

Б. П. ТОКИН и А. Г. ФИЛАТОВА

О БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВАХ ЯИЦ КРОЛИКА

(Представлено академиком К. М. Быковым 15 IV 1953)

Разрабатывая проблему иммунитета зародышей в нашей лаборатории⁽²⁻⁶⁾, удалось обнаружить новые факты о протистоцидных и бактерицидных свойствах «белка» куриного яйца⁽¹⁾, обнаружить неизвестные ранее свойства жидкости полости бластодермического пузырька (зародыш кролика), бактерицидные свойства амниотической и аллантоисной жидкостей у млекопитающих. Ранее мы сообщали, что нам удалось убедиться в бактерицидных свойствах яиц кролика на разных стадиях развития до их имплантации в стенку матки. Однако ввиду большой принципиальной важности обнаруженных фактов для эмбриологии и иммунологии и ввиду того, что техника первых разведывательных опытов, как нам казалось, была несовершенной, мы снова возвратились к этому вопросу*.

Техника экспериментов

Исследования проводились на яйцевых клетках кролика (породы шиншилла). Операции вымывания яиц из яйцеводов подробно описаны в указанной работе. Остановимся на основных моментах использованной нами микробиологической техники. На покрывное стекло наносится капля физиологического раствора. В каплю эмульгируется испытуемый вид микроба (вносится петля 18-часовой бульонной культуры). В такую каплю помещается одна или несколько только что вымытых из яйцеводов яйцевых клеток. Края покрывного стекла смазываются вазелином, стекло с висячей каплей кладется на солонку. Солонка ставится в термостат при оптимальной для соответствующих бактерий температуре. Проводятся систематические наблюдения под микроскопом. В других опытах через различные промежутки времени (через 2—3—5—18 час.) делаются высевы на плотную среду. Всего нами поставлено 184 опыта. Общий результат: на всех исследованных стадиях развития зародыши обладают бактерицидными свойствами в отношении ряда бактерий.

Особенно важно отметить, что все 70 опытов с *Micrococcus lysodeicticus* дали отчетливый положительный результат. Напомним, что этот микрококк неоднократно использовался в опытах по изучению бактерицидных свойств «лизоцима», получаемого из яиц, и по изучению бактерицидных свойств «живых» оболочек яиц (особенно «белка» куриного яйца).

Использованные в наших опытах бактерии, как известно, обладают весьма различными биохимическими и иными свойствами. Если резуль-

* В нашей работе непосредственное участие принимали микробиологи В. Г. Граменицкая и Е. М. Данини. Приносим им нашу искреннюю благодарность.

таты этих опытов сопоставить с данными наших других исследований (4) о бактерицидных свойствах яиц кролика, то нельзя не удивляться значительному диапазону бактерицидного действия яиц. Однако среди использованных бактерий оказалась форма, весьма устойчивая к действию яиц, — золотистый стафилококк, для которого мы во всех 16 опытах получили отрицательный результат. Основные результаты наших опытов сведены в табл. 1.

Таблица 1

Сводные результаты опытов по изучению бактерицидных свойств яиц кролика (методом висячей капли)

| Сколько опытов (число яиц) | С какими бактериями ставились опыты | Число случаев с положитель. резульг. | Результаты | Число случаев с отрицат. резульг. |
|----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|------------|-----------------------------------|
|----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|------------|-----------------------------------|

Яйца, не приступившие к дроблению; 2 и 4 бластомера (яйца вымыты через сутки после покрытия)

| | | | | |
|----|----------------------------------|----|--|---|
| 11 | <i>Micrococcus lysodeicticus</i> | 11 | Через 18 час. в контрольной капле сплошная масса клеток; в опытной единичные клетки или разреженный рост. В некоторых случаях эти различия видны невооруженным глазом | 0 |
| 13 | <i>Bact. megatherium</i> | 13 | Через 18 час. в контрольной капле сплошная масса клеток; в опытной единичные клетки или разреженный рост; большинство клеток неподвижные, нередко гигантские; отмечено спорообразование; обнаружен в первые часы положит. хемотаксис | 0 |
| 3 | <i>Bact. prodigiosum</i> | 1 | Отрицат. хемотаксис; меньшее число клеток, чем в контрольной капле | 2 |
| 2 | <i>Bact. speciens</i> | 2 | Около яиц незначительное количество клеток (отрицат. хемотаксис?) | 0 |
| 2 | <i>Bact. dys. Flexner</i> | 0 | — | 2 |

