DOI: 10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.180-186
УДК 595.121; 577.1

ДИНАМИКА СЕКРЕЦИИ ПРОСТАГЛАНДИНОВ E_2 И D_2 ПЛЕРОЦЕРКОИДАМИ *DIBOTHRIOCHEPHALLUS DENDRITICUS* (CESTODA) В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ХОЗЯИНА – БАЙКАЛЬСКОГО ОМУЛЯ

Кутырев И. А. [1, 2],
доктор биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов
ikutyrev@yandex.ru

Оленников Д. Н. [1],
доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории медико-биологических исследований

Кащенко Н. И. [1],
кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник
лаборатории медико-биологических исследований

Мазур О. Е. [1],
кандидат биологических наук, научный сотрудник
лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов

Аннотация

Паразиты регулируют иммунный ответ хозяев путем секреции растворимых медиаторов, которые определенным образом взаимодействуют с клетками и молекулами иммунной системы. Целью исследований было определение изменений содержания иммунорегуляторов – простагландинов E_2 и D_2 как в организме плероцеркоидов *Dibothriochephallus dendriticus*, так и в инкубационной среде при инкубировании лентецов с добавлением сыворотки крови промежуточного хозяина – байкальского омуля. Плероцеркоиды *D. dendriticus* были извлечены из полости тела хозяев, промыты в физиологическом растворе и помещены в инкубационные среды. Для определения простагландинов использовали метод микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии. В организме плероцеркоидов после инкубации их в растворе Хенкса с добавлением сыворотки крови концентрация простагландинов незначительно повышается по сравнению с плероцеркоидами,

[1] Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6)

[2] Иркутский государственный университет, НИИ биологии (664003, г. Иркутск, ул. Ленина, 3)

инкубированными только в растворере Хенкса. После инкубации плероцеркоидов в растворе Хенкса с добавлением сыворотки крови в этой инкубационной среде значительно повышается концентрация простагландина E_2. Простагландин D_2 также обнаруживается в больших концентрациях через 12 и 24 ч инкубации, тогда как при инкубации паразитов просто в растворе Хенкса простагландин D_2 не обнаруживался совсем.

Ключевые слова: *Dibothriochephallus dendriticus*, иммунорегуляторы, простагландины E_2 и D_2.

DYNAMICS OF SECRETION OF PROSTAGLANDINS E_2 AND D_2 WITH *DIBOTHRIOCHEPHALLUS DENDRITICUS* (CESTODA) PLEROCERCOIDS IN RESPONSE TO EXPOSURE OF BLOOD SERUM OF BAIKAL CISCO, THE HOST

Kutyrev I. A. [1, 2],
Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher,
the Laboratory of Parasitology and Ecology of Hydrobionts
ikutyrev@yandex.ru

Olennikov D. N. [1],
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Leading Researcher,
the Laboratory of Biomedical Research

Kaschenko N. I. [1],
Candidate of Pharmaceutical Sciences, Researcher,
the Laboratory of Biomedical Research

Mazur O. E. [1],
Candidate of Biological Sciences, Researcher,
the Laboratory of Parasitology and Ecology of Hydrobionts

Abstract

Parasites regulate host immune response via secretion of soluble mediators which interact in a certain way with cells and molecules of the immune system. The aim of the study was to determine changes of prostaglandins E_2 и D_2 content in *Dibothriochephallus dendriticus* plerocercoids and also in the incubation media during incubation of tapeworms with addition of blood serum from the intermediate host – Baikal cisco. *D. dendriticus* plerocercoids were retrieved from the host

[1] Institute of General and Experimental Biology, SB RAS (6, Sakyanovoi st., Ulan-Ude, 670047, Russia)

[2] Institute of Biology at "Irkutsk State University" (3, Lenin st., Irkutsk, 664003, Russia)

body cavity, washed in the physiological solution and placed in incubation media. Microcolumn high-performance liquid chromatography was used to detect prostaglandins. Concentration of prostaglandins in the plerocercoid organism increased insignificantly after incubation in the Hanks' solution with addition of blood serum, when compared with incubation in the Hanks' solution only. Concentration of prostaglandin E_2 increased significantly in the incubation media after incubation of plerocercoids in the Hanks' solution with addition of blood serum. Prostaglandin D_2 was also identified in high concentrations after 12 h and 24 h of incubation, whereas prostaglandin D_2 was not quite detected during incubation in Hanks' solution only.

Keywords: *Dibothriochephallus dendriticus*, immunoregulators, prostaglandins E_2 и D_2.

