.

13. **Николаишвили К.Г.** Аргиназа у *Ascaridia galli* и *Fasciola hepatica*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1974.
14. **Павлов А.В., Шишова-Касаточкина О.А., Волынская К.Б.** О транспорте аминокислот у нематод // Паразитология. 1970. Т. 4, вып. 3. С. 163–165.
15. **Сохина Л.И.** Локализация ферментов аргиназы и уреазы в субклеточных органеллах нематод *Contracaecum aduncum*: Краткие тез. докл. // II Всесоюз. симпоз. по паразитам и болезням рыб. Калининград, 1976. С. 59–60.
16. **Сохина Л.И.** Активность аргиназы в тканях *Ascaridia galli* на различных стадиях развития // Сборник работ по морфологии и паразитологии. Самарканд, 1977. С. 115–118.
17. **Сохина Л.И., Колоскова Т.Г.** Активность ферментов аргиназы и уреазы как факторов приспособления нематод к паразитированию // Тр. ГЕЛАН СССР. 1978. Т. 28. С. 153.
18. **Трапезникова С.С., Навасардянц Д.Г., Давтян М.А.** Множественные формы аргиназы печени крыс // Биохимия. 1982. Т. 47, вып. 12. С. 2022–2027.
19. **Шишова-Касаточкина О.А., Дубовская А.Я., Колоскова Т.Г.** Активность ферментов аргиназы, уреазы и конечные продукты белкового обмена у некоторых нематод различной локализации // Вопросы биоценологии гельминтов. М.: Наука, 1986. С. 138–141.
20. **Шишова-Касаточкина О.А., Колоскова Т.Г., Сохина Л.И.** Активность фермента аргиназы и уреазы как возможный механизм регуляции на клеточном уровне осмотического и температурного гомеостаза у нематод: Краткие тез. докл. // II Всесоюз. симпоз. по паразитам и болезням морских животных. Калининград, 1976. С. 171–172.
21. **Шишова-Касаточкина О.А., Леутская З.К.** Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. М.: Наука, 1979.
22. **Храмов В.А., Островский О.В., Кошчина А.А. и др.** Определение активности аргиназы в слюне // Лаб. дело. 1984. Т. 8. С. 481–482.
23. **Шугалей Б.С., Кричевская А.А., Козина Л.С.** Температурная чувствительность ферментов синтеза мочевины в мозгу зимнеспящих хомяков и крыс в ходе холодной акклимации // Биохимическая эволюция. Л.: Наука, 1973. С. 208–212.
24. **Barret R., Girard C., Riou J.** Sur certaines proprietes des arginases du tissu hepatopancreatique d'*Helix pomatia* Lin et d'*Helix aspersa* Müll // C. r. Soc. biol. 1972. Vol. 54. P. 421–430.
25. **Barret R., Mourgue M., Pellegrin J.** Sur l'existence de deux activites arginasiques dans les tissus hepaticque, renal et stomacal de la raie cloutee (*Raja clavata* Lin) // Ibid. 1966. Vol. 160. P. 1796–1800.
26. **Bascur L., Cabello J., Veliz M., Gonzalez A.** Molecular forms of human-liver arginase // Biochim. et biophys. acta. Vol. 128. P. 149–154.
27. **Beruter J., Colombo J.P., Bachman C.** Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes // Biochem. J. 1978. Vol. 175. P. 449–454.
28. **Brand Th.** Biochemistry of parasites. N.Y.; L.: Acad. press, 1973. 499 p.
29. **Brown G.W., Cohen P.P.** Changes in pattern of nitrogen excretion // A symp. on the chem. basis of development. Baltimore: Hopkins, 1958. P. 495–513.
30. **Brusdellins M., Hapke C., Huberts H.H., Schumacher K.** Identification of the apparently lymphocyte specific human liver-derived inhibitory protein (LIP) as cytoplasmic liver L-arginase // J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2427–2431.
31. **Brusdellins M., Kuhner R., Schumacher K.** Purification, affinity to anti-human arginase immunoglobulin-sepharose 4B and subunit molecular weights of mammalian arginases // Biochim. et biophys. acta. 1985. Vol. 840. P. 79–90.
32. **Cabello J.C., Basilio C., Prajoux V.** Kinetic properties of erythrocyte and liver arginase // Ibid. 1961. Vol. 48. P. 148–156.
33. **Campbell W.C., Lee T.W.** Ornithine transcarbamylase and arginase activity in flatworms // Comp. Biochem. and Physiol. 1963. Vol. 8. P. 29–38.
34. **Campbell A., Sheers J., Marionmoore R.J. et al.** Proline biosynthesis by *Fasciola hepatica* at different developmental stages in vivo and in vitro // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3, N 2. P. 91–101.
35. **Cederbaum S.D., Spector E.B.** Arginase activity in fibroblasts // Amer. J. Hum. Genet. 1978. Vol. 30. P. 91.
36. **Chen P.C., Broome J.D.** Mouse macrophage arginase // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1980. Vol. 163. P. 354.
37. **Chiari F.V.** Regulation of human lymphocyte activation by a soluble extract from normal human liver // J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1279–1284.
38. **Cohen P.P., Brown G.W.** Ammonia metabolism and urea biosynthesis // Comparative biochemistry / Ed. M. Florkin, H. Mason. N.Y.; L.: Acad. press, 1960. Vol. 2. P. 161–244.
39. **Currie G.A.** Activated macrophages kill tumour cells by releasing arginase // Nature. 1978. Vol. 273. P. 758–759.
40. **Dubovskaya A. Ya., Shishova-Kasatochkina O.A.** The role of the nitrogen metabolism enzymes in adaptation of helminths to parasitism // Abstracts of FEBS special meeting on enzymes. Dubrovnik. Cavtat. 1979.
41. **Ehrlich J., Ržavec M., Kurelec B.** Urea excretion and synthesis in the liver fluke (*Fasciola hepatica*) // Vet. arh. 1968. Vol. 38, N 5/6. P. 146–155.

42. *Elson A.F., van, Leroy.* Arginase isoenzymes in human diploid fibroblasts // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1975. Vol. 62. P. 191–197.
43. *Ertel J.H., Isseroff H.* Proline in fascioliasis: Comparative activities of ornithine-transaminase and proline oxidase in *Fasciola* and mammalian livers // *J. Parasitol.* 1974. Vol. 60, N 4. P. 574–577.
44. *Foster J.R.* A study of initiation of biliary hyperplasia in rats infected with *Fasciola hepatica* // *Parasitology.* 1981. Vol. 83, N 2. P. 253–258.
45. *Ganti D.G., Pilbeam D., Steward G.P.* Fascioliasis: Role of proline in bile duct hyperplasia // *Science.* 1977. Vol. 198, N 4322. P. 1157–1159.
46. *Gaskorowska I., Poremska Z., Jachlmowich J., Mochacka I.* Isoenzymes of arginase in rat tissues // *Acta biochim. pol.* 1970. Vol. 17. P. 19–30.
47. *Glass R.D., Knox W.E.* Arginase isoenzymes of rat mammary gland, liver and other tissues // *J. Biol. Chem.* 1973. Vol. 248. P. 5785–5789.
48. *Greengard O., Sahib M.K., Knox W.E.* Developmental formation and distribution of arginase in rat tissues // *Arch. Biochem. and Biophys.* 1970. Vol. 137. P. 477–482.
49. *Grol M., Schumacher.* Purification and biochemical characterization of human liver-derived inhibitory protein (LIP) // *J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 323–326.
50. *Heby O.* Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation // *Differentiation.* 1981. Vol. 19. P. 1–20.
51. *Herzfeld A., Mezl V.A., Knox E.* Enzymes metabolizing – pyrroline-5-carboxylate in rat tissues // *Biochem. J.* 1977. Vol. 166, N 1. P. 95–103.
52. *Herzfeld A., Raper S.M.* The heterogeneity of arginases in rat tissues // *Ibid.* 1976. Vol. 153.
53. *Inaba K.A., Doi A., Nisida I.* Cell growth inhibiting factor in rat liver microsomes // *Cell Struct. Funct.* 1977. Vol. 2. P. 155–160.
54. *Isseroff H.* Enzymes of proline production in fasciola and schistosoma // *Abstracts of FEBS special meeting on enzymes.* Dubrovnik; Cavtat. 1979.
55. *Isseroff H., Ertel J.C.* Proline in fascioliasis: Activities of pyrroline-5-carboxylic acid reductase and pyrroline-5-carboxylic acid dehydrogenase in *Fasciola* // *Intern. J. Parasitol.* 1976. Vol. 6, N 2. P. 183–188.
56. *Isseroff H., Sawma J.T., Reino D.* Fascioliasis: Role of proline in bile duct hyperplasia // *Science.* 1977. Vol. 198, N 4322. P. 1157–1159.
57. *Isseroff H., Spengler R.N.* Charnock fascioliasis: Similarities of the anemia in rats to that produced by infused proline // *J. Parasitol.* 1979. Vol. 65, N 5. P. 709–714.
58. *Isseroff H., Tunis M., Read C.P.* Changes in amino acids of bile in *Fasciola hepatica* infections // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1972. Vol. 42, N 1. P. 157–163.
59. *Janssens P.A., Bryant C.* The ornithine – urea cycle in some parasitic helminths // *Ibid.* 1969. Vol. 30, N 2. P. 261–272.
60. *Konarska L., Tomaszewski L.* Studies on L-arginase of the small intestine: Topographical distribution and some properties of the small intestine L-arginase in the rat // *Biochem. Med.* 1975. Vol. 14. P. 250–262.
61. *Konarska L., Wiesman U., Colombo J.P.* Arginase activity in human fibroblast cultures // *Clin. chim. acta.* 1981. Vol. 115. P. 85–92.
62. *Konarska L., Wiesman U., Fellenberg R., Colombo J.P.* Isoenzyme pattern and immunological properties of arginase in normal and Hyperarginemia fibroblasts // *Enzyme.* 1983. Vol. 29, N 1. P. 44–53.
63. *Kurelec B.* Lack of carbamyl phosphate synthesis in some parasitic platyhelminths // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1972. Vol. 43, N 4. P. 769–780.
64. *Kurelec B.* Arginine as NAD regenerator in *Fasciola hepatica* // *Proc. 3rd Intern. Congr. parasitol.* 1974. Munick, 1974. P. 1490.
65. *Kurelec B.* Catabolic path of arginine and NAD regeneration in the parasite *Fasciola hepatica* // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1975. Vol. 51. P. 151–156.
66. *Kurelec B.* Molecular biology of helminth parasites // *Intern. J. Biochem.* 1975. Vol. 6. P. 375–386.
67. *Lee D.L.* The physiology of nematodes. Edinburgh; L., 1965.
68. *Mezl V.A., Knox E.* Metabolism of arginine in lactating rat mammary gland // *Biochem. J.* 1977. Vol. 166, N 1. P. 105–113.
69. *Mora J., Tarab R., Bojalil L.F.* On the structure and function of different arginases // *Biochim. et biophys. acta.* 1966. Vol. 118, N 1. P. 206
70. *Mora J., Tarab R., Martuscelli F., Soberon G.* Characteristics of arginases from ureotelic and nonureotelic animals // *Biochem. J.* 1965. Vol. 96, N 3. P. 588–594.
71. *Nagarajan B., Gopalakrishna R.* Isolation and characterization of arginase from rat submaxillary gland // *Ind. J. Biochem. and Biophys.* 1980. Vol. 17. P. 202–206.
72. *Nahibe H.* Isolation and characterization of arginase in human erythrocyte // *Physiol. Chem. Phys.* 1973. Vol. 5. P. 453–456.
73. *Paltridge R.W., Janssens P.A.* A reinvestigation of the status of the ornithine-urea cycle in the adult *Ascaris lumbricoides* // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1971. Vol. 40, N 2. P. 503–513.
74. *Pennolt de Cooman E., Van Grembergen S.* Vergelijkend onderzoek van het fermenten system bij vrijlevende en parasitaire plathelminthen // *Verh. Kon. vlaam. acad. geneesk. Belg.* 1944. N 4. S. 7–77.
75. *Porembka Z.* Different species of arginase in animal tissues // *Enzyme.* 1973. Vol. 15. P. 198–209.

76. Porembska Z., Baranczyk A., Jachimowich J. Arginase isoenzymes in liver and kidney of some mammals // *Acta biochim. pol.* 1971. Vol. 18. P. 77–85.
77. Porembska Z., Gasiorowska I., Mochacka I. Isolation of arginase and guanidinobutyrate ureohydrolase from hepatopancreas of *Helix pomatia* // *Ibid.* 1968. Vol. 15. P. 171–181.
78. Porembska Z., Jachimowich J., Gasiorowska I. Arginase isoenzymes in electrophoresis // *Bull. Acad. polon. sci. Sér. sci. biol.* 1971. Vol. 19. P. 27–30.
79. Rao K.V.K., Talageri V.R., Bhide S.V. Occurrence of isoenzymes of arginase in mouse lung tumour // *Ind. J. Biochem. and Biophys.* 1976. Vol. 13. P. 239–241.
80. Reddi P.K., Knox W.E., Herzfeld A. Types of arginase in rat tissues // *Enzyme.* 1975. Vol. 20. P. 305–314.
81. Rijavec M. Ornithinische Transcarbamylase und Arginase bei manchen parasitischen Würmern der Rinder // *Ztschr. Parasitenk.* 1965. Bd. 26. N 2. S. 163–167.
82. Rijavec M., Kurelec B. Die Aktivität der ornithinischen Transcarbamylase und Arginase in Gewebe verschiedener Entwicklungsstadien des grossen Leberegels (*Fasciola hepatica*) // *Ibid.* 1966. Bd. 27. S. 99–105.
83. Rogers W.P. Nitrogen catabolism in nematode parasites // *Austral. J. Sci. Res. Biol. Sci.* 1952. Vol. 5. N 1. P. 210–222.
84. Savel J. Etudes sur la constitution et le metabolisme proteiques d'*Ascaris lumbricoides* Linne, 1758 // *Rev. pathol. comp. et méd. exp.* 1955. Vol. 55, N 2. P. 52–121.
85. Sawma J.T., Isseroff H., Reino D. Proline in fascioliasis: Induction of bile duct hyperplasia // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1978. Vol. 61, N 2. P. 239–243.
86. Senft A. W. Studies in arginine metabolism by *Schistosoma mansoni* // *Ibid.* 1966. Vol. 18, N 1. P. 209–216.
87. Senft A. W. Studies in arginine metabolism by Schistosomes: Arginine depletions in mammals and snails infected with *S. mansoni* or *S. hematobium* // *Ibid.* 1967. Vol. 21, N 2. P. 299–303.
88. Skrzypek-Osiecka I., Robin Y., Porembka Z. Purification of rat kidney arginases A₁ and A₂ and their subcellular distribution // *Acta biochim. pol.* 1983. Vol. 30, N 1. P. 81–92.
89. Sokhina L.I., Shishova-Kasatochkina O.A. Studies on the arginase activity in the ontogenesis of *Ascaridia galli* and effect of thyroxine hormone on the synthesis of the given enzyme // *Helminthologia.* 1979. Vol. 16. P. 287–292.
90. Stewart J.A., Caron H. Arginase of mouse brain and liver // *J. Neurochem.* 1977. Vol. 29. P. 657–663.
91. Teryama H., Koji T., Kotani M., Okumoto. Arginase as an inhibitory principle in liver plasma membranes arresting the growth of various mammalian cells in vitro // *Biochim. et biophys. acta.* 1982. Vol. 720. P. 188.
92. Venkatakrishnan G., Raghupathi R.R. A comparative polyacrylamide gel electrophoretic study of arginase in vertebrate tissues // *Enzyme.* 1983. Vol. 29. P. 145–152.
93. Weinstein P.P. Excretory mechanisms and excretory products of nematodes. An appraisal // *Host influence on parasite physiology.* New Brunswick: Univ. press, 1960. P. 65–92.

