

© ПОБЯРЖИН В.В., БЕКИШ Вл.Я., 2003

## ВЛИЯНИЕ АНТИГЕНОВ ИЗ ТКАНЕЙ ГЕЛЬМИНТОВ НА ХРОМОСОМНЫЕ НАБОРЫ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

ПОБЯРЖИН В.В., БЕКИШ Вл.Я.

*Витебский государственный медицинский университет,  
кафедра медицинской биологии и общей генетики*

**Резюме.** Изучено влияние белковых антигенов из целых половозрелых *H. nana* и *A. suum* на хромосомные наборы лимфоцитов крови доноров *in vitro* при их совместной культивации в зависимости от групп крови по системам АВО(Н), Rh и дозы введения паразитарных антигенов. Установлено, что антигены из половозрелых *H. nana* и *A. suum* обладают кластогенным и анеугенным эффектами на лимфоциты крови доноров *in vitro*. Уровень цитогенетических повреждений зависит от дозы паразитарных антигенов, групповой принадлежности крови человека по системе АВО(Н) и не связан с наличием или отсутствием резус-фактора. Эти изменения наиболее выражены при культивации с антигеном из гименолеписов в культурах лимфоцитов доноров АВ(IV) группы, а при добавлении антигена из аскарид - в культивируемых лимфоцитах В(III) и АВ(IV) групп крови.

**Ключевые слова:** антигены, карликовый цепень, аскарида, лимфоциты доноров, мутагены.

**Abstract.** The influence of protein antigens from the adult *H. nana* and *A. suum* on the hereditary apparatus of human blood lymphocytes *in vitro* depending on ABO(H), Rh blood groups systems and parasitic antigens dose was investigated. It was established that antigens from adult *H. nana* and *A. suum* had clastogenic and aneugenic effects on donor blood lymphocytes *in vitro*. The range of cytogenetic damages depends on ABO(H) antigenic characteristics of human blood cells, dose of parasite antigens and does not correlate with Rh blood groups system. It is most expressed in the lymphocytes of donors with АВ(IV) group at cultivation with hymenolepis antigens and at cultivation with ascaris antigens in the lymphocytes of В(III) and АВ(IV) blood groups.

Известно, что сенсибилизация белковыми антигенами, полученными из тканей гельминтов, индуцирует цитогенетические изменения в наследственном аппарате соматических и генеративных клеток экспериментальных животных [1, 3, 8]. Однако воздействие антигенов из тканей паразитов на наследственный аппарат лимфоцитов крови доноров при их совместной культивации *in vitro* в зависимости от групповой принадлежности по системе АВО(Н) изучено не достаточно, а по системе Rh никем не изучалось. Установлено, что совместное культивирование лим-

фоцитов крови доноров с трихоцефалёзным антигеном характеризуется повышением уровней гипоплоидных, гиперплоидных и аберрантных клеток. Эти изменения наиболее чётко выражены у доноров с А(II) и АВ(IV) группами крови и зависят от дозы добавленного антигена [3]. Секреторно-экскреторный-соматический комплекс личинок трихинелл индуцирует дозозависимые цитогенетические повреждения в лейкоцитах периферической крови доноров *in vitro*, приводящие к достоверному увеличению количества аберрантных и гипоплоидных клеток и не зависит от групповой принадлежности крови по системе АВО(Н) [2].

Изучение воздействия антигенов из тканей гельминтов на хромосомные наборы

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр.Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра медицинской биологии и общей генетики - Побяржин В.В.

лимфоцитов крови доноров *in vitro* позволяет оценить возможные цитогенетические изменения в соматических клетках хозяина при их непосредственном контакте с эндогенными паразитарными антигенами, а также определить генные маркеры, ответственные за тяжесть повреждений его генома. В связи с этим представляет интерес исследовать анеугенное и кластогенное воздействия антигенов из тканей *Humenolepis nana* и *Ascaris suum* на лимфоциты крови доноров *in vitro*.

Целью исследования было изучение влияния белковых антигенов из целых половозрелых *H. nana* и *A. suum* на хромосомные наборы лимфоцитов крови доноров *in vitro* при их совместной культивации в зависимости от групп крови по системам АВО(Н), Rh и концентрации добавленных паразитарных антигенов.