Стадия 8—16 бластомеров (яйца вымыты через 2 суток после покрытия)

| | | | | |
|----|----------------------------------|----|---|----|
| 23 | <i>Micrococcus lysodeicticus</i> | 21 | Меньшее число клеток в опытной капле по сравнению с контрольной | 2 |
| 6 | <i>Bact. megatherium</i> | 6 | Не размножаются; подвижных форм нет; спорообразование | 0 |
| 8 | <i>Bact. prodigiosum</i> | 8 | Меньшее число клеток в опытной капле по сравнению с контрольной | 0 |
| 16 | <i>St. aureus</i> | 0 | — | 16 |
| 14 | <i>Bact. dys. Shiga</i> | 4 | Меньшее число клеток в опытной капле, чем в контрольной | 10 |
| 15 | <i>Bact. dys. Flexner</i> | 15 | То же | 0 |
| 2 | <i>Bact. speciens</i> | 2 | То же | 0 |

Таблица 1 (продолжение)

| Сколько опытов (число яиц) | С какими бактериями ставились опыты | Число случаев с положит. резульг. | Результаты | Число случаев с отрицат. резульг. |
|---|-------------------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| Стадия от 16 до 60 бластомеров (яйца вымыты через 3 суток после покрытия) | | | | |
| 37 | <i>Micrococcus lysodeicticus</i> | 37 | Бактерии, находящиеся на оолемме, деформированы; около некоторых яиц зона разреженного роста; в некоторых случаях во всей опытной капле разреженный рост | 0 |
| 20 | <i>Bact. megatherium</i> | 17 | В опытной капле микробных тел меньше, чем в контроле; вокруг яиц зона, свободная от бактерий; спорообразование | 3 |
| 4 | <i>Bact. speciens</i> | 4 | В контрольной капле равномерный рост; в опытной разреженный рост; вокруг яиц неподвижные бактерии; зона, свободная от бактерий; отрицат. хемотаксис | 0 |
| 4 | <i>St. aureus</i> | 0 | — | 4 |
| 2 | <i>Bact. dys. Shiga</i> | 2 | Разреженный рост в опытной капле | 0 |
| 4 | <i>Bact. dys. Flexner</i> | 4 | То же | 0 |
| 6 | <i>Bact. typhi abdomin.</i> | 0 | — | 6 |
| 2 | <i>Bact. prodigiosum</i> | 2 | Угнетение роста | 0 |

Остановимся несколько подробнее на результатах опытов с *Micrococcus lysodeicticus*. Приведем пример. 9 яйцеклеток были отмыты из яйцеводов через 3 суток после покрытия самки. Яйца оказались на стадии 32—60 и более бластомеров. Через 2,5 суток в опытах с всячей каплей, в которой находились *M. lysodeicticus*, контрольная и опытная капля одинакового размера (4 мм в диаметре). Контрольная капля мутная, опытная кажется прозрачной. Под микроскопом (окуляр 15, объектив 10) в поле зрения контрольной капли — несчитываемое число микробных тел. В опытной капле во всех участках сосчитываемое количество клеток. На большей площади в поле зрения лишь единичные клетки. Яйца несколько деформированы. Контур оолеммы не видны. На расстоянии, приблизительно в 3 раза больше размера оолеммы, — стерильная зона.

Механизма бактерицидного действия выяснить не удалось. Из того факта, что оолемма (в случае опытов с *M. lysodeicticus*) явно изменяется, казалось, можно было бы сделать предположение о бактерицидных свойствах самой оолеммы. Однако в случае действия на другие бактерии бактерицидный эффект может проявляться при прекрасно сохраняющихся контурах яйца. Трудно объяснить часто наблюдаемую картину резкого подавления роста тех или иных бактерий во всей капле. Необходимо предположить, что из яйца (оолеммы?) выделяются какие-то, могущие диффундировать «антибиотические» субстанции. В опытах с *M. lysodeicticus* самым изумительным является нередко огромный радиус антибактериального действия. В пользу продукции яйцом каких-то антибиотических субстанций говорят очень интересные факты хемотаксиса.

Как видно из данных табл. 1, отрицательный хемотаксис отмечен для *Vac. spaciens*. На рис. 1 даны фотографии состояния бактериальной культуры *M. lysodeicticus* в контрольной капле (а) и состоянии зародышей и бактериальной культуры в опытной капле (б, в, г). Невозможно сомневаться в сильном антибактериальном действии яиц.

Несколько менее выражено торможение роста бактерий на рис. 2, в случае *Vac. megatherium*. Однако и в этом случае для сомнений нет оснований.