УДК 576.895:121, 577, 15

ИЗОФОРМЫ АРГИНАЗЫ У ПЛЕРОЦЕРКОИДА PYRAMISOCERPHALUS PHOCARUM, ПАРАЗИТИРУЮЩЕГО У БЕЛОМОРСКОГО БЫЧКА-КЕРЧАКА

А.Я. ДУБОВСКАЯ, А.Д. МАМАЦАШВИЛИ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

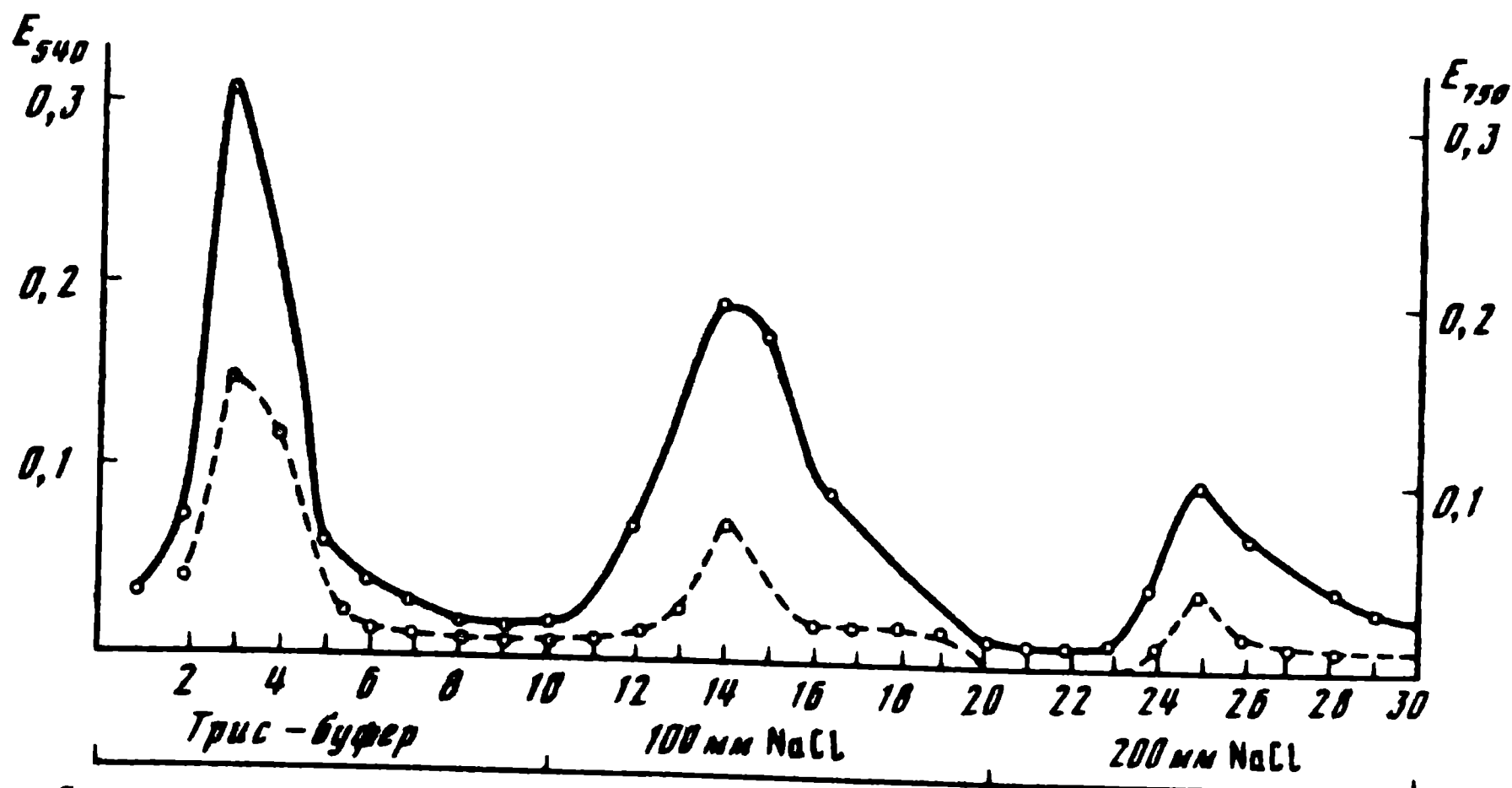
По литературным данным известно, что наиболее часто встречаемым и активным ферментом цикла Кребса–Хензеляйта у гельминтов является аргиназа. Этот фермент обнаружен у отдельных представителей класса трематод, цестод и нематод, причем ему отводится самостоятельная роль в обмене гельминтов, не всегда связанная с функционированием цикла мочевины (4, 7, 8). На большом экспериментальном материале выявлена корреляция температурного оптимума и термостабильности аргиназы цестод с температурным гомеостазом хозяина и преадаптация свойств аргиназы плероцеркоидов к температурному режиму дефинитивного хозяина (1, 2, 3). Для того чтобы ответить на вопрос, за счет каких механизмов осуществляется преадаптация ферментных систем цестод, в настоящей работе было проведено изучение спектра изоформ аргиназы плероцеркоидов.

Объектом исследования были выбраны плероцеркоиды *Pugamioserphalus phocaum*, паразитирующие у беломорского бычка-керчака. Дефинитивным хозяином этих цестод являются морские млекопитающие — тюлени. Сбор гельминтологического материала и его предварительную обработку проводили в условиях экспедиции на ББС "Мыс Картеш" Зоологического института АН СССР. Для определения активности аргиназы использовали метод Храмова и Галаева (5), определения белка — метод Лоури (10). Частичную очистку аргиназы проводили с использованием методов Фаруки, Сахена (6), работавшими с аргиназой печени морских свинок, и метод Конарска и др. (9), изучавшими изоферменты аргиназы фибробластов человека.

Плероцеркоидов извлекали из полости тела рыб, промывали физиологическим раствором, гомогенизировали на холоду в стеклянном гомогенизаторе в 1 мМ Трис-НСI буфере (pH 7,3), содержащем 1 мМ $MnCl_2$. Затем добавляли в гомогенат Тритон X-100 (0,5%) и помещали на час на мешалку при 4 °C. Доводили концентрацию $MnCl_2$ до 5 мМ и проводили активирование при 55 °C в течение 5, 10, 15, 20 мин для того, чтобы выбрать оптимальное время. Затем гомогенат быстро охлаждали и центрифугировали в течение 30 мин при 6 000 об/мин на холоду. Осадок дважды промывали Трис-НСI буфером, затем повторно центрифугировали в течение 30 мин при 6 000 об/мин на холоду. В супернатант добавляли $(NH_4)_2SO_4$. Таким образом, полученные белковые фракции хранили в холодильнике при -20 °C. Перед тем, как наносить на колонку с сефадексом Г-100, пробы центрифугировали, осадок растворяли в Трис-НСI буфере и подвергали в течение 10 ч диализу, неоднократно меняя 1 мМ Трис буфер. После диализа пробу в объеме 5 мл наносили на колонку с сефадексом Г-100, уравновешенную 5 мМ Трис-НСI буфером (pH 8,3), содержащим 1 мМ $MnCl_2$. Фракции элюировали этим же буфером со скоростью 3 мл/30 мин. Пробы собирали по 3 мл. В отобранных фракциях проводили определение активности аргиназы и концентрации белка. Фракции, обнаружившие активность аргиназы, подвергались ионообменной хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе, уравновешенной 5 мМ Трис-НСI буфером (pH 8,3), содержащим 1 мМ $MnCl_2$, с последующим линейным градиентом концентраций NaCl (от 0,1 до 0,3 М) в этом же буфере. Фракции отбирали по 1,0 мл, в них определяли активность аргиназы и концентрацию белка. Электрофорез в ПААГе проводили в аппарате фирмы "Реанал". Разделяющий гель — 6%; Трис-НСI буфер (pH 8,9), электродный буфер — Трис-глициновый буфер (pH 8,3). Одни трубочки окрашивали амидочерным (0,1% в 7%-ной уксусной кислоте), другие разрезали на кусочки длиной приблизительно 0,5 см и проводили определение активности аргиназы по методу Храмова и Галаева (1979 г.). Кроме того, применяли специфический метод окраски аргиназы, описанный в работе Фаруки, Сахена (6). Трубочки инкубировали в термостате при 37 °C в течение 30—45 мин в растворе, содержащем аргинин (850 мМ), уреазу (2 мг/мл фосфатного буфера (pH 6,2)), 0,6 мл дитиотриетол 0,1 М и 1,3% тетразолий.

Результаты исследований и обсуждение

В результате проведенной работы подобраны условия частичной очистки фермента аргиназы из плероцеркоида *P. phocaum*. Мы обнаружили, что аргиназа исследованных плероцеркоидов осаждается при 60%-ном насыщении сульфатом аммония. Было показано, что добавление Тритона X-100 вызывает повышение активности аргиназы на 42%, что указывает на связь фермента с мембранами клеток. Наши результаты согласуются с результатами Конарской и др. (9), показавшими такую же зависимость в случае аргиназы фибробластов человека. Исходя из этого, мы при выделении фермента аргиназы подвергали гомогенат воздействию Тритона X-100. Нужно отметить, что даже после воздействия детергента в осадке оставалась значительная активность аргиназы. Активирование ионами Mn^{+2} при 55 °C не способствовало повышению активности аргиназы, поэтому активирование при этой температуре было исключено. На



Ионообменная хроматография на ДЕАЕ-целлюлозе фракции аргиназы, полученной после пропуска-
ния через колонку с сефадексом Г-100 белков плероцеркоидов *P. phocaicum*, полученных при 60%-ном
насыщении сульфатом аммония

По оси абсцисс — номер проб, градиент концентраций NaCl, по оси ординат: слева — активность
аргиназы, справа — концентрация белка

рисунке представлены результаты, полученные при ионообменной хроматографии на
ДЕАЕ-целлюлозе фракции аргиназы, полученной после хроматографии на сефадексе
Г-100. Как видно из рисунка, при элюировании ступенчатым градиентом концентраций
NaCl установлено наличие нескольких пиков активности аргиназы. Первый элюирует-
ся Трис-HCl буфером, второй — 0,1M NaCl и третий — 0,2M NaCl.

Электрофоретическое исследование проводили с фракцией, полученной сразу после
диализа и после хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе и элюирования 0,3M NaCl. Электро-
форез в ПААГе и последующее специфическое окрашивание трубочек также показа-
ли наличие трех зон активности аргиназы. Так, нами показано, что фракция белков
60%-ного насыщения сульфатом аммония, подвергнутая электрофорезу в ПААГе,
обнаруживает восемь белковых полос при окрашивании амидочерным и три полосы
при специфическом окрашивании на активность аргиназы. После хроматографии на
ДЕАЕ-целлюлозы и элюирования 0,3M NaCl обнаруживается пять полос при окрас-
ке амидочерным и три полосы при специфическом окрашивании.

Таким образом, с помощью хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе и электрофореза
в ПААГе нам удалось показать наличие у плероцеркоидов *P. phocaicum* трех изоформ
аргиназы. Наличие множественных форм фермента у плероцеркоидов может обеспе-
чить мгновенную компенсацию резкого изменения температуры при попадании из
промежуточного (холоднокровного) в дефинитивного (теплокровного) хозяина.

Авторы выражают глубокую благодарность директору ББС "Мыс Картеш" д-ру
биол. наук В.Я. Бергеру и ст. науч. сотр. ЗИНа В.Г. Кулочковой за оказанную ими
помощь в выполнении данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубовская А.Я. Исследование зависимости активности аргиназы плероцеркоидов *Trichocephalus nodulosus* и *Diphyllobotrium latum* от температуры // Паразитология. 1982. № 6. С. 494—497.
2. Дубовская А.Я. Термостабильность фермента аргиназы цестод и температурный гомеостаз
хозяина // Гельминты сельскохозяйственных и охотничье-промысловых животных. М., 1984.
С. 5—10.
3. Дубовская А.Я., Шишова-Касюточкина О.А. Адаптация и преадаптация гельминтов к темпера-
турному режиму дефинитивного хозяина. (Обзор) // Тр. ГЕЛАН СССР 1984. Т. 32. С. 24—37.
4. Шишова-Касюточкина О.А., Леутская З.К. Биохимические аспекты взаимоотношений гельмин-
та и хозяина. М. Наука, 1979.

5. Храмов В.А., Галаев Ю.В. Тиосемикарбазидная реакция Фирона и ее использование для количественного определения мочевины // *Вопр. мед. химии*. 1971. Т. 15, № 4. С. 435–439.
6. Farooqui J.Z., Saxena K.C. Purification, properties of guinea pig liver arginase // *Ind. J. Biochem. and Biophys.* 1978. Vol. 15. P. 200–205.
7. Isseroff H. Enzymes of proline production in fasciola and schistosoma // *Abstracts of FEBS special meeting on enzymes*. Dubrovnik; Cavtat, 1979.
8. Kurelec B. Catabolic path of arginine and NAD regeneration in the parasite *Fasciola hepatica* // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1975. Vol. 51. P. 151–156.
9. Konarska L., Wiesman U., Fellenberg R., Colombo J.P. Isoenzyme pattern and immunological properties of arginase in normal and Hyperarginemia fibroblasts // *Enzyme*. 1983. Vol. 29, N 1. P. 44–53.
10. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 1. P. 265–267.

УДК 576.895.121:591.69.7.51

АДАПТИВНЫЕ СТРУКТУРЫ ПОКРОВОВ ТЕЛА НЕКОТОРЫХ ЦЕСТОД, СВЯЗАННЫЕ С ЗАЩИТОЙ ПАРАЗИТОВ ОТ ВЛИЯНИЯ ОРГАНИЗМА ХОЗЯЕВ

В.Г. ДАВЫДОВ, В.Р. МИКРЯКОВ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

У цестод, достигших среди плоских червей наибольшей специализации к паразитическому образу жизни, все основные процессы, связанные со взаимоотношениями с организмом хозяев, осуществляются при участии покровов тела (тегумента). В связи с этим изучению тегумента ленточных червей уделяется большое внимание, и к настоящему времени его структурная организация выяснена достаточно полно (35, 38, 14, 42). Тегумент цестод представляет собой синцитий, состоящий из наружного цитоплазматического слоя с расположенными под ним ядродержащими участками (цитонами). Подобная организация покровов получила название "погруженного эпителия". Слой наружной цитоплазмы и цитоны соединены многочисленными отростками. Поверхность тегумента несет особые выросты-микротрихии. Наряду с ультраструктурой покровов широко изучается их абсорбционно-трофическая функция. Вместе с тем полифункциональная природа тегумента цестод включает в себя и его защитные свойства, в первую очередь направленные против иммунного воздействия организма хозяев. Так, поверхностная мембрана тегумента способна адсорбировать сывороточные глобулины и связывать антитела хозяев (29, 43, 45). Широко известна гипотеза антигенной мимикрии гельминтов (30, 18). Получены данные о цитотоксическом действии эффекторных клеток на разных стадиях инвазионного процесса (36, 44, 40). Доказана способность цестод выделять особые вещества (экзометаболиты), подавляющие фагоцитарную и хемотоксическую активность лейкоцитов (1, 2, 5, 6, 3, 4). Однако остается недостаточно исследованной взаимосвязь между структурными изменениями покровов ленточных червей и защитной реакцией организма хозяев, вызванной внедрением паразитов.