### Методы

При совместной культивации с антигенами из паразитов была использована кровь 88 доноров в возрасте от 18 до 45 лет без вредных привычек, а также не имеющих острых вирусных и бактериальных инфекций в течение одного месяца до забора крови.

Для проведения культиваций с антигеном из *H. nana* 48 доноров были разделены на 12 подгрупп в соответствии с групповой принадлежностью крови по системам АВО(Н) и Rh (табл. 1).

Для изучения специфического воздействия антигенов из аскарид на лимфоциты

периферической крови человека 40 доноров были разделены на 4 группы в соответствии с групповой принадлежностью крови по системе АВО(Н).

Белковый антиген из целых половозрелых *H. nana* и *A. suum* получали по разработанным нами методикам [1, 10]. В полученном гименолипидозном антигене определяли общую концентрацию белка биуретовым методом [7], а в аскаридозном - по методу Лоури-Фолина [14].

Культивацию лимфоцитов доноров проводили по методике Мак-Грегора Г., Варли Дж. [6] в нашей модификации [4]. Цельная кровь доноров в объеме 0,5 мл в стерильных условиях помещалась в культуральные флаконы, содержащий следующие компоненты: среда RPMI-1640 с бикарбонатом Na и с L-глутамином (5 мл); сыворотка крови эмбрионов крупнорогатого скота (1,5 мл); лектин фирмы Sigma (49 мкг); гентамицин (700 мкг). Далее во флаконы для культивирования добавлялся белковый антиген из половозрелых цестод в концентрации 100 мкг на 1 мл культуральной смеси, а антиген из целых аскарид в конечной концентрации 5 или 20 мкг/мл. В контрольные пробы вносился 0,9 % раствор хлорида натрия в том же объеме, что и антиген. Культивирование осуществлялось в течение 52 часов при температуре 37° С. За 2 часа до окончания культивирования во флаконы добавляли колхицин для блокады митозов на стадии метафазы. На 53 часу культивирования готовили препараты метафазных пластинок лимфоцитов кро-

Таблица 1

**Структура подгрупп доноров крови, используемых при культивациях с антигенами из гименолеписов**

№ под- группы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ABO(Н)	O(I)	O(I)	A(II)	A(II)	B(III)	B(III)	AB(IV)	AB(IV)	O(I)	A(II)	B(III)	AB(IV)
Rh	Rh <sup>+</sup>	Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup>	Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup>	Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup>	Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup> + Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup> + Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup> + Rh <sup>-</sup>	Rh <sup>+</sup> + Rh <sup>-</sup>

ви доноров без поджигания фиксатора. С каждого культурального флакона получали по два микропрепарата, которые окрашивались красителем Гимза фирмы Sigma и анализировались на микроскопе Leica-DMRB при увеличении 1200x. На каждом препарате просчитывалось по 100 метафазных пластинок с числом хромосом от 44 до 47. Учитывался процент гипоплоидных, гиперплоидных и aberrантных клеток, а также спектр хромосомных aberrаций в последних.

### Результаты

При добавлении белкового антигена из целых половозрелых *H. papa* в дозе 100 мкг/мл в культуры лимфоцитов доноров подгруппы O(Rh<sup>+</sup>) наблюдалось только достоверное увеличение в 1,3 раза количества гипоплоидных клеток (рис. 1). В подгруппе O(Rh<sup>-</sup>) при совместном культивировании с паразитарным антигеном все исследуемые показате-