Введение. Паразитизм – один из наиболее успешных образов жизни, демонстрируемых живыми организмами, если учитывать частоту его встречаемости и огромную численность паразитических видов. Многочисленные способы защиты от иммунного ответа хозяина позволяют паразитам расти, выживать и длительное время сохраняться в организме хозяина [1]. Паразиты регулируют иммунный ответ хозяев путем секреции растворимых медиаторов, которые определенным образом взаимодействуют с клетками и молекулами иммунной системы. В последние годы возрос интерес к идентификации иммунорегуляторных молекул, вырабатываемых паразитическими червями.

Цестодозы в некоторых эндемичных регионах по своему эпидемиологическому и эпизоотическому значению выходят на первый план среди остальных гельминтозов. В ряде северных районов Сибири и Прибайкалье широко распространен дифиллоботриоз. Его возбудитель –лентец чаечный *Dibothriochephallus dendriticus* (син. *Diphyllobothrium dendriticum*). Ранее нами у плероцеркоидов *D. dendriticus* были выявлены потенциальные иммунорегуляторы – простагландины (PG) E_2 и D_2, описаны особенности их локализации в организме и пути возможного выведения в организм хозяина [2].

Целью исследований было определение изменений содержания простагландинов PGE_2 и PGD_2 как в организме плероцеркоидов *D. dendriticus*, так и в инкубационной среде при инкубировании лентецов с добавлением сыворотки крови промежуточного хозяина – байкальского омуля.

Материалы и методы. Плероцеркоиды *D. dendriticus* были извлечены из полости тела хозяев, промыты в 0,65% физиологическом растворе для холоднокровных животных с целью отмывания от антигенов хозяина и помещены в инкубационные среды. Инкубационные среды

включали в себя: 1) раствор Хенкса, пенициллин 10^5 МЕ/л, линкомицин 100 мг/л; 2) раствор Хенкса и сыворотку крови хозяев в соотношении 1:1, пенициллин 10^5 МЕ/л, линкомицин 100 мг/л [3]. Время инкубации составило 3, 6, 12 и 24 ч при 4 °С. В каждом эксперименте было использовано по 5 плероцеркоидов. Соотношение массы плероцеркоидов и объема инкубационной среды составляло 150 мг / 2 мл. Каждый эксперимент проведен в трех повторностях. В качестве контроля использовались плероцеркоиды цестод, непосредственно извлеченные из хозяев, а также инкубационная среда с сывороткой крови, выдержанная в течение 3, 6, 12 и 24 ч при 4°С. Плероцеркоиды, а также среда, в которой инкубировались плероцеркоиды, были зафиксированы жидким азотом.

Для определения динамики продукции потенциальных иммуномодуляторов – простагландинов E_2 и D_2 – в организме цестод и секреции их в инкубационную среду был применен метод микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии (МК-ВЭЖХ). Простагландины были экстрагированы из плероцеркоидов и проанализированы с использованием жидкостного хроматографа Милихром А-02 (Эконова) с детектированием в УФ-диапазоне, а также время-пролетного масс-спектрометра Agilent 6200. В работе были использованы стандартные образцы веществ: простагландины E_2 и D_2 (Sigma).

Результаты исследований. Для понимания роли простагландинов во взаимоотношениях цестод и их хозяев-рыб мы инкубировали плероцеркоиды *D. dendriticus* в среде, содержащей сыворотку крови своего хозяина – байкальского омуля. Используя метод ВЭЖХ, было доказано, что плероцеркоиды *D. dendriticus* под воздействием сыворотки крови своего хозяина продуцируют простагландины E_2 и D_2 и секретируют их в инкубационную среду (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в инкубационной среде, содержащей р-р Хенкса и сыворотку крови, простагландины не детектируются ни в один момент времени. Концентрация простагландинов в организме плероцеркоидов при инкубации в р-ре Хенкса достоверно не изменяется и остается в пределах 26,02–27,52 нг/мл для PGE_2 и 0,80–0,85 нг/мл для PGD_2. При этом в р-ре Хенкса концентрация PGE_2 после инкубации плероцеркоидов остается незначительной на уровне 0,45–0,52 пг/мл. PGD_2 в р-ре Хенкса после инкубации плероцеркоидов не детектируется совсем. В организме плероцеркоидов после инкубации их в р-ре Хенкса с добавлением сыворотки крови концентрация простагландинов незначительно повышается по сравнению с плероцеркоидами,

Таблица 1.

