

**АНТИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ
ПРОТОСКОЛЕКСОВ *Coenurus cerebralis***

В.К. БЕРЕЖКО

доктор биологических наук

И.И. БЕНЕДИКТОВ

доктор биологических наук

И.Ф. КЛЕНОВА

кандидат ветеринарных наук

*Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии
им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28,
e-mail: vigis@ncport.ru*

Приведены результаты анализа сывороток крови овец, иммунизированных двукратно внутримышечно экскретами и секретами культивируемых клеток протосколексов *Coenurus cerebralis* (клеточный антиген), иммуноферментной реакцией ELISA. Установлена высокая антигенная активность клеточного антигена. Показатели оптической плотности (ОП) в ELISA сывороток иммунизированных овец в период эксперимента (110 сут) в среднем по группе составили 2,339, что выше таковых до иммунизации (0,314) в 7,45 раза. В контрольной группе овец показатели ОП были в среднем 0,201–0,251.

Ключевые слова: овцы, протосколексы, *Coenurus cerebralis*, метаболиты клеток, иммунизация, антителогенез.

Важным критерием оценки антигенности вещества является его способность вызывать выработку антител и специфически взаимодействовать с эффекторами иммунного ответа – иммуноглобулинами, сенсibilизированными лимфоцитами. С этих позиций, биопрепараты, получаемые из гельминтов, включая гомогенаты, экстракты, экскреты и секреты и т.д., являются активными антигенами, поскольку при парентеральном введении животным у них происходит синтез антител, вступающих в специфическую реакцию с этими антигенами. Физико-химическими методами установлено, что биопрепараты из гельминтов имеют в своем составе более 20 белковых компонентов, потенциально способных вызвать синтез антител, однако функциональных антигенноактивных белков, стимулирующих антителогенез в организме хозяина при заражении, значительно меньше (1, 2, 4, 5, 7–9).

Исследователи отметили характерные различия иммунной реакции как в количественном, так и в качественном отношении в различных системах паразит–хозяин, зависящие от морфологических и биологических особенностей гельминтов, их локализации и адаптационной способности.

Как правило, иммуногенное воздействие неадаптированных к данному организму паразитов проявляется сильнее, чем это наблюдается в системе паразит–специфичный хозяин. Однако существуют различия в проявлении иммунной реактивности при заражении и при иммунизации животных антигенноактивными биопрепаратами гельминтов. В большинстве случаев при правильно подобранной дозе антигенного воздействия реакция со стороны

иммунной системы специфического хозяина будет значительно сильнее, чем при заражении.

Исходя из этого была поставлена цель – изучить динамику выработки антител у овец, иммунизированных клеточными метаболитами протосколексов *Coenurus cerebralis*.

Материалы и методы

В опыте использовали шесть овец 4–5-месячного возраста, три из которых были иммунизированы двукратно с интервалом 21 сут клеточным антигеном протосколексов *C. cerebralis*, эмульгированным с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ), внутримышечной инъекцией в дозе 1 мл. В общей сложности каждое животное получило 18,76 мг белка-антигена. Вторая группа из трех овец служила контролем, иммунизации не подвергалась; в дни иммунизации им вводили внутримышечно стерильный физраствор в той же дозе.

Метаболиты клеток или клеточный антиген получали культивированием клеток протосколексов *C. cerebralis* в CO₂-инкубаторе фирмы «Heraeus» при 37 °С с автоматизированной регулировкой газовой среды (CO₂ – 5 %, O₂ – 95 %) при 70%-ной влажности в питательной среде RPMI-1640 [3, 6].

В течение всего опыта от животных получали сыворотку крови: до иммунизации, на 10, 15, 20-е сутки после первой и на 10, 16, 24, 38, 43, 50, 56, 64, 85 и 89-е сутки после второй иммунизации. Активность сывороток исследовали иммуноферментной реакцией ELISA [10] с модификациями применительно к нашим объектам.