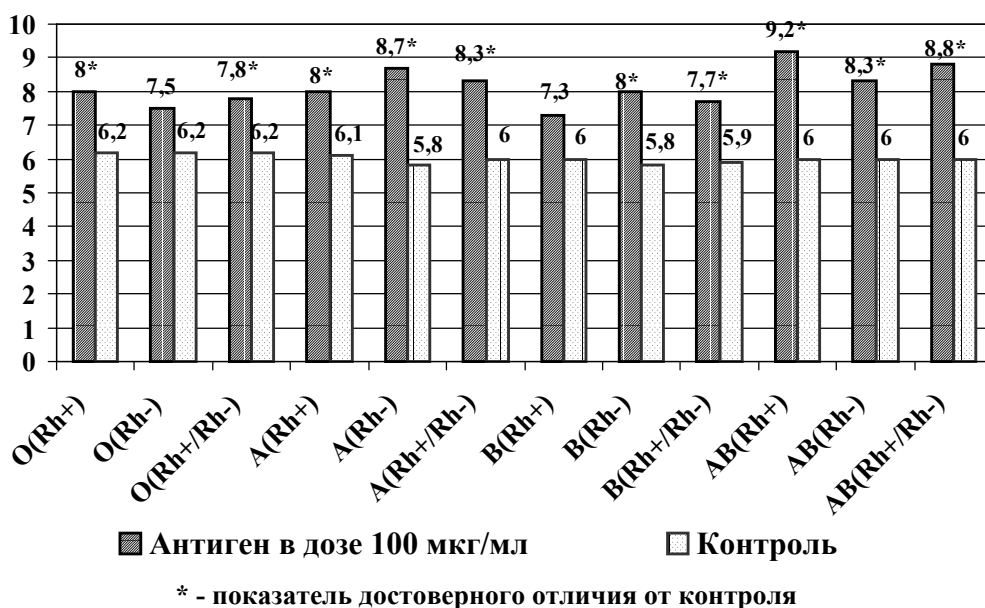


Рис. 1. Уровень гипоплоидных клеток в лимфоцитах крови доноров при их совместной культивации с антигеном из *H. papa*.

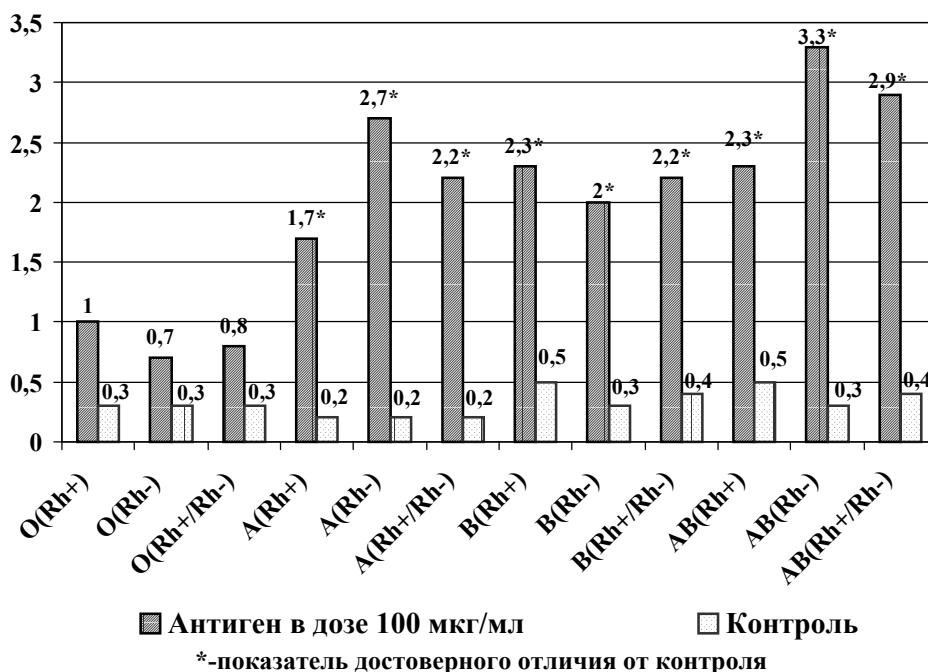


Рис. 2. Уровень aberrантных клеток лимфоцитов крови доноров при их совместной культивации с антигеном из *H. papa*

тели достоверно не отличались от контрольных (рис. 1, 2, 3), а в подгруппе O(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) было отмечено только повышение в 1,3 раза (P<0,02) числа гипоплоидных клеток (рис. 1).