Динамика выработки простагландинов E_2 и D_2 в организме плероцеркоидов *D. dendriticus* и секреции в инкубационную среду, содержащую сыворотку крови своего хозяина – байкальского омуля

Количество образцов / повторность PGE_2, PGD_2		Время инкубации, ч				
		0	3	6	12	24
Эксперименты	Паразиты после инкубации в р-ре Хенкса с сывороткой крови, нг/мг	n = 5 / 5 28,18±1,69 0,92 0,05	n = 4 / 5 27,14±1,68 0,96±0,06	n = 6 / 5 29,11±2,03 1,14±0,07	n = 5 / 5 31,17±2,19 1,22±0,08	n = 5 / 5 30,63±2,07 1,20±0,08
	Р-р Хенкса + сыворотка крови после инкубации паразитов, пг/мл	n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,93±0,03 0,00	n = 1 / 5 6,34±0,29 5,11±0,20	n = 1 / 5 5,20±0,19 1,04±0,04
Контроли	Паразиты после инкубации в р-ре Хенкса, нг/мг		n = 4 / 5 27,11±1,89 0,84±0,06	n = 3 / 5 27,52±1,77 0,85±0,07	n = 4 / 5 27,14±1,79 0,81±0,05	n = 4 / 5 26,02±1,63 0,80±0,06
	Р-р Хенкса после инкубации паразитов, пг/мл	n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,52±0,08 0,00	n = 1 / 5 0,50±0,08 0,00	n = 1 / 5 0,48±0,07 0,00	n = 1 / 5 0,45±0,08 0,00
	Р-р Хенкса + сыворотка крови без инкубации паразитов, пг/мл		n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,00 0,00	n = 1 / 5 0,00 0,00

инкубированными только в р-ре Хенкса. Кроме того, наблюдается тенденция к увеличению концентрации с течением времени, достигая максимума к 12 ч инкубации. После инкубации плероцеркоидов в р-ре Хенкса с добавлением сыворотки крови, в этой инкубационной среде значительно повышается концентрация PGE_2, превышая таковую при инкубации плероцеркоидов только в р-ре Хенкса. Максимум превышения – в 13 раз – наблюдается через 12 ч после начала инкубации. Кроме того, концентрация PGE_2 повышается с течением времени, достигая максимума через 12 ч инкубации. PGD_2 также обнаруживается в больших концентрациях через 12 и 24 ч инкубации (5,11 и 1,04 пг/мл соответственно), тогда как при инкубации паразитов просто в р-ре Хенкса PGD_2 не обнаруживался совсем.

Заключение. Таким образом, при стимулировании плероцеркоидов сывороткой крови хозяина происходит значительное усиление секреции простагландинов PGE_2 и PGD_2 в окружающую среду. Этот факт доказывает то, что данные простагландины играют важную роль во взаимоотношениях между плероцеркоидами *D. dendriticum* и их хозяином – байкальским омулем.

Авторы выражают благодарность А.В. Базову (Байкальский филиал Госрыбцентра) за помощь в сборе материала.

Работа выполнена в рамках темы госзадания (№ госрегистрации АААА-А17-117011810039-4) и при финансовой поддержке РФФИ (грант 19-04-00666) и Минобрнауки (№ темы госзадания FZZE-2020-0026).

Литература

1. *Coakley G.* Host parasite communications-Messages from helminths for the immune system: Parasite communication and cell-cell interactions / *G. Coakley, A.H. Buck., R.M. Maizels* // Molecular and Biochemical Parasitology. 2016. Volume 208. Issue 1. P. 33–40. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2016.06.003
2. *Kutyrev I.A., Biserova N.M., Olennikov D.N., Korneva Z.V., Mazur O.E.* Prostaglandins E_2 and D_2-regulators of host immunity in the model parasite *Diphyllobothrium dendriticum*: An immunocytochemical and biochemical study // Molecular and Biochemical Parasitology. Volume 212, March 2017. P. 33–45. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2017.01.006
3. *Kutyrev I.A., Franke F., Büscher J., Kurtz J., Scharsack J.P.* In vitro effects of prostaglandin E_2 on leucocytes from sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected and not infected with the cestode *Schistocephalus solidus* // Fish Shellfish Immunol. 2014. Volume 41, Issue 2. P. 473–481. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.09.031

References

1. Coakley G. Host parasite communications-Messages from helminths for the immune system: Parasite communication and cell-cell interactions / G. Coakley, A.H. Buck., R.M. Maizels. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2016; 208(1):33–40. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2016.06.003
2. Kutyrev I.A., Biserova N.M., Olennikov D.N., Korneva Z.V., Mazur O.E. Prostaglandins E2 and D2-regulators of host immunity in the model parasite Diphyllobothrium dendriticum: An immunocytochemical and biochemical study. *Molecular and Biochemical Parasitology*. March 2017; 212:33–45. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2017.01.006
3. Kutyrev I.A., Franke F., Büscher J., Kurtz J., Scharsack J.P. In vitro effects of prostaglandin E_2 on leucocytes from sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected and not infected with the cestode *Schistocephalus solidus*. *Fish Shellfish Immunol*. 2014; 41(2):473–481. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.09.031