Настоящая работа посвящена гистохимическому, ультраструктурному изучению адаптивных структур тегумента у представителей некоторых цестод при их паразитировании в тканях и кишечнике рыб.

Материал и методы

Объектами исследования послужили личиночные и половозрелые стадии развития цестод из различных видов рыб (табл. 1).

Подготовка червей для электронно-микроскопического изучения осуществлялась стандартными методами (25).

Гистохимически в покровах паразитов выявлялись белки, их функциональные

Видовой состав исследованных цестод и их хозяев

Таблица 1

Вид цестод	Стадия развития	Хозяин
<i>Eubotrium rugosum</i>	Половозрелые	<i>Lota lota</i>
<i>Bothriocephalus</i>	"	<i>Cyprinus carpio</i>
<i>Triaenophorus nodulosus</i>	Плероцерконды	<i>Perca fluviatilis</i>
<i>Ligula intestinalis</i>	"	<i>Abramis brama</i>
<i>Schistocephalus solidus</i>	"	<i>Gasterosteus</i>
<i>Diphyllbothrium dendriticum</i>	"	<i>Coregonus autumnalis</i>
<i>Pyramicocephalus focarum</i>	"	<i>Gadus morhua</i> – <i>albi</i>

Гистохимический анализ железистых клеток *Eubotrium rugosum*,
Bothriocephalus acheilognathi (I) и *Triaenophorus nodulosus* (II)

Таблица 2

Выявляемое вещество	Методы выявления	Интенсивность реакции	
		I	II
Суммарные белки	Амидочерный 10 Б (Кононский, 1974)	+++	+++
Тирозинсодержащие белки	Бромфеноловый синий (Пирс, 1962)	+++	+++
– COOH группы белков	По Миллону (Кононский, 1974)	+	+
NH ₂ группы белков	По Барнету и Зелигману (Луппа, 1980)	+	+
– SH группы белков	Нингидриновая реакция (Кононский, 1974)	+++	++
S–S группы белков	По Барнету и Зелигману (Луппа, 1980)	+++	++
РНК	По Пирсу (Кононский, 1974)	0	0
Липиды	По Курнику (Кононский, 1974)	+++	+++
	По Шампи (Пирс, 1962)	0	0
Гликоген	По Лизону (Пирс, 1962)	0	0
Гликопротеины	ШИК-реакция (Пирс, 1962)	0	0
	По Шубичу (1961)	0	0
	По Хейлу (Луппа, 1980)	0	0
	Альциановый синий (Луппа, 1980)	++	0
	Толуидиновый синий (Кононский, 1974)	0	0
	ШИК-реакция после обработки амилазой (диа- зой) (Пирс, 1962)	+++	0
Неспецифические фосфомоноэстеразы:			
а) кислая фосфатаза по Гомори (Лойда и др., 1982)		0	0
б) щелочная фосфатаза по Гомори (Лойда и др., 1982)		0	0

Примечание. 0 – реакция отсутствует, + – слабая реакция; ++ – средняя реакция; +++ – высокая интенсивность окраски.

группы, белково-углеводные соединения, РНК, липиды и неспецифические фосфо-
моноэстеразы (табл. 2). Оценка интенсивности реакций проводилась общепринятыми
в гистохимических исследованиях методами (13).

Экспериментальные исследования включали: 1) инкубацию паразитов в искусст-
венных средах; 2) имплантацию червей в полость тела рыб; 3) воздействие тканевыми
супернатантами и экзометаболитами паразитов на культуры лимфоцитов

В первой серии опытов цестод *Eubotrium rugosum* и *Bothriocephalus acheilognathi*
промывали и помещали в различные инкубационные среды, приготовленные на раство-
ре Хенкса. Использовали следующие варианты сред: раствор Хенкса с добавлением
пепсина в концентрации 0,5%-ного активированного HCl; смесь раствора Хенкса с
нативной сывороткой крови хозяев-паразитов в соотношении 1 : 1; смесь раствора
Хенкса со свежей желчью в том же соотношении. Каждая среда бралась в четырех

повторностях — по 5 экз. червей в каждой. Время инкубации цестод составляло 30 мин, 1, 2, 3, 6, 12 и 24 ч. В качестве контроля использовались паразиты, непосредственно извлеченные из кишечника, а также черви после их культивирования в растворе Хенкса с добавлением глюкозы в концентрации 1 г/л.

Во втором случае извлеченных из кишечника половозрелых *E. rugosum* и *B. acheiloganthi*, а личинок *Triclenophorus nodulosus* из печени тщательно отмывали в растворе Хенкса и через стеклянную канюлю, вставленную в разрез брюшной стенки хозяев-паразитов, вводили в полость тела.

В третьей серии экспериментов использовали культуры лимфоцитов, полученные из селезенки рыб. Лимфоциты культивировали на среде 199, изготавливаемой Всесоюзным научно-исследовательским институтом вирусных препаратов. На лимфоциты воздействовали супернатантами тканей из различных участков стробил и экзометаболитами, выделяемыми в процессе культивирования червей в растворе Хенкса. Навески тканей гомогенизировали при разбавлении средой 199 в соотношении 1 : 10. После центрифугирования надосадочную жидкость добавляли в культуры лимфоцитов в соотношении 1 : 1 и выдерживали 30 мин при температуре +26 °С, после чего вносили суспензию бактерий *Aeromonas punctata* и дополнительно инкубировали среду 30 мин, а затем центрифугировали и из осадка лимфоцитов приготавливали мазки. В контроле вместо супернатанта тканей или экзаметаболитов в среду добавляли физраствор. Каждый вариант опыта осуществляли в четырех повторностях.

На мазках, окрашенных по Рамановскому—Гимза, подсчитывался процент клеток, способных к адгезии бактерий, а также клетки, находящиеся на начальных этапах фагоцитоза.

Результаты исследования и их обсуждение

1. Некоторые особенности структурной организации тегумента цестод в связи с защитными клеточными реакциями хозяев. Как уже указывалось, на поверхности цестод расположены специализированные выросты — микротрихии, состоящие из базальной части, сходной по своему строению с микроворсинками, и электронно-плотной бичевидной апикальной. Основная функция микротрихий — абсорбционно-трофическая, осуществляемая за счет их базальных частей (15, 7). Апикальные участки микротрихий выполняют, как правило, механическую функцию, способствуя прикреплению червей и удержанию их в кишечнике (8). У плероцеркоидов *Ligula intestinalis*, *Schistocephalus solidus*, *Diphyllobothrium dendriticum*, *Pyramicosephalus focarum* апикальные участки микротрихий тонкие, значительной длины, превышающей таковую базальных частей (24, 27, 14). Личинки данных видов цестод паразитируют в полости тела рыб, где находятся в инкапсулированном или свободном состоянии. Очевидно, в этом случае микротрихии не связаны с прикреплением. При электронно-микроскопическом исследовании покровов плероцеркоидов обнаружено, что даже в отсутствии выраженной капсулы личинки всегда окружены лейкоцитарными элементами, расположенными на поверхности слоя микротрихий. Отдельные клетки своими отростками способны проникать между апикальными участками микротрихий, но как правило не вступая в контакт с наружной цитоплазмой тегумента. Толстый "волокнистый" слой, образованный апикальными участками микротрихий, в данном случае препятствует нарушению целостности покровов червей клетками их хозяев (рис. 1, А). В этом проявляется один из возможных путей адаптации личинок цестод к тканевому паразиту в условиях постоянного воздействия клеточных факторов иммунитета.

Пространство между микротрихиями заполнено гликокаликсом, сходным с таковым щеточной каймы кишечного эпителия позвоночных животных и формирующегося покровами червей (37, 38). Функции гликокаликса связывают в основном с процессами питания и защиты паразитов от ферментов хозяев (38). В его состав, так же как и в состав наружной цитоплазмы тегумента, входят различные типы белково-углеводных соединений (гликопротеинов) (39, 37, 9).

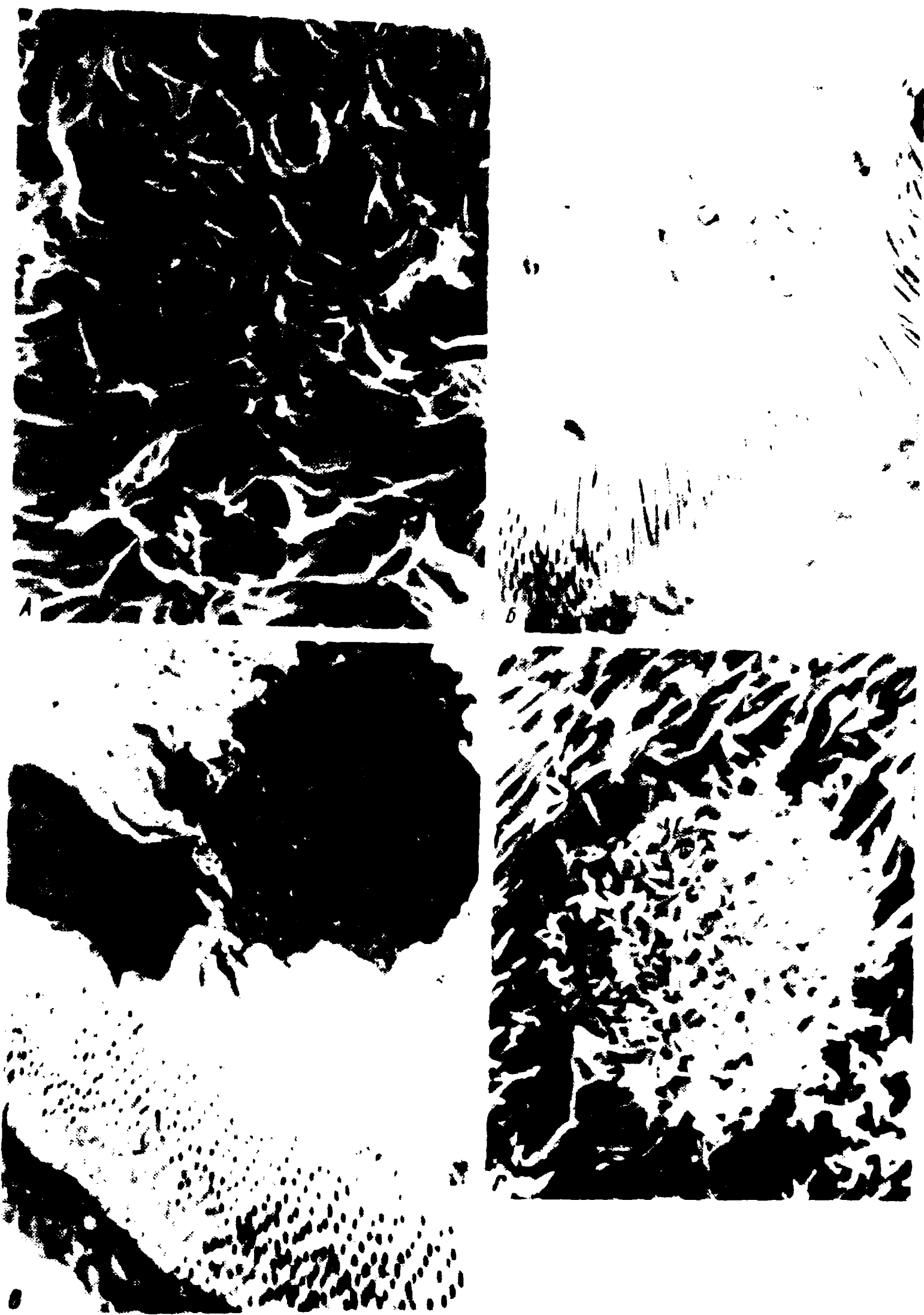


Рис. 1. Ультраструктура покровов плероцеркондов цестод

А — *Ligula intestinalis*: переплетенные микротрихии (ув. 2666); Б — *Triaenophorus nodulosus*: толстый слой гликокаликса на поверхности паразитов (ув. 7200); Б' — *T. nodulosus*: лейкоциты в слое гликокаликса (ув. 8200); Б'' — *T. nodulosus*: лимфоцит на поверхности паразита, покрытый фрагментами микротрихий (ув. 6666)

Слой микротрихий всех исследованных нами видов содержит кислые, нейтральные и сialogликопротеины.

Наиболее развитый гликокаликс выявлен у плероцеркондов *Triaenophorus nodulosus*. Его толщина в несколько раз превосходит толщину слоя микротрихий (рис. 1, Б). Лейкоцитарно-лимфоидные элементы, окружающие личинки, сосредоточены на поверхности гликокаликса, не проникая в его толщу (рис. 1, Б'). Однако при искусствен-

ном разрушении гликокаликса, что достигается промывкой червей гипотоничным физраствором с последующей имплантацией плероцеркоидов в полость тела хозяев, наблюдается активное разрушение лейкоцитами поверхности червей. Этот процесс начинается с адгезии на поверхности лейкоцитарных клеток апикальных участков микротрихий и их фагоцитоза (рис. 1, Г). Часть клеток проникает в наружную цитоплазму и лизирует ее отдельные участки. Таким образом, наряду с абсорбционно-трофической функцией гликокаликс способствует созданию "химического барьера", препятствующего цитолитическому действию лейкоцитарных элементов. Следует отметить, что кислые гликопротеины (гликозаминогликаны), которыми, как отмечалось, богат гликокаликс цестод, обладают и иммунодепрессивными свойствами (22).

2. Структура и функциональная роль экзокринных желез некоторых цестод во взаимоотношениях между паразитом и хозяином. Исследования последних лет показали наличие у цестод, как и у других классов плоских червей, экзокринных желез, связанных с покровами и играющих важную роль в осуществлении жизненных циклов и циркуляции паразитов в системе промежуточных и окончательных хозяев (41, 28, 12, 11). Высказывались предположения о защитной функции железистых образований, направленной на нейтрализацию иммунного воздействия организма хозяев (10).

У плероцеркоидов *Triaenophorus nodulosus*, а также половозрелых *Eubothrium rugosum* и *Bothriosephalus acheilognathi* железистые образования гомологичны по происхождению, но отличаются по степени развития, локализации и химическому составу секрета.

Железы *E. rugosum* при светооптических исследованиях выявляются как одиночные клетки, лежащие в центральной паренхиме сколекса. Незначительное число этих клеток находится в паренхиме и покровах передних отделов стробил. В отличие от *E. rugosum* у *B. acheilognathi* железистых клеток во много раз больше. Они во множестве заполняют покровы ботрий и передних отделов стробил.