Культивирование лимфоцитов доноров подгруппы A(Rh<sup>+</sup>) с паразитарным антигеном характеризовалось достоверным ростом числа гипоплоидных клеток в 1,3 раза и aberrантных – в 8,2 раза (рис. 1, 2). В культурах лимфоцитов доноров подгруппы A(Rh<sup>-</sup>) при добавлении белкового антигена число гипоплоидных клеток возрастало в 1,5 раза и aberrантных – в 13,5 раза (P<0,01) по отношению к контролю (рис. 1, 2). При культивировании с антигеном лимфоцитов периферической крови доноров подгруппы A(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) наблюдался достоверный рост числа как гипоплоидных, так и aberrантных клеток в 1,4 и 11 раз соответственно (рис. 1, 2). В лимфоцитах крови доноров подгрупп A(Rh<sup>+</sup>), A(Rh<sup>-</sup>) и A(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) при добавлении паразитарного антигена уровень гиперплоидных клеток достоверно не повышался (рис. 3).

В лимфоцитах доноров подгруппы B(Rh<sup>+</sup>) при добавлении белкового антигена из гименолеписов число aberrантных клеток превысило контрольные показатели в 4,6 раза (P<0,01), а количество гиперплоидных клеток достоверно не изменялось. При совместном культивировании лимфоцитов доноров B(Rh<sup>-</sup>) с антигеном количество гипоплоид-

ных и aberrантных клеток было в 1,4 (P<0,02) и 6,7 (P<0,04) раза соответственно выше в отличие от данных контроля (рис. 1, 2). В культурах лимфоцитов доноров подгруппы B(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) культивируемых совместно с антигеном число гипоплоидных клеток было достоверно выше в 1,3 раза и aberrантных – в 5,5 раза, чем в контроле (рис. 1, 2). При культивировании лимфоцитов доноров подгрупп B(Rh<sup>+</sup>), B(Rh<sup>-</sup>) и B(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) с паразитарным антигеном роста числа гиперплоидных клеток не наблюдалось (рис.3).

При культивации с антигеном лимфоцитов доноров подгруппы AB(Rh<sup>+</sup>) количество гипоплоидных клеток было больше в 1,5 раза (P<0,02), aberrантных – в 4,6 раза (P<0,01), тогда как уровень гиперплоидных клеток не изменялся (рис. 3). В культурах лимфоцитов доноров подгруппы AB(Rh<sup>-</sup>) добавление антигена из *H. nana* вызвало достоверное повышение количества гипоплоидных клеток в 1,2 раза, гиперплоидных – в 6 раз и aberrантных – в 11 раз по отношению к контролю (рис. 1, 2, 3). Добавление паразитарного антигена в культуры лимфоцитов доноров подгруппы AB(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) характеризовалось достоверным ростом числа гипоплоидных, гиперплоидных и aberrантных клеток в 1,4, в 3 и в 7,3 раза соответственно (рис. 1, 2, 3).

В общем спектре хромосомных aberrаций во всех опытных и контрольных подгруппах при культивации с гименолепидозным

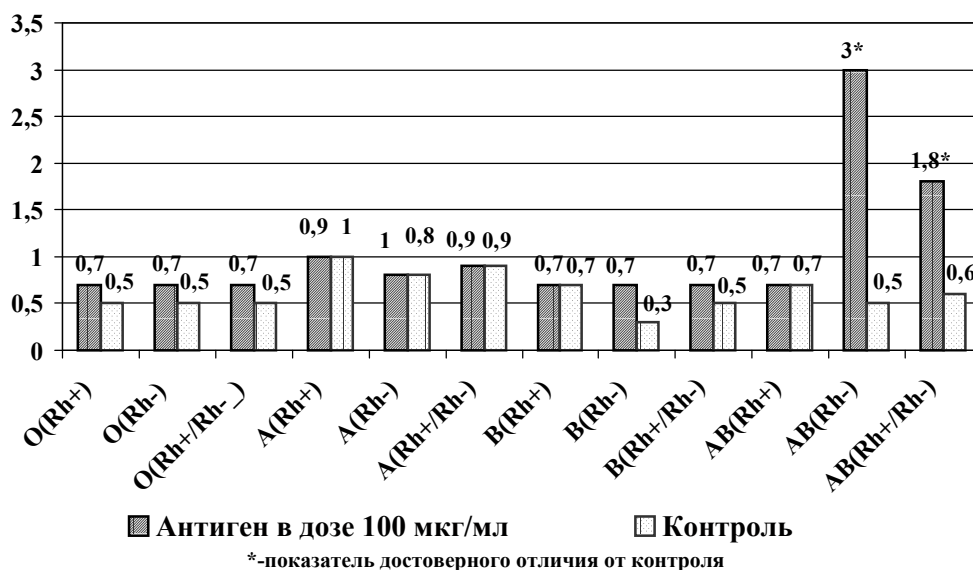


Рис. 3. Уровень гиперплоидных клеток лимфоцитов крови доноров при их совместной культивации с антигеном из *H. nana*.