Сенсибилизацию твердой фазы проводили клеточным антигеном, предварительно определив его оптимальную концентрацию. Конъюгатом в реакции служили антитела диагностические против IgG сыворотки крови овцы, меченные пероксидазой.

При определении оптимальной концентрации клеточного антигена и титра антивидового конъюгата использовали в качестве положительного контроля сыворотки иммунизированных, а отрицательного – сыворотки клинически здоровых овец. Реакцию оценивали на автоматическом анализаторе колориметрическом иммуноферментном 340/АТС фирмы «STL-Labsystems» – Австрия при длине волны 492 нм по показателем оптической плотности (ОП).

Результаты и обсуждение

Имуноферментный анализ сывороток иммунизированных овец показал, что клеточный антиген протосколексов *C. cerebralis* является активным стимулятором антителигенеза.

С 10-го дня после иммунизации в кровотоке овец регистрировали сывороточные антитела, уровень которых по показателям ОП в ИФР был в 3,4–9,9 раза выше, чем до иммунизации (табл. 1).

Динамика титров сывороточных антител к антигенам-метаболитам протосколексов *C. cerebralis*, приведенная в таблице 1, показала, что повторная иммунизирующая доза в определенной степени активизировала гуморальный иммунный ответ, который сопровождался усилением процесса синтеза антител и соответственно увеличением показателей ОП исследуемых сывороток в ИФР у всех иммунизированных овец.

По результатам иммуноанализа уже с 10-х суток после второй иммунизации и до конца наблюдений уровень сывороточных антител оставался очень высоким (ОП от 2,225 до 2,794; $P \leq 0,001$). Причем, судя по динамике антителигенеза, иммунная реакция у этой группы овец протекала однотипно, без резких колебаний. Сыворотки, полученные на 110-е сутки после первой и соответственно на 89-е сутки после второй иммунизации (срок наблюдений), оставались такими же активными в ИФР (показатели ОП были в пределах 2,530–2,794; $P \leq 0,001$), что в 6,7–12 раз больше первоначальных уровней, регистрируемых с сыворотками крови овец до иммунизации.

Реактивность сывороток крови овец контрольной группы на всем протяжении эксперимента оставалась почти на одном уровне (ОП варьировала от 0,201±0,064 до 0,251±0,035) (табл. 2).

1. Динамика титров антител у овец, иммунизированных клеточным антигеном протосколексов *C. cerebralis*

Сутки исследований	Оптическая плотность в ИФР* у подопытных животных под номерами			M±m
	2364	2359	2316	
0	0,210	0,414	0,319	
10	2,095	1,794	1,538	1,820±0,190
15	2,020	1,813	1,943	1,925±0,071
21**	2,014	1,937	2,123	2,024±0,063
31/10***	2,337	2,312	2,225	2,291±0,038
37/16	2,368	2,267	2,250	2,295±0,041
45/24	2,464	2,431	2,464	2,464±0,012
59/38	2,545	2,356	2,545	2,482±0,065
64/43	2,566	2,525	2,525	2,539±0,012
71/51	2,493	2,458	2,317	2,423±0,058
77/56	2,322	2,472	2,463	2,419±0,052
85/64	2,570	2,491	2,570	2,544±0,028
106/85	2,488	2,567	2,613	2,556±0,041
110/89	2,530	2,794	2618	2,647±0,092

* – ИФР – иммуноферментная реакция ($P \leq 0,001$);

** – вторая иммунизация;

*** – числитель – дни исследований после первой иммунизации, знаменатель – дни исследований после второй иммунизации.

Полученные данные позволяют заключить, что синтезируемые в процессе культивирования клеток протосколексов *C. cerebralis* метаболиты являются активными иммуногенами, активизирующими гуморальное звено иммунной системы, что проявляется синтезом специфических антител и дает основание говорить об альтернативном способе получения иммунопрепаратов из цестод.