Применение электронно-микроскопических методов исследования показало, что железистые клетки обоих видов цестод связаны между собой тонкими цитоплазматическими отростками. Строение железистых клеток, способы формирования и выведения секрета у *E. rugosum* и *B. acheilognathi* чрезвычайно сходны. Железы образуются из малодифференцированных клеток, в процессе дифференцировки которых в цитоплазме образуется множество диктиосом аппарата Гольджи и свободных рибосом, тогда как эндоплазматический ретикулум не достигает значительного развития. От диктиосом отделяются мелкие пузырьки, сливающиеся в более крупные конденсационные вакуоли, заполненные зернистым содержимым, в которых происходит "созревание" секрета (рис. 2, Г). Сформированный секрет имеет вид округлых электронно-плотных гранул. Секрет, плотно заполняющий цитоплазму дифференцированных клеток, транспортируется по отросткам в наружную цитоплазму тегумента. Отростки железистых клеток непосредственно сливаются с наружным цитоплазматическим слоем покровов, не образуя специализированных контактов и не отграничиваясь мембранами. Последнее свидетельствует о происхождении желез из элементов покровов, отдельные участки которых в процессе эволюции специализировались на направлении железистой функции и погрузились в паренхиму.

В местах слияния отростков железистых клеток с наружной цитоплазмой тегумента на поверхности червей образуются округлые выросты, в которых скапливаются секреторные гранулы (рис. 2, Б, В). Эти железистые выросты во множестве обнаруживаются на поверхности сколексов и передних отделах стробил паразитов (рис. 2, А). Выход секрета во внешнюю среду осуществляется апокриновым способом. При этом происходит отшнуровывание участков цитоплазмы, заполненных секреторными гранулами. Наряду с этим наши наблюдения позволяют предполагать и наличие мерокринового способа выделения секрета.

Сходная структура желез выявлена ранее у близких к исследованным видам цестод: *B. ascripti* (34) и *E. stenosomum* (28).

Химический состав железистого секрета *B. acheilognathi* и *E. rugosum* до настоящего

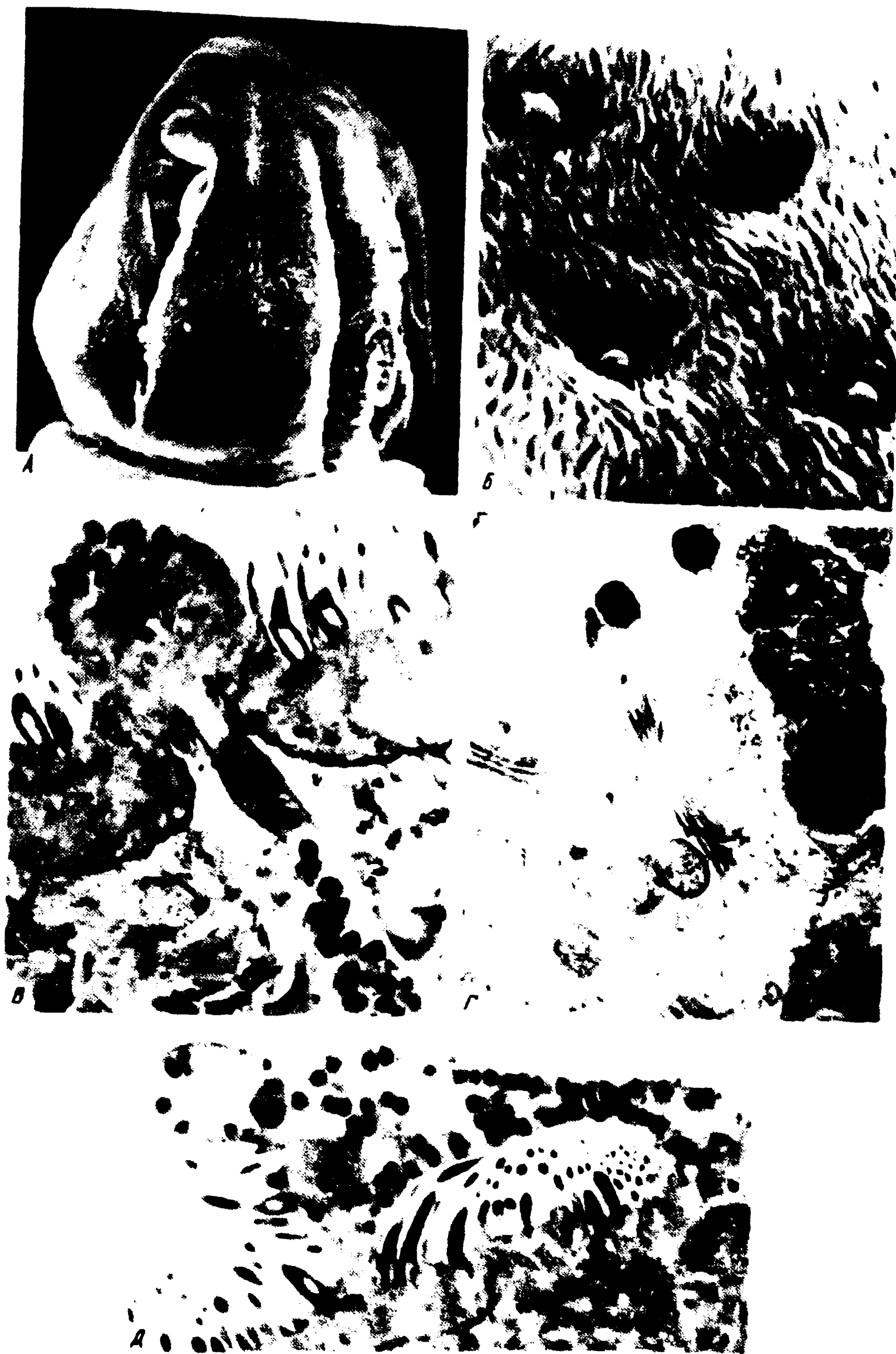


Рис. 2. Ультраструктура покровов *Bothrioscerphalus acheilognathi*

А — сколекс половозрелого червя, покрытый железистыми выростами (ув. 146,6); Б — отдельные железистые выросты (ув. 5333); В — железистый вырост с гранулами секрета (ув. 16000); Г — формирование секрета в диктиосомах аппарата Гольджи (ув. 34666); Д — структура железистого выроста после имплантации червя в полости тела рыб (ув. 11333)

Распределение железистых выростов на разных участках тела
Bothriocaphtalus achellognathi в норме и при имплантации в полость тела карпов

Участок тела червей	Распределение железистых выростов (10 000 мкм ²)		
	Норма	1 сут имплантации	3 сут имплантации
Сколекс	354 ± 23	379 ± 30	474 ± 28
Часть стробилы			
передняя	113 ± 8	313 ± 27	310 ± 21
средняя	1,0 ± 0,6	90 ± 4	313 ± 29
задняя	1,0 ± 0,4	63 ± 8	89 ± 9

времени не изучен, поэтому мы приводим его гистохимическую характеристику (табл. 2). Из данных гистохимического анализа следует, что секрет не содержит свободных липидов, полисахаридов типа гликогена и неспецифических фосфомоноэстераз (кислой и щелочной фосфатазы). Отсутствие последней группы веществ свидетельствует о том, что деятельность желез не связана с абсорбционно-трофическими процессами, характерными для большинства клеток покровов цестод. Положительная реакция на белки и наличие значительного количества РНК в цитоплазме железистых клеток указывают на присутствие в составе секрета белковых соединений богатых SH и NH₂-группами. Реакция на кислые гликопротеины отрицательная, но при Шик-реакции в железах выявляются амилазо- и диастазорезистентные компоненты. Результаты проведенных гистохимических реакций позволяют заключить, что секрет желез представляет собой белково-углеводный комплекс, состоящий из гликопротеинов, полисахаридная часть которых содержит остатки сиаловых кислот (сиалогликопротеины). Последнее вытекает из положительной окраски секрета альциановым синим.

Культивирование цестод в средах, содержащих пищеварительные ферменты (растворы пепсина и желчи), не вызывает существенного увеличения функциональной активности желез. Напротив, инкубация червей в растворах сыворотки крови приводит к значительной стимуляции секреторной активности железистых клеток. В первые часы опыта концевые отделы протоков в результате переполнения секретом сильно расширяются, а в дальнейшем, через 10–12 ч, наблюдается уменьшение количества секрета в цитоплазме клеток.

С целью активной стимуляции ответной реакции паразитов на воздействие организма хозяина осуществлена серия экспериментов по имплантации червей, извлеченных из кишечника, в полость тела рыб. При этом в области имплантации развивается воспалительный процесс, картина которого типична для реакции на инородное тело. В клеточном экссудате, окружающем червей, отмечено большое количество лимфоцитов, эозинофилов и макрофагов. Часть этих клеток осаждается на поверхности стробил и нарушает целостность слоя микротрихий. Имплантация *E. rugosum* и *B. achellognathi* вызывает интенсивную секреторную деятельность желез, выражающуюся в образовании большого числа железистых выростов на поверхности стробил. Эти выросты хорошо просматриваются в сканирующем электронном микроскопе и поддаются количественному учету. Очевидно, что вариации в количестве выростов сопряжены со степенью секреторной активности желез. Так, в норме на передних отделах тела половозрелых *E. rugosum* обнаруживается от 6500 до 8000 выростов на 1 мм² поверхности. После имплантации уже в первые 6 ч количество возрастает и достигает максимума на 2–3 сут, составляя 17 000–20 000 выростов на 1 мм². Следует особо отметить, что у имплантированных червей число железистых выростов увеличивается не только на сколексе и передних отделах стробилы, но и по всей стробиле, чего не наблюдается в контроле, т.е. у паразитов, извлеченных из кишечника. В период высокой секреторной активности железистые выросты приобретают большие размеры и иную

Т а б л и ц а 4

Изменение адгезионной способности лимфоцитов налима
при воздействии паразитным антигеном *Eubotrium rugosum*

Характер вносимого антигена	Процент клеток адгезировавших бактерий
Супернатанты тканей сколексов	$5,3 \pm 1,3$
средних участков стробил	$25,6 \pm 3,3$
Контроль (воздействие физраствором)	$28,3 \pm 3,5$

Т а б л и ц а 5

Подавление адгезионной способности лимфоцитов карпа
экзометаболитами *Bothrioccephalus acheilognathi*

Характер экзометаболитов	Процент клеток адгезировавших бактерий
Экзометаболиты червей	
после их имплантации в течение 3 сут	$10 \pm 0,5$
извлеченные из кишечника	$31,5 \pm 3,4$
Контроль (воздействие физраствором)	$53 \pm 4,7$

конфигурацию. Они могут быть неправильной отросчатой формы, сливаться между собой апикальными участками (см. рис. 2, Д). Наиболее подробно процесс увеличения числа железистых выростов в зависимости от сроков имплантации прослежен на примере *B. acheilognathi* (табл. 3).

Электронно-микроскопические и гистохимические исследования показали, что увеличение числа железистых выростов связано не только с образованием новых отростков клеток, но и с модификацией цитонов тегумента, в особенности в средних и задних участках стробил червей.

Таким образом, активация железистых образований половозрелых цестод *E. rugosum* и *B. acheilognathi* находится в прямой связи с интенсивностью защитных реакций хозяев. Для выявления механизмов, подавляющих эти реакции, проделана серия экспериментов по воздействию паразитарного антигена на культуру иммунокомпетентных клеток рыб. Паразитарные антигены *E. rugosum*, представляющие собой супернатанты тканей из различных участков стробил, добавляли в культуру лимфоцитов, после чего исследовалась адгезионная способность последних. Обнаружилось, что супернатанты тканей из тех участков стробил, которые не содержали железистых образований, не оказывают достоверного воздействия на адгезионные способности и начальные этапы фагоцитоза лимфоцитов, тогда как супернатанты тканей сколекса, богатые продуктами секреции, снижали их в среднем в 5 раз (табл. 4).

Воздействие продуктов секреции железистых образований на антигенраспознающую функцию лимфоцитов показано и в экспериментах с *B. acheilognathi*. В этом случае на культуру лимфоцитов воздействовали экзометаболитами червей, культивируемых на среде 199. Экзометаболиты, полученные от извлеченных из кишечника червей, снижали антигенраспознающую функцию лимфоцитов, а экзометаболиты червей после имплантации их в течение 3 сут в значительной степени подавляли ее (табл. 5)

В отличие от исследованных нами половозрелых червей, у которых активность железистых образований наблюдается на протяжении всего периода их жизнедеятельности, у плероцеркоилов *T. podulosus*, являющихся тканевыми паразитами, активное функционирование желез имеет место лишь в определенные моменты онтогенеза.

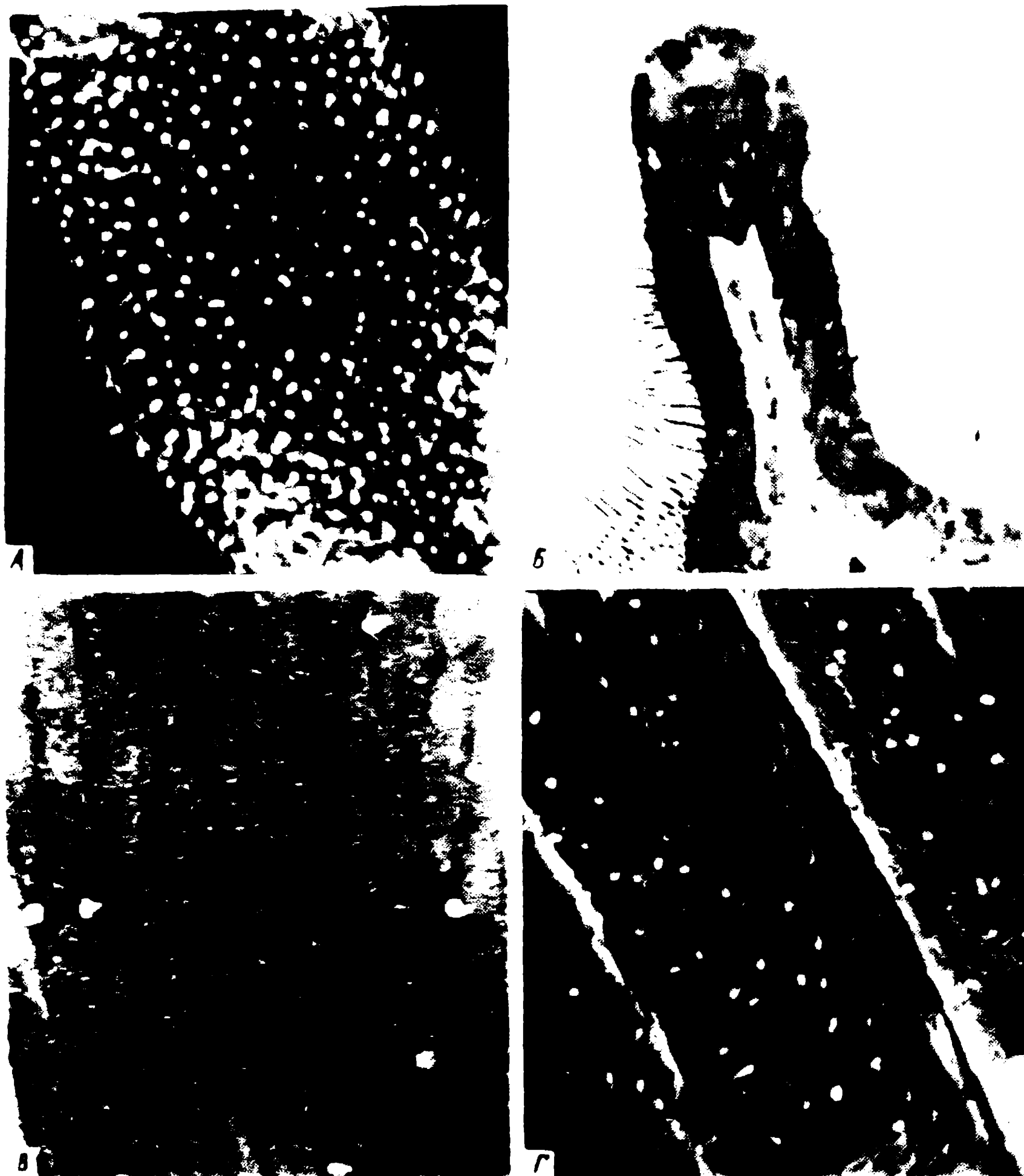


Рис. 3. Ультраструктура покровов плероцеркоидов *Trienophorus nodulosus* на разных стадиях их развития