антигеном наблюдались только одиночные и парные фрагменты, соотношение которых достоверно не отличалось друг от друга ( $P > 0,05$ ) и находилось в пределах единицы.

При сопоставлении данных, полученных при культивировании лимфоцитов доноров всех групп крови как резус-положитель-

ных, так и резус-отрицательных с добавленным антигеном из *H. papa*, достоверных отличий числа гипоплоидных, гиперплоидных и aberrантных клеток выявлено не было (рис.4).

При добавлении к культивируемым лимфоцитам доноров O(I) группы антигена из це-

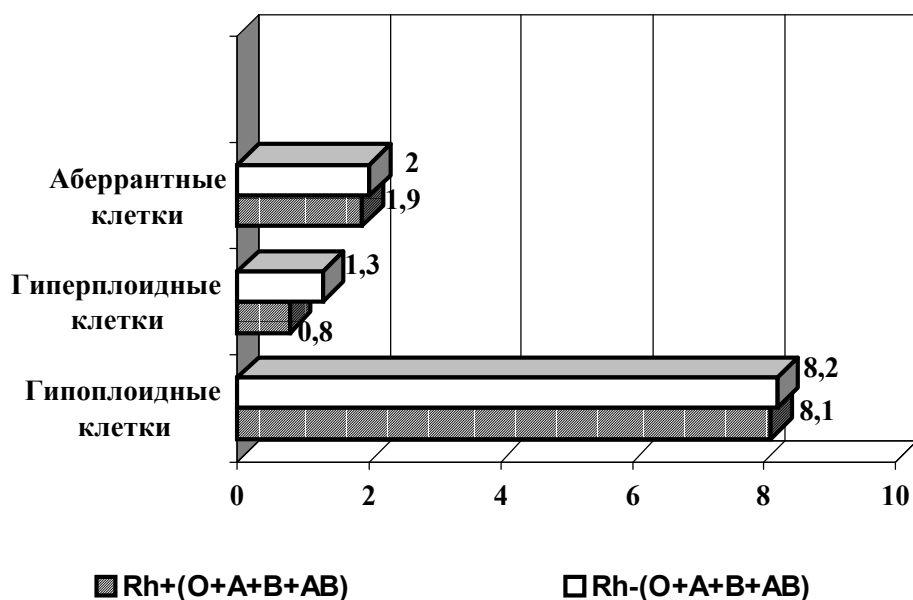
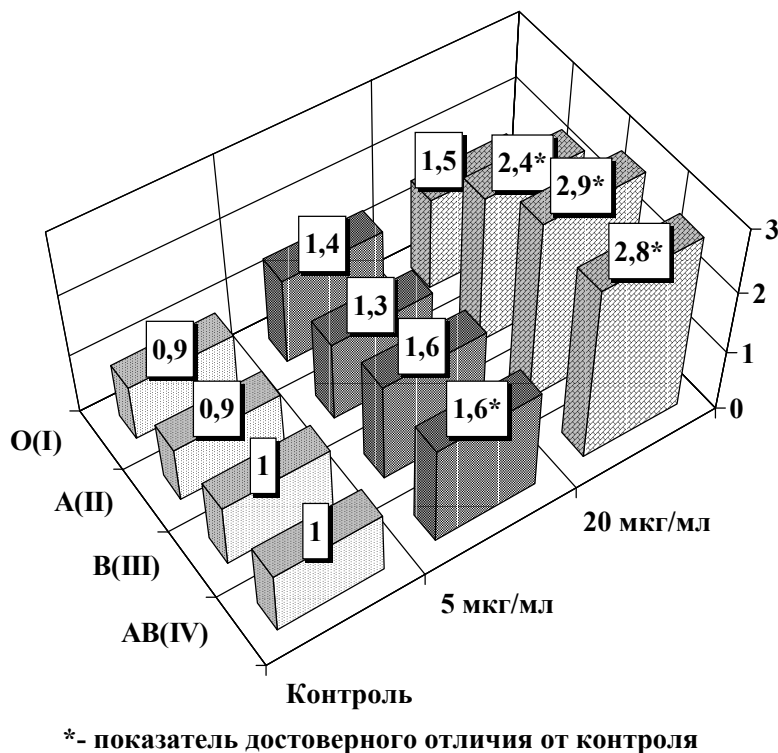


