

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ У ДЕЛЬФИНОВ RHOSAENA RHOSAENA

В предыдущих наших сообщениях было показано (Лукьяненко и Миесерова, 1962, 1964; Лукьяненко и Михеева, 1963), что уровень активности важнейших гуморальных факторов естественного иммунитета, таких, как комплемент, пропердин и др., у рыб различных семейств и родов значительно ниже, чем у представителей других классов позвоночных животных и прежде всего млекопитающих.

Объяснение этого принципиально важного для сравнительной иммунологии факта может быть двояким. Первое из них сводится к тому, что низкая активность гуморальных факторов естественного иммунитета рыб отражает начальные этапы становления и развития иммунобиологической функции в целом и ее гуморальных факторов в особенности. Согласно другому предположению, слабая выраженность функциональной активности комплемента, лизоцима и пропердина, лежащих в основе естественной резистентности и гомеостаза организма, является вторичной и определяется, главным образом, меньшей инфицированностью и относительной стабильностью водной среды обитания в сравнении с условиями существования наземных позвоночных.

В поисках объектов для опытной проверки высказанного предположения мы обратили внимание на группу морских млекопитающих. Биологическое своеобразие и физиологические особенности этой группы животных имеют первостепенный интерес для исследования эволюции иммунобиологической функции животных с различным уровнем филогенетического развития. Кроме того, высокий уровень организации и водный образ жизни этих животных приобретают исключительное значение в решении поставленных выше вопросов.

Между тем, насколько нам известно, ни в отечественной, ни в зарубежной литературе до сих пор нет сведений не только о способности китообразных к синтезу специфических антител в ответ на антигенный стимул, но и о существовании и уровне активности гуморальных факторов естественного иммунитета.

Настоящее сообщение является первым в этом плане и посвящено двум взаимосвязанным вопросам. Первый из них — выяв-

ление в сыворотке крови дельфинов гуморальных факторов естественного иммунитета: комплемента, пропердина и лизоцима; второй — изучение возможности синтеза дельфинами специфических антител.

МЕТОДИКА

В работе обобщаются данные иммунобиологического анализа сывороток шести дельфинов-азовок (*Phocaena phocaena relicta* Abel), проведенного с целью выявить содержание и уровень активности комплемента, лизоцима и пропердина.

Содержание и уровень активности комплемента определялись по разработанному нами микрометоду (Лукияненко и Миесерова, 1962). В качестве индикатора для обнаружения комплемента использовалась 0,5%-ная взвесь сенсibilизированных эритроцитов барана объемом 0,1 мл, гемолизирующихся в присутствии гемолитического амбоцептора.

Определение лизоцима проводилось по общепринятому методу Флеминга с использованием в качестве стандарта 1 миллиардной взвеси *Micrococcus lysodeicticus*.

Титрование пропердина проводили по зимозанному методу Пиллемера, модифицированному Машковым и Михайловой (1962). Биологическая активность пропердина определялась в этом случае по полной инактивации комплемента в *RP* (сыворотка без пропердина) за счет пропердина испытуемой сыворотки пропердин-зимозанным комплексом (*PZ*).

Оценка реакции титрования комплемента и лизоцима производилась по четырехплюсовой схеме, где 4+ — полный гемолиз бараньих эритроцитов или лизис стандартной взвеси кокков, 0 — отсутствие реакции, 3+, 2+ и + — различная степень выраженности реакции.

Специальная серия опытов была поставлена для изучения способности дельфинов воспринимать антигенное раздражение и отвечать из него синтезом специфических антител. В качестве антигенного стимула была использована сальмонеллезная вакцина Гертнера (*Salmonella enteridis* Garth) в дозе от 3 до 6 миллиардов микробных тел. Однократная подкожная инъекция антигена (1—2 мл) была произведена трем дельфинам (№№ 4, 5, 7). Антиген вводился в переднюю спинную часть туловища, отступя 20—25 см от спинного плавника к голове. Один из трех дельфинов (№ 7) погиб на второй день после вакцинации (разбился в бассейне), а два других на всем протяжении опытов находились в специальном бассейне Морского гидрофизического института (Кацивели) при температуре 5—7°. Дельфинов кормили живой рыбой. По истечении 7—10 дней после иммунизации животные были забиты, а сыворотка их крови была подвергнута полному иммунобиологическому анализу по схеме, описанной выше.

В качестве контроля служили дельфины №№ 1, 2, 3, у которых определялся титр нормальных антител к сальмонеллезному антигену Гертнера, который был использован для вакцинации подопытных дельфинов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные опытов по титрации комплемента, представленные в табл. 1, указывают на наличие комплементарной активности сыворотки крови у всех подопытных дельфинов.

Таблица 1

Уровень активности комплемента у дельфинов

№ дельфинов	Дозы сыворотки									Активность в единиц. комплемента
	0,005	0,01	0,02	0,04	0,06	0,1	0,14	0,18	0,20	
1	0	0	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	125
2	0	±	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	125
3	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	500
4	2+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	125
5	0	0	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	250
6	0	0	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	125

Примечание. Исходное разведение сыворотки 1:9.

Результаты проведенного исследования выявили также чрезвычайно высокий уровень активности комплемента, не уступающий таковому морской свинки.

Сопоставление отдельных измерений активности комплемента приводит к предварительному выводу о незначительном размахе индивидуальных колебаний в активности комплемента крови.