А – многочисленные железистые выросты на покровах личинок, находящихся на начальных стадиях морфогенеза (ув. 300); Б – отдельный железистый вырост (ув. 6666); В – покровы сформированных инкапсулированных плероцеркоидов с единичными железистыми выростами (ув. 600); Г – увеличение числа железистых выростов на покровах сформированных личинок после их имплантации в полость тела рыб (ув. 466)

При попадании во второго промежуточного хозяина паразиты в большинстве случаев мигрируют в печень, преодолевая тканевые барьеры с помощью желез проникновения, расположенных в переднем конце личинок (12). На начальных этапах морфогенеза паразитов в печени воспалительная реакция выражается в образовании вокруг личинок лейкоцитарно-лимфоидного вала. Последний состоит преимущественно из лимфоцитов и небольшого количества макрофагов и фибробластов. На этом этапе морфогенеза плероцеркоидов подавляющее число цитонов тегумента специализируется в железистом направлении. Отходящие от цитонов отростки подходят к наружной цитоплазме тегумента и сильно выпячивают ее, в результате чего образуются пальцеобразные выросты, напоминающие ворсинки кишечника (рис. 3, А, Б). В поперечном сечении

Увеличение абсорбционной поверхности плероцеркоидов
Triaenophorus nodulosus за счет специализированных структур

Т а б л и ц а 6

Абсорбционная поверхность	Личинки в период морфогенеза	Сформированные личинки
Увеличение поверхности за счет микротрихий	$9,9 \pm 1,6$	$13,6 \pm 1,7$
железистых выростов	$4,3 \pm 0,9$	—
Суммарное увеличение поверхности	$42,6 \pm 3,1$	—

они имеют округлую форму, а в центре располагается железистый отросток с секретом. Последний сливается с наружной цитоплазмой тегумента на апикальном конце выроста, куда поступает секрет, плотно заполняющий этот участок цитоплазмы. Выход секрета происходит апокриновым способом. Наряду с железистым секретом в апикальных участках выростов скапливаются и липидные гранулы "выбрасываемые" совместно с секретом. Следует отметить, что в остальных участках наружной цитоплазмы тегумента липиды отсутствуют. Не исключено, что подобное совместное выведение связано с необходимостью растворения (активации) секрета в липидах.

Формирование секрета происходит в диктиосомах аппарата Гольджи. От них отшнуровываются мелкие вакуоли, заполненные гомогенным электронно-плотным секретом, которые сливаются в более крупные округлые гранулы. Конденсационных вакуолей не отмечено. В клетках присутствует хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум.

Гистохимический анализ секрета свидетельствует о его преимущественно белковом ~~оставе: гликопротеины в железах выявляются в очень небольшом количестве.~~

Как показал морфометрический анализ, выполненный с применением специальных методов (31), за счет железистых выростов значительно увеличивается поверхность личинок, что усиливает абсорбционно-трофическую функцию покровов (табл. 6). Это обстоятельство особенно важно в период интенсивного роста плероцеркоидов и поглощения ими питательных веществ (9).

Окружающие развивающийся плероцеркоид лейкоцитарно-лимфоидные элементы вступают в контакт с поверхностными структурами паразита. Однако значительных нарушений в покровах не происходит. На отдельных участках поверхность червей покрыта тонкой цитоплазматической сетью, формируемой фибробластами. Встречаются лейкоциты, абсорбирующие на своей поверхности апикальные участки микротрихий *T. nodulosus*. Способность лейкоцитов к фагоцитозу микротрихий показана и при экспериментах на плероцеркоидах *Ligula intestinalis* (32, 33).

Воспалительная реакция завершается инкапсуляцией паразитов. Этот процесс начинается с концентрации (на границе с тканью печени) фибробластов, располагающихся в несколько слоев. Постепенно среди них формируются коллагеновые и эластиновые волокна и кровеносные капилляры. Нередко стенки капсулы инфильтрированы лимфоцитами и макрофагами. По мере образования вокруг личинок фибробластической капсулы из их покровов исчезают железистые клетки и выросты тегумента. Только в передних участках тела обнаруживаются единичные железистые выросты (рис. 3, В). Подобные изменения дают возможность предположить связь железистых образований с защитой от воспалительной реакции. С целью проверки этого предположения сформированные плероцеркоиды извлекались из капсул и вновь имплантировались в полость тела тех же окуней. Подобная операция приводила к интенсификации воспалительной реакции, вызванной внедрением паразитов. На 3–6-е сутки имплантации в покровах плероцеркоидов наблюдалось появление в цитонах тегумента секреторных гранул и образование на поверхности личинок железистых выростов (рис. 3, Г). Наряду с этим воздействие экзометаболитов, полученных при культивировании неформи-

Т а б л и ц а 7

**Подавление антигенраспознающей функции лимфоцитов окуней
экзометаболитами плероцеркоидов *Triaenophorus nodulosus*
(количество антигенраспознающих клеток в контроле
принято за 100%)**

Стадия формирования плероцеркоидов	Процент антигенраспознающих клеток
Плероцеркоиды	
несформированные	44,7 ± 5,5
сформированные	85 ± 4,5

рованных личинок и содержащих секреторные продукты, на культуру лимфоцитов в гораздо большей степени угнетало их антигенраспознающую функцию, чем воздействие экзометаболитов сформированных личинок, обладающих слаборазвитыми железами (табл. 7).

Результаты проделанной работы свидетельствуют, что железистые образования исследованных цестод не принимают участия в абсорбционно-трофических процессах и не активизируются пищеварительными ферментами. У половозрелых цестод железы проявляют повышенную секреторную активность при воздействии нативной сыворотки крови, содержащей гуморальные факторы иммунитета. Вместе с тем активность желез зависит от интенсивности защитных клеточных реакций хозяев. Так, имплантация червей в полость тела рыб, сопровождающаяся развитием воспалительной реакции, приводит не только к значительному увеличению секреторной активности имеющихся желез, но и к образованию секрета в щитонах тегумента, ранее не связанных с выполнением этой функции. Наряду с этим паразитарные антигены, содержащие продукты секреции, снижают адгезионные свойства иммунокомпетентных клеток, подавляя тем самым их антигенраспознающую и киллерную функции. Сходные результаты получены и другими авторами, показавшими подавление хемотоксической и фагоцитарной активности лейкоцитов при воздействии на них культуральной среды, содержащей экзометаболиты паразитов (3, 5).

У половозрелых цестод железистые образования приурочены к органам прикрепления — сколексам и передним участкам стробил, имеющим наиболее тесный контакт с тканями хозяев. Плероцеркоиды *T. nodulosus* на протяжении всего периода своей жизнедеятельности находятся в тесном взаимодействии с тканевыми структурами. Следствием прикрепления паразитов и внедрения их в ткани является та или иная степень нарушения целостности последних, что влечет за собой возникновение воспалительного процесса, способного привести к отторжению червей. В связи с этим и основываясь на полученных данных, можно предположить, что секрет экзокринных желез изученных нами цестод обладает иммунодепрессивными свойствами, а функциональная роль желез сводится к подавлению защитных реакций организма хозяев, вызванных внедрением паразитов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аграновский З.М., Харахоркина К.Д. Некоторые показатели клеточного иммунитета при экспериментальном дифиллоботриозе // Тр. Ленингр. сан.-гигиен. мед. ин-та. 1974а. Т. 107. С. 84–89
2. Аграновский З.М., Харахоркина К.Д. Состояние иммунобиологической реактивности организма у больных дифиллоботриозом // Тр. Ленингр. сан.-гигиен. мед. ин-та. 1974б. Т. 107. С. 89–92.
3. Березинцев Ю.А. Подавление воспалительной клеточной реакции личинками гельминтов и специфичность их инкапсуляции в тканях хозяев // Докл. АН СССР. 1975. Т. 220, № 1. С. 227–229.
4. Березинцев Ю.А. Проблема тканевого паразитизма // Паразитология. 1982. Т. 16, № 4. С. 265–273.
5. Березинцев Ю.А., Гаврилова Е.П., Опарин Е.Н. Угнетение фагоцитарной и хемотоксической

39. *Mathukrishnan S.* Studies on the integument of cestodes. VI Histochemical studies on the fate of structural polysaccharide in the integument of gravid proglottides of *Taenia hudatigena* // *Acta histochem* 1975. Vol. 54, N 1. P. 1–4.
40. *Richards K.S., Arme C., Bridges J.F.* Echinococcus granulosus: An ultrastructural study of murene tissue response hudadid cysts // *Parasitology*. 1983. Vol. 86, N 3. P. 407–417.
41. *Smyth J.D.* Physiology of cestodes. San Francisco, 1969.
42. *Treadgold L.T.* Parasitic platygelminths // *Biol. Integument*. 1984. Vol. 1 P. 132–191.
43. *Treadgold L.T., Befus A.D.* Hymenolepis diminuta: Ultrastructural localization of immunoglobulin-binding sites on the tegument // *Exp. Parasitol.* 1977. Vol. 43, N 1. P. 169–179.
44. *Washington E.A., Barton A.M., Nicholas W.L.* Mesocostoides corti in the rat: The cellular response in the peritoneal cavity of rats infected with Mesocostoides corti // *Intern. J. Parasitol* 1984. Vol. 14, N 4. P. 395–399.
45. *Willms K., Arcos L.* Taenia solium: Host serum proteins on the c cycticercus surface identified by an ultrastructural immunoenzyme technique // *Exp. Parasitol.* 1977. Vol. 43, N 2. P. 396–406.

УДК 576.895.132:591.8

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНЕЙ ТРЕМАТОДЫ OPISTHORCHIS FELINEUS ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРАЗИКВАНТЕЛЯ

Ю.К. БОГОЯВЛЕНСКИЙ, Л.В. НАЧЕВА, Л.В. ЧЕРНЯВСКАЯ

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Празиквантель первоначально нашел широкое применение в медицине и ветеринарии при цестодозах (6, 7, 9, 12). В настоящее время считается, что он и его аналоги перспективны и при химиотерапии трематодозов (1, 5).

Однако механизм действия данного антигельминтика, одним из показателей которого являются степень его разрушающего воздействия на ткани и органы гельминта и обратимость структурных нарушений, без привлечения микроморфологических и гистохимических методов выявлен быть не может. В связи с этим в последние годы стали проводиться гистологические и гистохимические исследования тканей и систем органов различных гельминтов после применения празиквантеля (3, 2, 4, 11).

Настоящая работа посвящена патоморфологическим и гистохимическим исследованиям тканей и органов трематод *Opisthorchis felineus* после воздействия на них этого препарата.

Мариты трематод извлекались из желчных протоков печени золотистых хомяков, вскрытых через две недели после 5-дневного лечения празиквантелем, в дозе 100 мг/кг живого веса. Другая группа описторхисов собрана от золотистых хомяков, вскрытых через разные промежутки времени (6, 18 и 24 ч) после введения празиквантеля, в дозе 200 мг/кг живого веса. Средний вес хомяков – 50 г. Гельминтов фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и 70–80°-ных спиртах.

Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Ганзена с эозином и по Маллори. Кислые мукополисахариды выявляли с помощью окраски альтаиновым синим по Сиддмену и Моури при pH среды 1,0–3,2. Относительное количество и распределение гликогена и гликопротеинов в норме и при действии антигельминтика выявляли, используя метод Мак-Мануса с Шифф-реактивом. Суммарные белки определяли, применяя сулему-бромфеноловый синий по Бонхегу. Соответственно этим методам были поставлены ферментативные и химические контрольные реакции. Статистический анализ морфометрических данных яиц описторхисов в норме (контрольная группа) и после воздействия препарата позволил получить объективную оценку изменений структур яиц.