Рис. 4. Уровень гипоплоидных, гиперплоидных и aberrантных лимфоцитов крови доноров по системе Rh при их совместном культивировании с антигеном из *H. papa*.



\*- показатель достоверного отличия от контроля

Рис. 5. Уровень гиперплоидных клеток в культурах лимфоцитов крови доноров при добавлении антигена из целых аскарид в различных концентрациях.

лых аскарид в концентрации белка 5 мкг/мл во флакон для культивации не отмечалось достоверного изменения всех исследуемых показателей (рис. 5, 6). При увеличении дозы антигена до 20 мкг/мл культурального содержимого у доноров O(I) группы крови уровни гипоплоидных и гиперплоидных лимфоцитов также не отличались от контрольных показателей ( $P > 0,05$ ), но было установлено достоверное увеличение aberrантных клеток в 5,5 раза по отношению к контролю (рис. 6) и рост числа парных фрагментов на 12 %.

В культурах лимфоцитов доноров A(II) группы крови при введении антигена из целых аскарид в дозе 5 мкг/мл достоверного изменения всех исследуемых параметров отмечено не было. Добавление к культивируемым лимфоцитам антигена в концентрации 20 мкг/мл привело к увеличению в 2,67 раза гиперплоидных и в 7 раз aberrантных клеток ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем (рис. 5, 6), а также отмечалось увеличение доли парных фрагментов на 12 %.

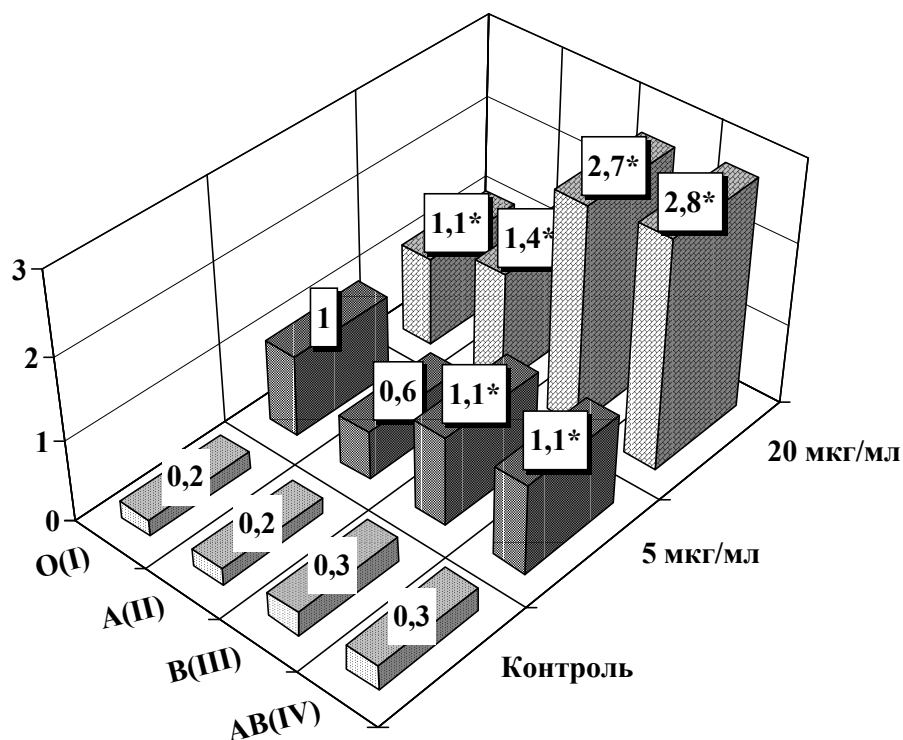
При введении антигена из целых аскарид в культуры лимфоцитов доноров B(III) группы крови в концентрации 5 мкг/мл было

отмечено достоверное увеличение в 3,67 раза только числа aberrантных клеток (рис. 6), а при добавлении в концентрации 20 мкг/мл наблюдался достоверный рост гиперплоидных клеток в 2,9 и aberrантных – в 9 раз (рис. 5, 6).