2. Показатели ИФР с сыворотками контрольных (неиммунизированных) овец

Сутки исследований	Оптическая плотность в ИФР* у подопытных животных под номерами			M±m
	2377	2303	2329	
0	0,297	0,177	0,160	0,211±0,037
15	0,259	0,231	0,241	0,244±0,012
31	0,300	0,211	0,243	0,251±0,035
37	0,299	0,203	0,193	0,232±0,035
45	0,302	0,201	0,211	0,238±0,035
49	0,293	0,242	0,204	0,246±0,029
57	0,295	0,207	0,198	0,233±0,035
78	0,278	0,149	0,174	0,201±0,064
110	0,280	0,176	0,173	0,209±0,035

Литература

1. Баллад Н.Е. Иммунохимическая характеристика антигенов, выделенных из личиночных стадий *Taeniarrhynchus saginatus*// Мед. паразитол. и паразит. бол. – 1973. – № 2. – С. 131–136.

2. Бережко В.К. Иммуноэлектрофоретический анализ антигенной структуры экстрактов из половозрелых *Dictyocaulus filaria* и *Dictyocaulus viviparus*// Тр. Всес. ин-та гельминтол. – 1972. – Т. 19. – С. 14–23.

3. Бережко В.К., Бессонов А.С. Изучение метаболитов клеток перевиваемой культуры метацестоды *Taenia crassiceps* // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. – 1996. – Т. 32. – С. 18–22.

4. Даргене Р.К. Антигены *Trichinella spiralis*, участвующие в иммуногенезе при экспериментальном трихинеллезе песцов // Тр. Всес. ин-та гельминтол. – 1977. – Т. 17. – С. 275–276.

5. Желева Р.Ц. Сравнительное исследование антигенной структуры *Toxocara canis* (Werner, 1782) и *Ascaris suum* (Goez, 1782) в реакциях иммунодиффузии и иммуноэлектрофореза // Мед. паразитол. и паразит. бол. – 1975. – № 3. – С. 243–249.

6. Кленова И.Ф. Разработка клеточной технологии получения антигенов цестод (на примере *Coenurus cerebralis* и *Echinococcus multilocularis*) // Дис. ...канд. вет. наук. – М., 1999. – 125 с.

7. Geerts S., Kumar V., Aerts N. Antigenic components of *Taenia saginata* and their relevance to the diagnosis of bovine cysticercosis by immunoelectrophoresis // J. Helminthol. – 1979. – V. 53, N 4. – P. 293–299.

8. Smith W.D. Serum and mucus antibodies in sheep immunized with larvae antigens of *Haemonchus contortus* // Res. Vet. Sci. – 1977. – V. 22, N 1. – P. 128–129.

9. Smith W.D. Anti-larvae antibodies in the hiperinfected with *Haemonchus contortus* // Res. Vet. Sci. – 1977. – V. 22, N 3. – P. 334–338.

10. Voller A., Bidwell D., Huldt G., Engvall E. A microplate method at enzyme-linked immunosorbent assay and its application to malaria // Bull. Wed. Hlth. Org. – 1974. – V. 1, N 2. – P. 209–211.

Antigene activity of cellular metabolites of *Coenurus cerebralis* protoscolex

V.K. Berezhko, I.I. Benediktov, I.F. Klenova

The results of the analysis of serums blood of sheep immunized twice intramuscularly by excreted and secreted of cultivated cages of *Coenurus cerebralis* protoscolex (a cellular antigene), immunoenzyme reaction of ELISA are given. High antigene activity of a cellular antigene is established. Optical density (OD) parameters in ELISA of serums of immunized sheep during experiment (110 days) on the average on group made 2,339 that above those before immunization (0,314) by 7,45 times. The parameters of OD in control group were on the average 0,201–0,251.

Keywords: sheep, protoscolex, *Coenurus cerebralis*, metabolites of cages, immunization, antibodygenesis.