- активности лейкоцитов личинками некоторых видов цестод и нематод // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1976. Т. 12, № 3. С. 240–244.
6. Березанцев Ю.А., Опарин Е.И. Телергоны личинок цестод, ингибирующие хемотоксис лейкоцитов хозяев // Докл. АН СССР. 1976. Т. 226, № 5. С. 1236–1239.
 7. Бисерова Н.М. Сравнительное морфофункциональное исследование покровов некоторых низших цестод: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1986.
 8. Бисерова Н.М., Куперман Б.И. Морфофункциональная дифференциация покровных тканей цестоды *Acanthobothrium dujardini* // Паразитология. 1983. Т. 17, № 5. С. 382–390.
 9. Давыдов В.Г. Гистохимическое изучение псевдофиллидных цестод // Физиология и паразитология пресноводных животных: Тр. Ин-та биол. внутр. вод АН СССР. 1979. Вып. 38 (41). С. 189–200.
 10. Давыдов В.Г. Сравнительное морфофункциональное изучение некоторых систем органов цестод отряда Pseudophyllidea: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1981.
 11. Давыдов В.Г., Бисерова Н.М. Морфология двух типов фронтальных желез *Grillotia erinaceus* // Паразитология. 1985. Т. 19, № 1. С. 32–37.
 12. Давыдов В.Г., Куперман Б.И. Структура фронтальных желез у представителей трех отрядов цестод // Физиология и паразитология пресноводных животных. Л., 1979. С. 177–188. Тр. Ин-та биол. внутр. вод; Вып. 38 (41).
 13. Комонский А.И. Гистохимия. Киев: Вища шк., 1976.
 14. Куперман Б.И. Ультраструктура покровов цестод и ее значение для систематики // Паразитол. сб. ЗИН АН СССР. 1980. Т. 29. С. 84–95.
 15. Куперман Б.И. Функциональная морфология низших цестод: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1982.
 16. Куперман Б.И., Давыдов В.Г. (Kuperman B.I., Davydov V.G.). The fine structure of frontal glands in adult cestodes // Int. J. Parasitol. 1982. Vol. 13, N 4. P. 285–293.
 17. Куперман Б.И., Давыдов В.Г. (Kuperman B.I., Davydov V.G.). The fine structure of glands in oncospheres, proceroids and plerocercoids of pseudophyllidea // Int. J. Parasitol. 1981. Vol. 12, N 2/3. P. 135–144.
 18. Лейкина Е.С. Антигены гельминтов и их общность с антигенами хозяина // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1970. Т. 39, № 3. С. 349–355.
 19. Лейкина Е.С. Цитотоксическая активность эффекторных клеток как фактор протективного иммунитета при гельминтозах // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1983. Т. 61, № 2. С. 58–65.
 20. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. М.: Мир, 1982.
 21. Луппа Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1980.
 22. Петрова И.В., Васильева Л.Л. Влияние гликозаминогликанов на способность лимфоцитов и нейтрофилов к розеткообразованию in vitro // Иммунология. 1983. № 1. С. 77–79.
 23. Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во иностр. лит., 1962.
 24. Тимофеев В.А. Строение кутикулы *Schistoscephalus pungitii* на разных фазах его развития в связи с особенностями питания цестод // Цитология. 1964. Т. 6. С. 50–60.
 25. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975.
 26. Шубич М.Г. Метод электрокраски кислых (сульфатированных) мукополисахаридов основным коричневым // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1962. Т. 51, № 2. С. 116–119.
 27. Andersen K. Comparison of surface topography of three species of Diphyllbothrium by scanning electron microscopy // Intern. J. Parasitol. 1975. Vol. 5, N 3. P. 293–300.
 28. Arme C., Threadgold L.T. A unique tegue tegumentary cell type unicellular glands associates with the scolex of Eubotrium grassum // Rice Univ. Stud. 1976. Vol. 62, N 4. P. 21–34.
 29. Befus A.D. Hymenolepis diminuta: Mouse immunoglobulins binding to the tegumental surface // Exp. Parasitol. 1977. Vol. 41, N 1. P. 242–251.
 30. Damian R. Molecular mimicry: Antigen sharing by parasite and host and its consequences // Amer. Natur. 1964. Vol. 98, N 900. P. 129–149.
 31. Graeber K., Storch V. Elektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen am Integument von Cestoda und Trematoda // Zool. Anz. 1979. Bd. 202, N 5/6. S. 331–347.
 32. Hool D., Arme C. Ligula interstitialis: An ultrastructural study of the cellular response of roach fru *Rutilus* // Intern. J. Parasitol. 1983. Vol. 13, N 4. P. 359–365.
 33. Hool D., Arme C. Ultrastructural studies on the cellular response of fish hosts following experimental infection with the plerocercoid *Ligula interstitialis* // Parasitology. 1983. Vol. 87, N 1. P. 139–149.
 34. Jones A. The morphology of *Bothriocephalus scorpii* from littoral fishes in Britain // J. Helminthol. 1975. Vol. 49, N 4. P. 251–261.
 35. Lee D.L. The structure of the helminths cuticle // Adv. Parasitol. 1972. Vol. 10. P. 347–379.
 36. Letort T., Riklin V., Hammarberg C. Differential cellular response of resistant and susceptible rats to the early stages of infection of *Taenia taeniaformis* // Intern. J. Parasitol. 1981. Vol. 14, N 6. P. 551–558.
 37. Lumaden R.D. Relationship of extrinsic polysaccharides to the tegument (GlucoCalyx) of cestodes // J. Parasitol. 1974. Vol. 60, P. 377–379.
 38. Lumaden R.D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasite helminths // Exp. Parasitol. 1975. Vol. 37, N 2. P. 267–339.

Результаты исследований

В различных тканях и органах исследуемых гельминтов, как показали наши исследования, празиквантель вызывает неоднозначные патоморфологические изменения, следствием которых являются выраженные в различной степени дистрофические процессы, постоянно приводящие к некрозу тканей. Изменения тканей паразита изучались в динамике. Через 6 ч после применения препарата в дозе 200 мг/кг токсическое влияние антигельминтика проявляется в нарушении коллоидно-осмотических процессов, что в значительной степени влияет на адаптационные возможности паразита в организме хозяина. В первую очередь изменяются эктосоматические органы — тегумент и кишечник. Наряду с инфильтрацией наружной зоны тегумента и апикальной части кишечного эпителия паразита происходит декомпозиция тканей с появлением локусов полного разрушения. Внутренняя часть тегумента и базальная зона клеток кишечного эпителия вакуолизируются.

В ядрах снижается содержание белка, в то время как в промежуточном веществе повышается количество суммарных белков. В ячейках прилежащей паренхимы в норме богатых гликогеном и другими веществами, входящими в состав периваскулярной жидкости ячеек, после воздействия празиквантеля наблюдается снижение интенсивности окраски при Шик-реакции. Количество гликогена уменьшается, что связано с интенсификацией процессов катаболизма гликогена в организме сосальщика и нарастающей углеводной дистрофией.

Усиление алыцианофилии в тегументе и кишечном эпителии паразитов свидетельствует о развивающихся дистрофических процессах, следствием которых является гиперсекреция гексозаминогликанов (см. рисунок, А). Через 6 ч после введения празиквантеля органы репродуктивной системы также претерпевают различные изменения. В клетках тельца Мелиса и в окружающих его ячейках паренхимы в равной степени развиваются процессы инфильтрации, ведущие к разрушению цитоплазматической мембраны.

В матке под влиянием празиквантеля накапливаются кислые глюкозаминогликаны. Скорлупа яиц становится проницаемой и пропитывается белково-углеводным комплексом. Содержимое яиц сжимается. В клетках желточников уменьшается количество желточных гранул, а ядра находятся в состоянии пикноза. По сравнению с нормой желточные фолликулы выглядят менее заполненными клетками.

В половых железах описторхисов деструкция выражена сравнительно слабо, причем цитокомпозиционный рисунок несколько больше изменяется в семенниках. Количество суммарных белков в эпителиальных железах снижается.

Через 18 ч после введения празиквантеля патоморфологические изменения в тканях и органах *O. felineus* становятся более выраженными. На всем протяжении тела паразита наружная часть тегумента разрушается. Объем семенных пузырьков увеличивается за счет набухания сперматозоидов и коллоида вокруг них, пропитанного белками.

Через 24 ч после введения празиквантеля в тканях *O. felineus* имеют место ярко выраженные явления некроза. Тегумент полностью разрушается на всем протяжении тела гельминта. Кишечный эпителий атрофируется, и лишь частично сохраняются его контуры. Паренхима расплавляется. Желточные фолликулы разрушаются, и на их месте локализируются остаточные склеротизированные желточные гранулы. Начальные отделы матки распадаются. Яйца не формируются. Некоторые яйца сохраняются в средней части матки, но содержимое их представлено расплавленной массой (см. рисунок, Б). Сохранившиеся в матке яйца не проявляют положительной Шик-реакции и слабо окрашиваются на белок, но вместе с тем их сродство к алыцианофилии сохраняется. Другие органы репродуктивной системы — железы, тельце Мелиса, простата, семенники, яичник — полностью разрушаются.

Патологические явления в организме описторхисов наблюдаются также и через 5 сут после действия празиквантеля в дозе 100 мг/кг. Наибольшая степень выявлена в наружном покрове паразита, в эпителии кишечника, в паренхиме, мембранах, тельце Мелиса и желточниках. Наружная часть тегумента при этом разрушается. В сохранившейся

Таблица 1

Распределение углеводов и белков в тканях и органах описторхисов в норме и через 5 сут после воздействия празиквантела в дозе 100 мг/кг

Ткань, орган	До воздействия			После воздействия		
	Шик-реак-ция	БФС	АС	Шик-реак-ция	БФС	АС
Дистальная часть тегумента	+	+++	+++	-	++	+++
Проксимальная часть тегумента	++	+++	++	+	++	+++
Периферическая паренхима	++	++	-	+	-	-
Эпителий кишечника	++	++	+++	+	+	++++
Стенка матки	+++	++	++	+	+	+++
Скорлупа яиц	-	-	-	+	++	++
Содержимое яиц	++	++	-	+	-	+++
Яйцевод	++	++	-	+	-	-
Желточники	+	++	-	-	-	-
Яичник	++	++	-	-	-	-
Семенники	++	++	-	-	-	-
Семенные пузырьки	+++	++	+	++	+	-
Семязыводящие каналы	+++	+++	+	++	+	-
Простата	++	++	-	-	-	-
Тельце Мелиса	++	++	-	-	-	-
Паренхима вокруг органов половой системы	+++++	+++	+	++	+	-
Присоски	+++++	++++	+	++	+	-

Примечание + (плюс) – интенсивность положительной реакции; – (минус) – отрицательная реакция; Шик-реакция – окраска по Мак-Манусу на гликоген и мукопротенины; БФС – окраска суммарных белков; АС – окраска альциановым синим на кислые мукополисахариды – неопределенная реакция.
+ – небольшое содержание.
++ – умеренное содержание.
+++ – значительное содержание.
++++ – повышенное содержание.
+++++ – высокое содержание.

Таблица 2

Сравнение морфометрических показателей яиц (N = 30 экз.) описторхисов в норме и через 5 сут после воздействия празиквантела в дозе 100 мг/кг

Параметр	Норма	
	Яйцо	Содержимое яйца
$(D_{cp} \pm m_D), \text{мм}$	$(3,08 \pm 0,07) \cdot 10^{-3}$	$(2,49 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$
$(CV \pm m_{CV}), \%$	$12,4 \pm 1,6$	$4,32 \pm 0,56$
$(d_{cp} \pm m_d), \text{мм}$	$(1,38 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$	$(1,05 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$
$(CV \pm m_{CV}), \%$	$8,8 \pm 1,2$	$9,8 \pm 1,3$
$(V_{cp} \pm m_v), \text{мм}^3$	$(3,020 \pm 0,002) \cdot 10^{-6}$	$(1,462 \pm 0,005) \cdot 10^{-6}$
$(CV \pm m_{CV}), \%$	$30,5 \pm 4,3$	$20,6 \pm 2,8$
$\frac{V_c}{V_{ocp}} \pm m$	$0,48 \pm 0,02$	
$(CV \pm m_{CV}), \%$	$19,2 \pm 2,6$	

внутренней части тегумента усиливается вакуолизация (см. рисунок, 1') и накапливаются кислые гексозаминогликаны (табл. 1). Повышается секреторная деятельность клеток эпителия, в результате увеличивается зона гликокаликса, что свидетельствует о слизистой дистрофии. С другой стороны, гексозамингликаны образуют своеобразную защитную зону на некоторый период времени.

Есть все основания полагать, что паразитантель угнетает углеводный обмен: в паренхиме уменьшается содержание гликогена до незначительного количества зерен, локализованных вокруг желточников и петель матки. В норме же паренхима паразита насыщена гликогеном, который в виде крупных и мелких глыбок скапливается в ячейках паренхимы любого участка тела гельминта.

После действия празиквантеля в органах половой системы наряду с уменьшением количества гликогена снижается общее количество мукопротеинов. Нарушается цито-архитектоника семенников, яичника, простаты и тельца Мелиса (см. рисунок, В, Д). Выявляется инфильтрация семенных пузырьков и семявыводящих каналов. В желточных фолликулах происходит разрушение желточных клеток и склеротизация желточных гранул. Формирование яиц прекращается. Яйца, находящиеся на разных стадиях созревания, подвергаются токсическому действию празиквантеля, их скорлупа пропитывается белками и гексозаминогликанами, содержимое набухает (см. рисунок, Д).

Изменение морфометрических показателей лиц в норме и после воздействия приведены в табл. 2.

Статистический анализ морфометрических данных показывает достоверное ($P = 99,9\%$, $V = n_1 + n_2 - 2 = 58$) увеличение объема как самого яйца ($t = 5,3$), так и его содержимого ($t = 5,7$).

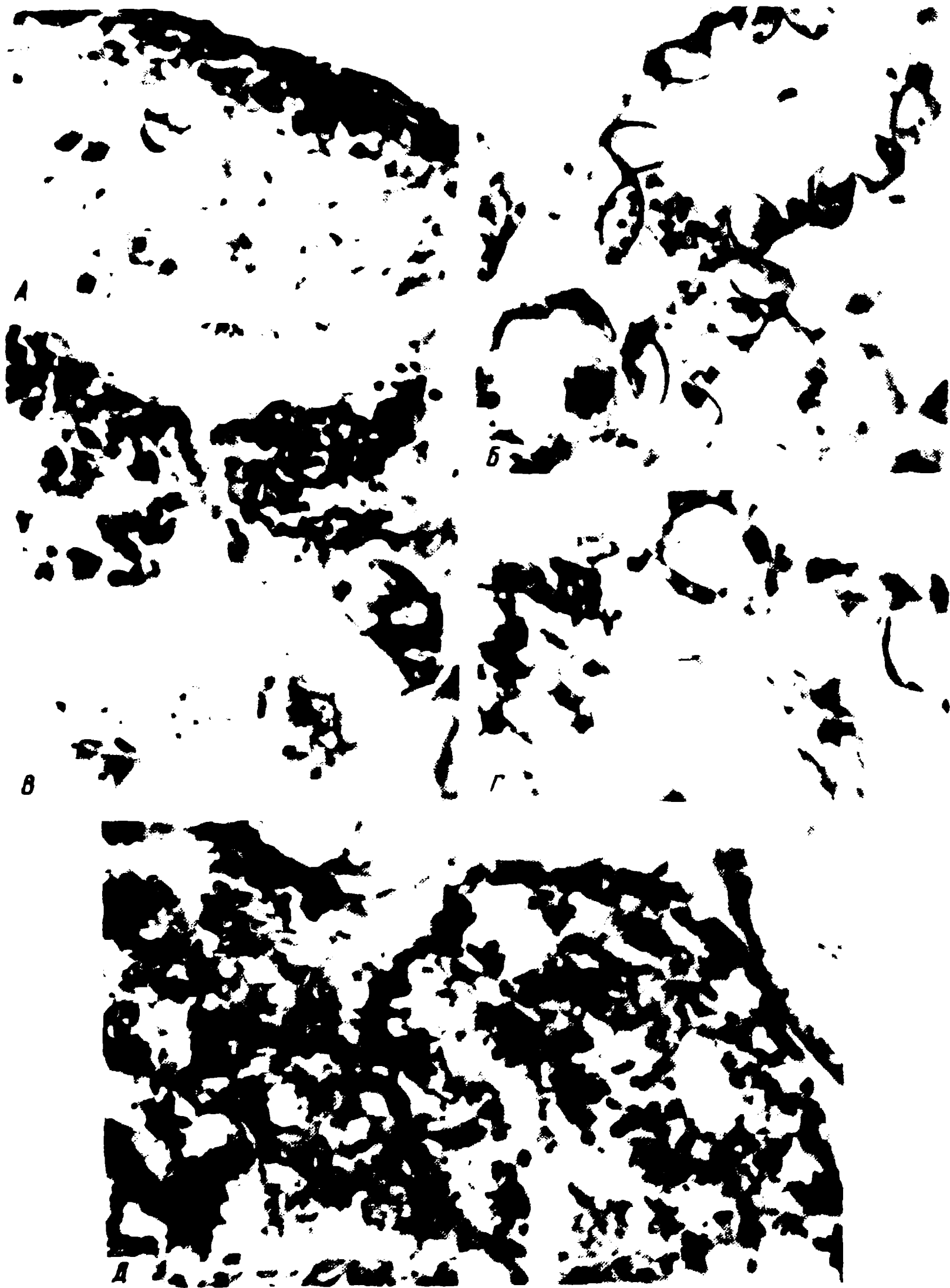
Объем содержимого яйца после воздействия препарата возрастает в $1,7 \pm 0,1$ раза, а объем самого яйца — в $1,4 \pm 0,1$ раза, т.е. есть увеличивается достоверно быстрее ($P = 99,9\%$, $V = 58$, $t = 2,7$).