В культурах лимфоцитов доноров AB(IV) группы крови при добавлении антигена из целых аскарид в дозе 5 мкг/мл культурального содержимого было констатировано достоверное увеличение количества гиперплоидных клеток в 1,6 раза и aberrантных – в 3,67 раза по сравнению с контролем (рис. 5, 6). При увеличении дозы введения антигена из целых аскарид до концентрации 20 мкг/мл культурального содержимого у доноров AB(IV) группы крови уровни гиперплоидных и aberrантных клеток достоверно в 2,8 и 9,34 раз соответственно превышали контрольные показатели (рис. 5, 6). Структура хромосомных aberrаций характеризовалась ростом парных фрагментов на 13%.

## Обсуждение

Установлено, что совместное культиви-



\*-показатель достоверного отличия от контроля

Рис. 6. Уровень aberrантных клеток в культурах лимфоцитов крови доноров при добавлении антигена из целых аскарид в разных концентрациях.

рование лимфоцитов доноров с белковым антигеном из половозрелых *H. nana* приводит к достоверному увеличению числа гипоплоидных, гиперплоидных и аберрантных клеток. Уровень цитогенетических нарушений в лимфоцитах доноров при добавлении антигена из гименолеписов коррелировал с антигенной характеристикой крови по системе АВО(Н) и был наиболее выражен у доноров АВ(IV) группы крови. Так, в подгруппе АВ(Rh<sup>+</sup> + Rh<sup>-</sup>) нами было установлено кроме повышения количества гипоплоидных и аберрантных клеток в 1,4 и 7,3 раза соответственно, также достоверный рост уровня гиперплоидных клеток более чем в 3 раза.

Наиболее значимые изменения в наследственном аппарате лимфоцитов доноров группы АВ(IV) при добавлении антигена из *H. nana* в культуры можно связать с тем, что у представителей класса Cestoidea имеются групповые антигены А и В по системе АВО(Н). В частности, установлено наличие антигена В у *Diphyllobothrium latum* и антигена А – у *Taeniarrhynchus saginatus* [5]. В сколексах, стенках и жидкости эхинококковых пузырей выявлены группоподобные антигены А и В [8]. Поэтому степень тяжести цитогенетических повреждений в лимфоцитах крови доноров при добавлении антигена из гименолеписов усиливается благодаря одновременному нахождению у человека антигенов А и В по системе АВО(Н).

Достоверного отличия исследуемых показателей в культивированных лимфоцитах с антигеном из *H. nana* при учете системы Rh установлено не было. Это позволяет предположить, что наличие или отсутствие резус-фактора не влияет на тяжесть цитогенетических повреждений в соматических клетках хозяина. Результаты наших исследований схожи с данными, полученными при изучении зараженности населения вухерериозом, где связи заболеваемости с резуспринадлежностью крови выявлено не было [11, 13].

При культивации лимфоцитов крови доноров с антигеном из целых аскарид установлено, что он обладает кластогенным и анеугенным воздействиями на лимфоциты крови доноров всех групп крови по системе АВО(Н), которые приводят к увеличению ко-

личества гиперплоидных и аберрантных клеток. Наиболее выраженные изменения выявлены в культурах лимфоцитов доноров В(III) и АВ(IV) групп крови, а уровень цитогенетических изменений зависит от концентрации паразитарного антигена. Так, при увеличении концентрации антигена с 5 до 20 мкг/мл культурального содержимого в лимфоцитах доноров В(III) и АВ(IV) групп крови возрастали в 1,75 - 2,8 раз уровни аберрантных и гиперплоидных клеток. По-видимому, большая предрасположенность к мутагенному воздействию антигена из целых аскарид детерминируется наличием у людей антигена - В. Этот факт можно связать с наличием у аскарид группоподобных А- и В-антигенов системы АВО(Н) человека и со способностью кутикулы аскарид адсорбировать групповые А-, В- антигены, g - глобулины человека [9], а также свойством кутикулярных антигенов аскарид адсорбироваться на эритроцитах хозяина [12].