По нашим данным (Лукьяненко и Миесерова, 1962), активность комплемента у разных видов рыб варьирует от 5 до 0,86 единицы, поднимаясь в отдельных случаях у некоторых видов рыб (язь, карась) до 25 единиц. Это десятки и сотни раз меньше, чем выявленная активность комплемента у дельфинов.

Результаты опытов, характеризующие активность сывороточного лизоцима и его индивидуальные колебания, представлены в табл. 2.

Анализ полученных данных показывает, что нам удалось выявить содержание лизоцима в сыворотках всех испытуемых дельфинов, причем индивидуальные колебания активности лизоцима достигают значительного размаха: от 1:80 до 1:640.

Подобная активность сывороточного лизоцима у рыб встречается только у некоторых хищных видов (судак). В целом ак-

Таблица 2

Уровень активности лизоцима у дельфинов

№ дельфинов	Разведения сыворотки							Титр лизоцима
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
1	4+	4+	4+	4+	3+	0	0	1:160
2	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1:640
3	4+	4+	4+	4+	3+	+	0	1:160
4	4+	4+	4+	4+	3+	2+	±	1:320
5	4+	4+	4+	2+	+	±	0	1:80
6	4+	4+	4+	3+	2+	0	0	1:160

тивность сывороточного лизоцима у мирных видов рыб (карповые) и ряда хищных (окунь, щука) значительно ниже той активности лизоцима, которая была выявлена у дельфинов.

Опыты, направленные на выявление содержания и уровня активности пропердина, показали (табл. 3), что пропердин, как и два других фактора иммунитета, содержится в сыворотке всех подопытных дельфинов.

Таблица 3

Содержание пропердина у дельфинов

№ дельфинов	1	2	3	4	5	6
Количество пропердина в ед/мл	6	8	5	5,5	6	6

Хотя количественное содержание пропердина в сыворотке животных в значительной мере зависит от используемой методики, при сходных методических условиях, однако можно получить сопоставимые данные. Титрование пропердина сыворотки человека, например, проводившееся с помощью использованной нами методики, показало, что титр пропердина человека равен 4—6 единицам. Иными словами, активность пропердина у дельфинов оказалась несколько выше, чем у человека.

Количественное содержание пропердина в сыворотке крови у различных видов рыб, по данным наших измерений (Лукьяненко и Михеева, 1963), варьирует от 1 до 3,7 ед/мл, что значительно ниже содержания пропердина у дельфинов.

Суммируя полученные данные, следует подчеркнуть, что впервые проведенное нами сравнительное изучение содержания и уровня активности гуморальных факторов естественного иммуни-

тата у дельфинов показало не только принципиальную возможность их обнаружения у морских млекопитающих, но и сравнительно высокий уровень активности каждого из трех факторов иммунитета. Достаточно напомнить, что активность комплемента у дельфинов примерно такая же, как и у морских свинок, а количественное содержание пропердина у дельфинов выше, чем у человека.

Результаты опытов по иммунизации дельфинов, представленные в табл. 4, убедительно свидетельствуют о способности дель-

Таблица 4

Титры специфических антител у дельфинов в ответ на антигенное раздражение

№ дельфинов	Разведения сыворотки							
	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 1280	1 : 2560
4	4+	4+	4+	3+	3+	2+	±	0
5	—	4+	4+	4+	4+	3+	3+	+

финов к синтезу специфических антител в ответ на антигенное раздражение. Несмотря на крайне неблагоприятные по техническим причинам условия проведения подобных опытов (однократная иммунизация, ограниченный срок наблюдения и низкая температура), выявленный сравнительно высокий титр агглютининов дает основание предположить, что иммуногенетическая функция дельфинов представлена в весьма совершенной форме.

Контрольные опыты с сыворотками дельфинов №№ 1, 2, 3 и 6 показали, что титры нормальных антител к гертнеровскому антигену находились в пределах 1 : 5—1 : 20.

Суммируя полученные в этой серии опытов экспериментальные данные, следует прийти к выводу о сформированности и высокой функциональной активности иммуногенетического аппарата у дельфинов, способных к синтезу нормальных и специфических антител.

Выявленный нами факт высокой активности комплемента, лизоцима и пропердина у дельфинов в сравнении с рыбами позволяет склониться к мнению, что водная среда обитания морских млекопитающих не оказала существенного влияния на выраженность их защитных механизмов, обеспечивающих гомеостаз организма. Одновременно этот факт свидетельствует в пользу представления о том, что низкая активность некоторых гуморальных факторов естественного иммунитета рыб отражает скорее начальные этапы эволюционного развития защитной функции в ряду позвоночных и в меньшей мере определяется средой обитания рыб.

ЛИТЕРАТУРА

- Лукьяненко В. И. и Миесерова Е. К. 1962. Сравнительно-иммунологическое изучение комплементарной функции крови рыб.— Докл. АН СССР, т. 146, № 4.
- Лукьяненко В. И. и Миесерова Е. К. 1964. Нормальные гемагглютинины и гемолизины крови рыб.— Журн. общей биологии, т. 25, № 1.
- Лукьяненко В. И. и Михеева Г. А. 1963. Содержание пропердина у рыб.— Докл. АН СССР, т. 148, № 2.
- Машков А. В. и Михайлова З. М. 1962. К вопросу о методике определения пропердина в человеческой сыворотке зимозанным способом.— Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., № 5.