После воздействия препарата доля содержащегося в общем объеме яйца достоверно возрастает с 0,5 в норме до 0,6 ($P = 99,9\%$, $V = 58$, $t = 5,3$).

Пропорции яиц также достоверно изменяются; их вытянутая форма становится округлой, т.е. отношение большего диаметра D яйца к меньшему d , равное 1,8 после дачи препарата, уменьшается по сравнению с нормой (2,2) ($P = 99,9\%$, $V = 58$; $t = 5,9$). Это отношение для содержимого яйца равно 2,0 после препарата и 2,4 в норме ($P = 99,9\%$, $V = 58$, $t = 6,9$).

После действия празиквантала	
Яйцо	Содержимое яйца
$(2,99 \pm 0,03) \cdot 10^{-2}$	$(2,64 \pm 0,03) \cdot 10^{-2}$
$6,08 \pm 0,79$	$5,12 \pm 0,67$
$(1,63 \pm 0,02) \cdot 10^{-2}$	$(1,34 \pm 0,02) \cdot 10^{-2}$
$6,0 \pm 0,8$	$7,1 \pm 0,9$
$(4,161 \pm 0,010) \cdot 10^{-4}$	$(2,470 \pm 0,006) \cdot 10^{-4}$
$12,7 \pm 1,7$	$14,3 \pm 1,9$
$0,60 \pm 0,01$	
$12,1 \pm 1,6$	

Примечание. D – больший диаметр; d – меньший диаметр; V – объем, вычисленный по формуле эллипса ($V \approx 0,52 Dd^2$); V_c/V_0 – доля объема содержимого яйца в самом яйце; $CV\%$ – коэффициент вариации; $m_D, m_d, m_V, m_{V_c/V_0}$ – ошибки соответствующих средних. $V = \pi/6 Dd^2 \approx 0,52 Dd^2$



Структурные изменения тканей *Opisthorchis felinus* после воздействия празиквантела в дозах: 200 мг/кг (А — через 6 ч, Б — через 24 ч) и 100 мг/кг (В, Г, Д, Г) 10%-ный формалин; ув. 280

А — тегумент (окраска алыдиановым синим); Б — матка с яйцами; В — участок тела; Г — вакуолизация тегумента (Б, В, Г, — окраска гематоксилином Ганзена с эозином); Д — декомпозиция семенников (окраска по Маллори)

Обсуждение результатов

Применение разных доз празиквантела и изучение патологического действия препарата на различные трематоды в экспериментальных условиях привело к разноречивым выводам. Празиквантел в дозе 50 мг/кг (4) мало эффективен при фасциолезе, и тем не менее у фасциол имели место морфологические изменения тегумента, кишечника, паренхимы и парастройка белково-углеводного обмена. Аналогичные результаты были получены при изучении степени изменений тканей *Fasciola hepatica*, *Schistosoma*

ma mansonі, *Dicrocoelium dendriticum*, подвергавшихся воздействию празиквантеля *in vitro* (8). Другие исследователи (3) считают, что празиквантель при трематодозах весьма эффективен. Электронно-микроскопические исследования тканей *Sch. mansonі* после лечения инвазированных белых мышей празиквантелем в дозе 200 мг/кг (13) показали, что уже через 15 мин после введения препарата у самок наблюдается вакуолизация тегумента, мышц, нарушается структура желточных клеток и кишечника. У самцов происходит разрушение цитоплазмы тегумента и прилежащего к нему слоя паренхимы.

Согласно нашим данным, полученным с применением комплекса гистологических, гистохимических и морфометрических методов исследований, празиквантель вызывает различного рода дистрофии органов и тканей *O. felineus*, вызывает дегенеративные изменения в зрелых яйцах, снижает адаптационные возможности паразита.

Наши исследования позволяют сделать вывод о том, что празиквантель является эффективным препаратом при лечении описторхоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баяндина Д.Г., Дробкина А.А., Кротов А.И. Перспективные направления в химиотерапии трематодозов // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1983. № 5. С. 78–81.
2. Богоявленский Ю.К., Начева Л.В. Гистохимические исследования содержания и распределения углеводов и белков в тканях и органах сибирского сосальщика при действии антигельминтиков // VIII науч. конф., посвящ. теорет. и практ. вопр. общ. биологии и паразитологии: Тез. докл. Кемерово, 1985. С. 48–50.
3. Богоявленский Ю.К., Начева Л.В., Раисов Т.К., Шалина Л.В. Патоморфологический аспект действия празиквантеля на ткани сибирской двуустки при экспериментальном заражении золотистых хомячков // VII науч. конф., посвящ. теорет. и практ. вопр. общ. и экол. паразитологии: Тез. докл. Кемерово, 1984. С. 28–31.
4. Кошкина Н.Г. Празиквантель при экспериментальном фисциозе крыс // Там же. С. 31–33.
5. Лысенко А.Я. Исследования по химиопрофилактике описторхоза празиквантелем в эксперименте // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1984. № 5. С. 38–40.
6. Тищенко В.В., Тищенко Л.Г. Эффективность дронцила при экспериментальном эхинококкозе, мультицептозе и гадатигенном тениозе у собак // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии. 1983. Вып. 34. 62 с.
7. Apajahiti S. Tratamiento de infecciones por *Diphyllbothrium latum* con una dosis oral unica de praziquantel // Bol. chil. parasitol. 1977. Vol. 32, N 1/2. P. 43–44.
8. Becker B., Mehlhorn H., Andrews P. et al. Light and electron microscopic studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansonі*, *Dicrocoelium dendriticum*, and *Fasciola hepatica* (Trematoda) *in vitro* // Ztschr. Parasitenk., 1980. Bd. 63, N 2. S. 113–128.
9. Groff E. Panorama general del tratamiento de las infecciones humanas por cestodes con praziquantel (Embay, 8440) // Bol. chil. parasitol. 1977. Vol. 32, N 1/2. P. 27–31.
10. Paz G. Tratamiento de teniasis saginata con praziquantel (Embay 8440) // Ibid. P. 14–15.
11. Mehlhorn H., Kojima S., Rim H.S. et al. Ultrastructural investigation on the effect of praziquantel on human trematodes from Asia: *Clonorchis sinensis*, *Metagonimus yokogawai*, *Opisthorchis viverrini*, *Paragonimus westermani*, *Schistosoma japonicum* // Arzneimittelforsch. 1983. Bd. 33, N 1. S. 91–98.
12. Lawrence K. Praziquantel as a taeniocide in snakes // Vet. Rec. 1983. Vol. 113, N 9. P. 200.
13. Shaw M.K., Erasmus D.A. *Schistosoma mansonі*. The effects of subcurative dose of praziquantel on the ultrastructure of worms *in vivo* // Ztschr. Parasitenk. 1983. Bd. 69, N 1. S. 73–90.

МОРФОГЕНЕЗ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НЕМАТОДЫ *ASCARIDIA GALLI* В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Г.В. ГОНЧАРОВА

Лаборатория гельминтологии АН СССР

Изучение онтогенеза паразитических нематод в различных аспектах представляет собой важную проблему и вызывает глубокий интерес многих исследователей. В жизненном цикле многих форм имеется смена среды обитания, смена хозяев и миграция в дефинитивном хозяине. При этом многие виды нематод в процессе своего онтогенеза проходят ряд стадий, отличающихся друг от друга (6). Общим в онтогенезе нематод является то, что определенные этапы индивидуального развития, условно обозначаемые как личинки I, II, III и IV возрастов, разделяются линьками (3, 5). По существующему мнению (3), личинки одного и того же возраста (одни — еще не приступившие к линьке и другие — уже приступившие к ней) анатомически представляют два поступательных момента онтогенетического формообразования: "... перестройка организации происходит в моменты наступления, осуществления и завершения линьки, что провоцирует новые импульсы роста..., уровни развития полового зачатка — важнейшего критерия возраста".

У нематод в процессе ювенильного периода онтогенеза происходит существенная перестройка морфофизиологической организации. Большей частью перестраиваются вся пищеварительная система, приспособляющаяся к новому типу питания в иных условиях обитания, и генитальная система.

К настоящему времени накоплены существенные данные об особенностях эмбрионального развития паразитических нематод, о типах их онтогенеза, о морфофизиологической перестройке многих органов и их систем (1, 6). Однако в отношении морфогенеза нервной системы нематод, координирующей все жизненные функции, контролирующей рост и развитие организма, обеспечивающей рефлекторные реакции, цельного представления не имеется.

В связи с изложенным задачей предпринятого нами исследования явилось изучение динамики и закономерностей формообразовательных процессов нервной системы нематоды *Ascaridia galli*, имеющей закрытый тип личиночного развития (из яйцевых оболочек отраждаются личинки II возраста). Изучались топография и гистоструктура центральной нервной системы (ЦНС), периферических отделов нервной системы (ПНС) и вегетативной нервной системы (ВНС) у личинок *A. galli* трех (II, III и IV) возрастов, разделяющихся линьками. Согласно имеющимся данным (2, 7), первая линька личинок аскаридий происходит еще в яйце, через несколько дней (от одного до трех) после образования сформированной личинки. После первой линьки личинки вступают во II возраст, т.е. в следующую стадию развития, и становятся инвазионными. Вылупление их из яиц происходит в тонком кишечнике хозяина. Личинки II возраста живут в ворсинках до 10-го дня, а затем внедряются в слизистую оболочку кишки. Здесь у личинок на 14–15-е сутки развития происходит вторая линька, после чего они вступают в III возраст. Третья линька личинок аскаридий происходит на 18–22-е сутки постэмбрионального развития, при этом личинки все еще локализируются в слизистой оболочке кишки или (после 20 сут развития) выходят в просвет кишечника. После третьей линьки личинки вступают в IV возраст, переходящий после 30 сут развития в ювенильную стадию. К 50-му дню постэмбрионального развития нематоды *A. galli* вступают в пубертатный период, т.е. достигают половой зрелости.

Материал и методы

Морфогенез нервной системы нематоды *A. galli* изучался у личинок, извлеченных из тонкого отдела кишечника экспериментально зараженных цыплят русской белой ванной водой, вводилась 30 цыплятам в дозе 0,5 мл взвеси культуры с помощью шприца с иглой, на конце которой (в целях предохранения ротовой полости от повреждения) был напаян металлический шарик. Оптимальная доза для однократного заражения цыплят соответствует 100–150 шт. инвазионных яиц в 0,5 мл взвеси культуры. Цыплят забивали на 10-е, 16-е, 23-и, 31-е сутки после заражения (по 7–8 экз. на каждый срок), с целью сбора личинок аскаридий, находящихся на перечисленных сроках постэмбрионального развития. Указанные сроки развития личинок аскаридий совпадают соответственно со II, III, IV возрастом личинок и ювенильным периодом. Слизистую тонких кишок цыплят, забитых на 10-е и 16-е сутки после заражения, соскабливали предметным стеклом; содержимое соскобов опускали в физиологический раствор для теплокровных животных, размещивали до состояния взвеси и затем отфильтровывали на пористом фильтре. Личинок II и III возрастов осторожно собирали специальной иглой и фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и в жидкости Ценкера с уксусной кислотой; указанными фиксаторами обрабатывали также личинок IV возраста и ювенильные формы аскаридий, выбранных из полости средней кишки. Нематод, зафиксированных в 10%-ном нейтральном формалине, тотально импрегнировали азотнокислым серебром, согласно методикам Бильшовского и Фолея (4). Гельминтов, импрегнированных и зафиксированных в жидкости Ценкера с уксусной кислотой, обезвоживали в спиртах восходящих концентраций, просветляли в метилбензоате, пропитывали парафином. Из заключенных в парафиновые блоки гельминтов готовили с помощью микротомы серийные парафиновые срезы толщиной 8 и 10 мкм. Срезы гельминтов, зафиксированных в жидкости Ценкера с уксусной кислотой, окрашивали по методу Маллори. Срезы нематод, тотально импрегнированных азотнокислым серебром, тонировали 0,1%-ным водным раствором золотохлористоводородной кислоты, подкисленным 0,1 М раствором HCl.

Результаты исследований

У личинок *A. galli* II возраста (т.е. на 10-е сутки развития в организме хозяина) из всех внутренних органов и их систем морфологически наиболее выражена пищеварительная система. Отчетливо можно наблюдать определенные стадии дифференцировки кишечной трубки на различные морфофункциональные отделы – глотку, пищевод, средний и задний отделы кишки. Однако в пищеводе мышечные и железистые элементы еще недоразвиты и слабо окрашиваются. Вместе с тем интенсивная базофилия характерна для слаборазвитой плазматической части соматических мышечных клеток и эпителия дифференцирующихся половых желез. У личинок уже на 10-е сутки постэмбрионального развития проявляются вторичные половые признаки: так, у личинок-самок начинает развиваться анальное возвышение, а личинок-самцов можно идентифицировать по преанальному утолщению и слабым мышечным элементам преанальной присоски.

У личинок обоего пола вокруг пищевода (на расстоянии 0,13–0,15 мм от переднего конца тела) располагается узкое, уплощенное циркумэзофагеальное нервное кольцо, плотно прилегающее к наружным стенкам пищевода. В толще волокон нервного кольца локализируются биполярные нейроны. Они имеют крупные ядра с одним ядрышком и узкий слой цитоплазмы сомы клетки, что дает основание предположить морфологическую незрелость нейронов. Характерно, что у личинок II возраста отростки нейронов (как и волокна нервного кольца) находятся в состоянии роста и развития. Об этом свидетельствует наличие специфических признаков, характерных для растущих отростков незрелых нейронов – варикозных утолщений и "шпиков", за счет которых осу-



Рис. 1. Морфогенез нервной системы личинок *A. galli* II и III возрастов

А — окологлоточное нервное кольцо личинки-самки II возраста (на 10-е сутки постэмбрионального развития). Скошенный срез, 8 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Бильшовскому, ув. 666; *Б* — анальный ганглий личинки-самца III возраста (на 16-е сутки постэмбрионального развития). Скошенный срез, 10 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Фолею, ув. 666; *Б'* — иннервация пищевода личинки-самки III возраста (на 16-е сутки постэмбрионального развития). Скошенный срез, 8 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Бильшовскому, ув. 833; 1 — биполярный нейрон нервного кольца; 2 — варикозные утолщения; 3 — "шипикоподобные" придатки растущих нервных волокон; 4 — мышечные волокна пищевода; 5 — дистальная группа нейронов анального ганглия; 6 — мышечные элементы преанальной присоски; 7 — претерминальная дихотомия симпатических нервных волокон; 8 — шаровидные нервные окончания; 9 — кутикула; 10 — полость тела

ществляется дендритный спраутинг (рис. 1, *А*, 2, 3). К наружной поверхности нервного кольца прилегают мелкие нейроны, топографически сконцентрированные в три крупные группы — две симметричные латеральные и вентральную (соответствующие одноименным головным ганглиям половозрелых аскаридий). При этом внутренняя дифференцировка на отделы в указанных группах отсутствует. Морфологические характеристики тела нервных клеток и их отростков аналогичны таковым нейронов нервного кольца и его волокон. Отхождение от кольца продольных нервных стволов и нервов не выявлено, ввиду плотного прилегания нервного кольца к пищеводу и обилия мелких зернистых клеток, заполняющих псевдоцель.