### Выводы

1. Белковые антигены из половозрелых *H. nana* и *A. suum* обладают кластогенным и анеугенным эффектами на лимфоциты крови доноров *in vitro*, что выражается в увеличении количества гипоплоидных, гиперплоидных и аберрантных клеток.

2. Тяжесть цитогенетических повреждений зависит от дозы добавленных паразитарных антигенов, групповой принадлежности крови человека по системе АВО(Н) и не зависит от резуспринадлежности. Наиболее значимые изменения при культивации с антигеном из гименолеписов отмечены в культурах лимфоцитов доноров АВ(IV) группы, а при добавлении аскаридозного антигена в культивируемых лимфоцитах доноров В(III) и АВ(IV) групп крови.

### Литература

1. Бекиш Вл.Я. Мутагенная активность антигенов из тканей аскарид// Здоровоохранение. - 1999, № 6. - С. 17-19.
2. Бекиш О.-Я. Л., Калинин Л. В., Степанов А. В. Биомутагенное влияние нематод на кариотип соматических клеток хозяина// Актуал. пробл. современной медицины (Матер. науч. конф.) –

- Витебск. - 1994. – С. 61.
3. Бекиш О.-Я.Л., Степанов А.В. Влияние трихоцефалезного антигена на уровень цитогенетических нарушений клеток культуры лимфоцитов человека// Гельминтозоозы - меры борьбы и профилактика (Материалы докл. науч. конф.) – М.: - 1994. - С. 17.
  4. Жаворонок С. В., Бекиш Вл.Я. и соавт. Система диагностики диффузных паренхиматозных поражений печени у различных групп населения с повышенным риском инфицирования вирусными гепатитами В, С, D, G// Метод. рекомендации. – Мн.: - 1998. - 51с.
  5. Магдиева С. Р., Озерецковская Н. Н. Влияние некоторых врожденных и приобретенных свойств хозяина на возникновение и тяжесть течения патологического процесса при гельминтозах// Матер. науч. конф. посвященной 50-летию ИМП и ТМ им. Е. И. Марциновского МЗ СССР. - 1970. - С. 37-39.
  6. Мак-Грегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных: -М.: Мир. - 1986. -268 с.
  7. Морозова Н.А., Барышникова Т.А. Определение белка в моче биуретовым методом// Лабораторное дело. – 1991, № 2. – С. 23-25.
  8. Новоселска Л. Группоподобные антигены по системе АВО(Н) в эхинококковых пузырях// Изв. Центр хелминтол. лабор.- 1970.- №14. - С.185-192.
  9. Новоселска Л. Способность кутикулы аскарид адсорбировать А- и В - антигены человека// Мед. паразитол. и паразитар. болезни. - 1972. -41. - №5.- С. 565-567.
  10. Побяржин В.В. Мутагенное воздействие белкового антигена из тканей половозрелых *Hymenolepis nana* var. *muris* на геном мышей линии СВА// Эпидемиол., диагностика, лечение и профилактика паразит. заболеваний человека (Труды III Международ. науч. – практич. конф.). – Витебск. – 2002. – с. 93-98.
  11. Kumar H., Santhanas S. Blood groups and filariasis/ / Folia parasitol. – 1989. – 36. – № 2. – P. 163-167.
  12. Oliver-Gonzalez I., Koppisch E. Immunological and pathological phenomena related to substances from tissue of *Ascaris lumbricoides*// Rice Inst. Pamphl. - 1958. - 45. -№ 1. - P. 141-150.
  13. Srikumari S., Ramesh A., Ganesan J. Association of ABO and Rh(D) blood groups with filariasis// Hum. Hered. – 1990. - 40. -№ 6. – P. 381-385.
  14. Zowzy O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z., Randall R. J. Protein measurement with the phenol reagent/ / Biol. Chem. - 1951. -193. - 1. - P. 265-266.

*Поступила 11.01.2003 г.  
Принята в печать 10.04.2003 г.*