В хвостовой части тела 10-суточных личинок аскаридий обоего пола обнаружены три локальных скопления очень мелких нервных клеток: вентральное (впереди анальной щели) и симметричные латеральные. Помимо этого, у самцов позади преанального возвышения, в латеральных полях, идентифицированы две симметричные группы нейронов. У личинок аскаридий обоего пола в равной степени не наблюдаются контуры губных папилл, а у личинок-самцов — и генитальных папилл.

Вторая линька личинок, разграничивающая II и III возрасты, происходит на 14-15-й день постэмбрионального развития. У личинок аскаридий III возраста (т.е. на 16-е сутки

развития в кишечнике цыпленка) наблюдаются значительные прогрессивные изменения морфологии нервной системы. Усложнение структуры нервной системы личинок указанного возраста явилось закономерным итогом сложнейших морфогенетических процессов, протекающих в период с 10-х по 15-е сутки постэмбрионального развития. Именно в этот период происходит интенсивное пространственное перемещение нейронов с одновременно протекающими процессами их роста и созревания. У личинок III возраста выделяются отдельные группы нейронов головных ганглиев, что свидетельствует о продолжающемся процессе морфологической дифференцировки последних. Выявляются направления отдельных нервных волокон в нервном кольце и в проксимальных отделах медианных нервных стволов, берущих начало от нервного кольца. Для нервных волокон кольца и отростков ганглиозных нейронов характерна значительно меньшая плотность расположения "шипиковых" выростов. Отмеченное явление представляет собой одно из доказательств процесса созревания нейронов. Кроме того, процесс созревания нейронов связан с очень быстрым увеличением количества цитоплазмы в теле нейрона и интенсивным ростом отростков-аксонов и дендритов. В хвостовой части личинок аскаридий III возраста также проявляется тенденция к обособлению отдельных групп созревающих нейронов в анальном и люмбальных ганглиях вследствие их пространственного перемещения, а также роста и дифференцировки других внутренних органов (рис. 1, Б, 5). У личинок-самцов обнаруживаются симметричные пре- и постанальные группы нейронов, которые можно уже идентифицировать как чувствительные ганглии, осуществляющие иннервацию трех пар генитальных папилл: 1-я пара — преанальные (располагаются спереди от преанальной мышечной присоски), 2-я пара — позади отверстия клоаки и 3-я пара — посередине между клоакой и терминальным участком тела. Сами папиллы выражены чрезвычайно слабо, и их внешние контуры почти не выявляются. У представителей обоего пола личинок III возраста — губы с сосочками и зубчатыми гребнями. Дифференцировке пищеварительной системы сопутствует прогрессивное развитие вегетативной нервной системы. Так, в пищеводе отчетливо наблюдаются отдельные нейроны и волокна эзофаго-симпатических нервов. В железистой части и мышечных волокнах пищевода выявляются дихотомически ветвящиеся претерминальные отделы нервных волоконцев и волокна с булавовидными и шаровидными нервными окончаниями (рис. 1, В, 7, 8).

У личинок аскаридий в период с 16-х по 22-е сутки постэмбрионального развития бурно протекает процесс роста тела и, естественно, всех внутренних органов. Длина тела личинок увеличивается в среднем на 15–16 мм. В период с 18-х по 22-е сутки постэмбрионального развития у личинок происходит третья линька, после которой они вступают в IV возраст. У изученных нами личинок IV возраста (на 23-и сутки постэмбрионального развития) формообразовательные процессы нервной системы практически завершаются. Другими словами, топография и анатомическая дифференцировка центральных и периферических отделов нервной системы, а также топография отдельных структурных компонентов этих отделов такие же, как и у преимагинальных форм. Однако цитоархитектоника ганглиев ЦНС и ПНС свидетельствует о слабой степени их дифференцировки на функционально различные группы нейронов, отростки которых принимают участие в образовании многих нервов и структур, обеспечивающих различные морфофункциональные нервные связи (например, головных латеро-вентральных комиссур, корешков вентрального нервного ствола, амфидалных и головных папиллярных нервов, ано-люмбальных и ано-ректальных комиссур). Еще слабо выражены нейропили головных и анального ганглиев. Различается скорость созревания разных популяций нейронов, с одной стороны, и нейронов в одной популяции — с другой. Так, например, у ганглиозных нейронов вновь усиливается дендритная крона за счет появления активно функционирующих фокусов дендритного ветвления и коротких "шипиковых" придатков. Однако плотность распределения придатков остается (как и у личинок III возраста) довольно низкой (рис. 2, А, 2; Б, 7). Таким образом, у личинок аскаридий, находящихся на 23-и сутки постэмбрионального развития, нейроны продолжают расти и созревать, сохраняя при этом ярко



Рис. 2. Морфогенез нервной системы личинок *A. galli* IV возраста (на 23-е сутки постэмбрионального развития)

А — люмбальный ганглий личинки-самца. Продольный срез, 8 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Большовскому, ув. 666; *Б* — анальный ганглий личинки-самца. Продольный срез, 10 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Фолею, ув. 420; *В* — элементы ректо-симпатической нервной системы личинки-самца. Продольный срез, 8 мкм, Цинкер с уксусной кислотой, Маллори, ув. 420; 1 — нейроны ганглия; 2 — волокно с "шишкоподобными" боковыми выростами; 3 — претерминальное дихотомическое ветвление волокна ано-люмбальной комиссуры, поступающего из анального ганглия; 4 — гиподермальная ткань; 5 — дендродендритные контакты двух мультиполярных нейронов; 6 — дихотомическое ветвление дендрита биполярной клетки; 7 — фокус максимального ветвления дендрита; 8 — нейропиль; 9 — симметричные группы нейронов субклоакального ганглия; 10 — ректальная железа; 11 — кутикулярная выстилка полости клоаки

выраженные пластические свойства. Пластичность растущих нейронов обуславливает возможность поддержания необходимого числа уже имеющихся и установления новых синаптических контактов, которых особенно много в нейропилях ганглиев (рис. 2, *Б*, 5, 8). В результате морфогенеза, осуществляющегося в первые 22 дня постэмбрионального развития, в хвостовом отделе тела личинок-самцов IV возраста от симметричных постклоакальных ганглиев обособляется еще одна пара чувствительных ганглиев — субтерминальные, волокна которых иннервируют одноименные генитальные папиллы. В общей сложности, у личинок-самцов IV возраста имеется уже 10 пар генитальных папилл, один непарный сосочек на преанальной мышечной присоске; кроме того, морфологически хорошо выражены спиккулы. У личинок-самцов ректо-симпатическая нервная система развита значительно сильнее (по сравнению с самками) за счет увеличения числа нейронов в субклоакальном ганглии и дорсо-каудальном нерве (рис. 2, *В*, 9).

У личинок аскаридий в период с 23-х по 30-е сутки постэмбрионального развития продолжают процессы морфофункциональной дифференцировки всех ганглиев ЦНС и ПНС и созревание нейронов. В результате у ювенильных форм аскаридий (юве-



Рис. 3. Нервная систем ювенильных форм *A. galli*

А — задняя доля анального ганглия самца. Скошенный срез, 10 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Бильшовскому, ув. 666; Б — иннервация задней кишки самки. Продольный срез, 10 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Бильшовскому, ув. 420; В — иннервация средней кишки самки. Скошенный срез, 8 мкм, Ценкер с уксусной кислотой, Маллори, ув. 1000; Г — элементы ректо-симпатической нервной системы самца. Продольный срез, 10 мкм, 10%-ный нейтр. форм., импрегнация по Фолею, ув. 833; Д — латеральный гиподермальный валик самки. Продольный срез, 10 мкм, Ценкер с уксусной кислотой, Маллори, ув. 666; 1 — ганглиозные нейроны на разных стадиях созревания; 2 — нейропил; 3 — мультиполярный нейрон, дендриты которого иннервируют ректальный сфинктер и протоки ректальных желез; 4 — ректальные железы; 5 — кишечный эпителий; 6 — биполярный нейрон, центральный отросток которого (7) поступает в кишечный нерв; 8 — тела мультиполярных нейронов; 9 — их дендриты; 10 — дихотомия дендритов; 11 — волокна правой ано-ректальной комиссуры; 12 — стенка ректума; 13 — ядра гиподермы латерального валика; 14 — биполярный нейрон, иннервирующий стенку экскреторного канала

ный период начинается с 31-х суток постэмбионального развития) топография, анатомическое строение и цитоархитектоника ганглиев ЦНС и ПНС такие же, как и у преимагинальных форм. Тем не менее у нематод в начальном периоде ювенильной стадии их развития продолжают рост нервных волокон и созревание нейронов (рис. 3, А, 1). У некоторых симпатических мультиполярных нейронов наблюдаются избыточность дендритов, изменение их ориентации, превышение длины одного или двух-трех дендритов вследствие избирательного роста последних (рис. 3, Б, 3; Г, 8, 9). Обнаруженные явления можно расценивать как адаптивное приспособление незрелых клеток, возможно связанное с "поиском" необходимых эфферентов. Продолжается и

пространственное перемещение нейронов вегетативной нервной системы вследствие общего роста других внутренних органов. Так, например, наблюдаемая нами локализация клеток, иннервирующих кишечно-ректальный сфинктер, среднюю кишку и экскреторные каналы у ювенильных форм (рис. 3, В, 6; Г, 8; Д, 14) отличается от таковой аналогичных нервных клеток у имагинальных форм куриной аскариды.

Заключение

Постэмбриональный морфогенез нервной системы нематоды *A. galli* протекает во времени, совпадающем с периодами развития личинок II, III и IV возрастов и ювенильной формы. Узловые моменты формообразовательных процессов в нервной системе характерны для периода линек личинок. Основными процессами постэмбрионального морфогенеза нервной системы куриной аскариды являются: 1) пространственное перемещение нейронов во всех отделах ЦНС и ПНС; 2) рост и созревание нейронов. Характерно, что рост и созревание нервных клеток продолжают во время их миграции. Следствием пространственного перемещения нейронов являются внутренняя морфофункциональная дифференцировка ганглиев, стабилизация их цитоархитектоники, формирование различных по характеру нервных связей. Рост незрелых нейронов и их созревание находятся в неразрывной связи. Отростки растущих нервных клеток ЦНС и ПНС имеют различные образования (варикозные утолщения, "шипиковые" придатки, фокусы максимального ветвления), которые характеризуются определенными изменениями во времени. На основании литературных данных (8, 9, 10) можно прийти к заключению, что за счет варикозных утолщений и "шипиковых" придатков формируются новые дендритные ветви, а узлы (или фокусы) ветвления являются областью особенно многочисленных синаптических входов на нейроны (т.е. в них происходит оптимальная пространственная и временная суммация импульсов). Повышенная разветвленность растущих нейронов, присутствие на отростках различных структурных элементов (отсутствующих у зрелых нейронов), превышение длины одного или нескольких дендритов вследствие их избирательного роста, изменения ориентации дендритов и смена узлов ветвления на оси дендрита свидетельствуют о пластических свойствах растущих и созревающих нейронов. Пластичность лежит в основе адаптивных приспособлений незрелых нейронов к созданию оптимального режима их функционирования. В частности, созревающие нейроны осуществляют нервную регуляцию онтогенетических процессов, оказывая координирующее влияние на развитие, рост и линьку личинки, морфологическую дифференцировку и деятельность ее внутренних органов. Нервная система личинок аскарид, находясь на различных этапах своего постэмбрионального морфогенеза, обеспечивает также адаптивные возможности личинок разных возрастов к паразитированию в меняющихся условиях: или в ворсинках слизистой тонкого отдела кишки, или в полости кишки хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валова М.А. Онтогенез *Cucullanus citratus* Müller, 1777. (Nematoda. Cucullanata): Дис. ... канд. биол. наук. 1979. 190 с.
2. Лысенко А.А. Эпизоотология и профилактика при аскаридозе кур // Тр. Ростовск. обл. вет. опытно-ст., 1939. Вып. 7. С. 95–104.
3. Парамонов А.А. Основы фитогельминтологии. М.: Изд-во АН СССР, 1962. Т. 1. 479 с.
4. Ромейс Б. Микроскопическая техника, М.: Изд-во иностр. лит., 1953. 748 с.
5. Шульц Р.С. Гельминтозы овец и крупного рогатого скота. М.: Сельхозгиз, 1959. 240 с.
6. Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. М.: Наука, 1970. Т. 1.
7. Ackerl J. The morphology and life history of the fowl nematode *Ascaridia lineata* (Schneider) // Parasitology 1931 Vol. 13, N 3. P. 360–379.
8. Hamori J. Plasticity during neuronal differentiation: An experimental morphological study of developing synapses and of neuronal network // Neurobiological basis of learning and memory. N.Y., 1980. P. 84–96.
9. Jacobson M. Developmental neurobiology. N.Y., L.: Plenum press, 1978. 562 p.
10. Székely G., Antal M. Significance of the dendritic pattern in the function of the neuron // Adv Physiol. Sci. Neural Commun. and Contr. 1981. Vol. 30. P. 171–182.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
<i>Астафьев Б.А.</i> Иммунологические реакции в патогенезе и клинике гельминтозов	4
<i>Леутская З.К.</i> Роль стероидных гормонов во взаимоотношениях хозяина и гельминта	16
<i>Герасимова Н.Г., Леутская З.К.</i> Стероидогенез у гельминтов	30
<i>Дрюченко Е.А.</i> Алифатические амины и их роль во взаимоотношениях паразита и хозяина	36
<i>Теренина Н.Б.</i> Влияние резерпина на уровень серотонина у цестоды <i>Hymenolepis diminuta</i> и в кишечнике хозяина-крысы	44
<i>Белов А.П., Фаис Д., Леутская З.К.</i> Иммуноглобулины сыворотки крови кур: фракционирование и идентификация	47
<i>Леутская З.К., Белов А.П., Фаис Д.</i> Изучение иммуноглобулинов крови кур при аскаридозе	56
<i>Белов А.П.</i> Белки сыворотки крови цыплят при изменении условий содержания	61
<i>Дрюченко Е.А., Еранова Н.А., Леутская З.К.</i> К вопросу о роли кадаверина в иммунологических реакциях при гельминтозах	63
<i>Колоскова Т.Г., Шишова-Касаточкина О.А.</i> Протеолитические ферменты нематод различной локализации	65
<i>Дубовская А.Я.</i> Роль фермента аргиназы в обмене гельминтов	76
<i>Дубовская А.Я., Мамачашвили А.Д.</i> Изоформы аргиназы у плероцеркоида <i>Pygamoserphalus rhosagum</i> , паразитирующего у беломорского бычка-кержака	85
<i>Давыдов В.Г., Микряков В.Р.</i> Адаптивные структуры покровов тела некоторых цестод, связанные с защитой паразитов от влияния организма хозяев.	88
<i>Богоявленский Ю.К., Начева Л.В., Чернявская Л.В.</i> Патоморфологические и гистохимические исследования тканей трематоды <i>Opisthorchis felineus</i> после воздействия празиквантела.	100
<i>Гончарова Г.В.</i> Морфогенез нервной системы нематоды <i>Ascaridia galli</i> в постэмбриональном периоде.	106