Кроме описанных опытов, мы через определенные промежутки времени после погружения яиц кролика в висячую каплю с бактериями высевали бактерии на твердые питательные среды и сравнивали с аналогичными посевами из контрольных капель. Далеко не всегда нам удавалось выявить таким образом бактерицидный эффект. Однако нередко результаты были очень демонстративны. Так, в одном из опытов с яйцеклетками, находившимися на стадии 8 и 16 бластомеров, помещенными в эмульсию *V. dys. Flexner*, при высеве через час и последующем термостатном содержании оказалось 87 колоний, а при высеве из контрольной капли 402. В другом опыте с дизентерийной палочкой Флекснер при высеве из опытной капли выросло 40 колоний, а при высеве из контрольной 572.

Таким образом, как ни несовершенны использованные в нашей работе микробиологические методики, бесспорно доказаны антибактериальные свойства яиц кролика.

Очень может быть, что антибактериальные свойства (лизирующие) неоплодотворенной яйцеклетки имеют отношение к процессу оплодотворения, к взаимоотношениям яйца и спермия. Возможно, что энергичные бактерицидные (особенно лизирующие) свойства яиц млекопитающих имеют большое значение для механизма имплантации яйца в стенку матки.

Вопросы эти изучаются в настоящее время в нашей лаборатории.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова и
Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
10 IV 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. П. Короткова, Л. С. Приезжева, Вестн. ЛГУ, № 7 (1952).
- ² Б. П. Токин, Вопросы иммунитета эмбрионов, Тез. докл. на конференции ЛГУ, 1950. ³ Б. П. Токин, Усп. совр. биол., № 4 (1952). ⁴ Б. П. Токин, А. Г. Филатова, ДАН, 90, № 5 (1953). ⁵ Б. П. Токин, А. Г. Филатова, ДАН, 90, 6 (1953). ⁶ Б. П. Токин, А. Г. Филатова, ДАН, 91, № 3 (1953).

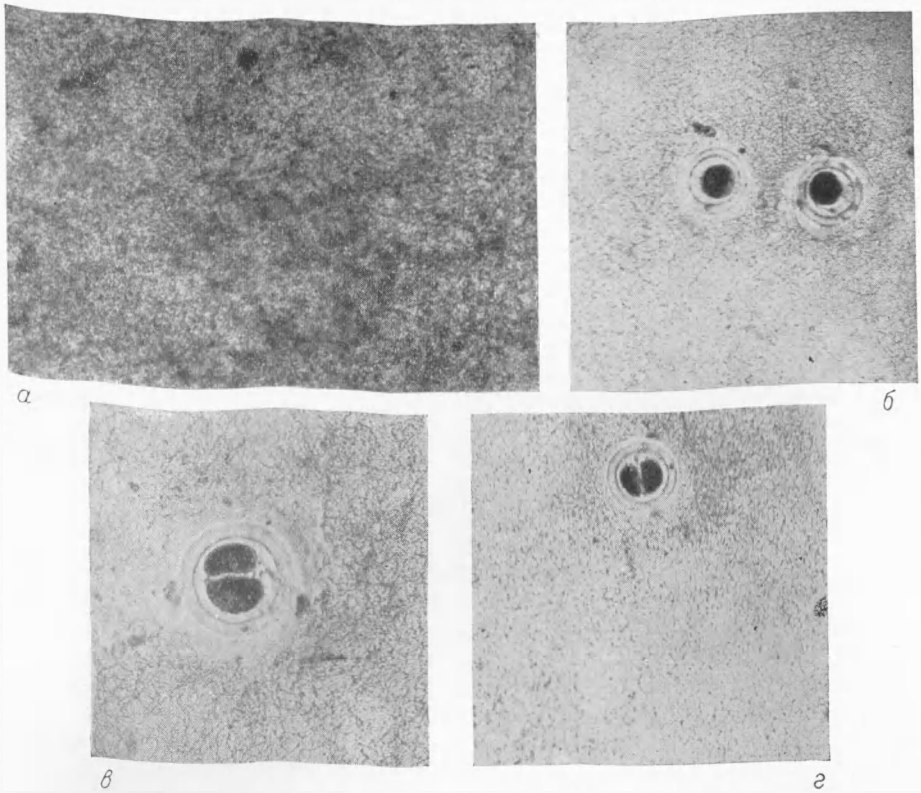


Рис. 1. Подавление размножения *Microc. lysodeicticus* яйцевыми клетками кролика.
a — контроль; *б, в, г* — опытные висячие капли

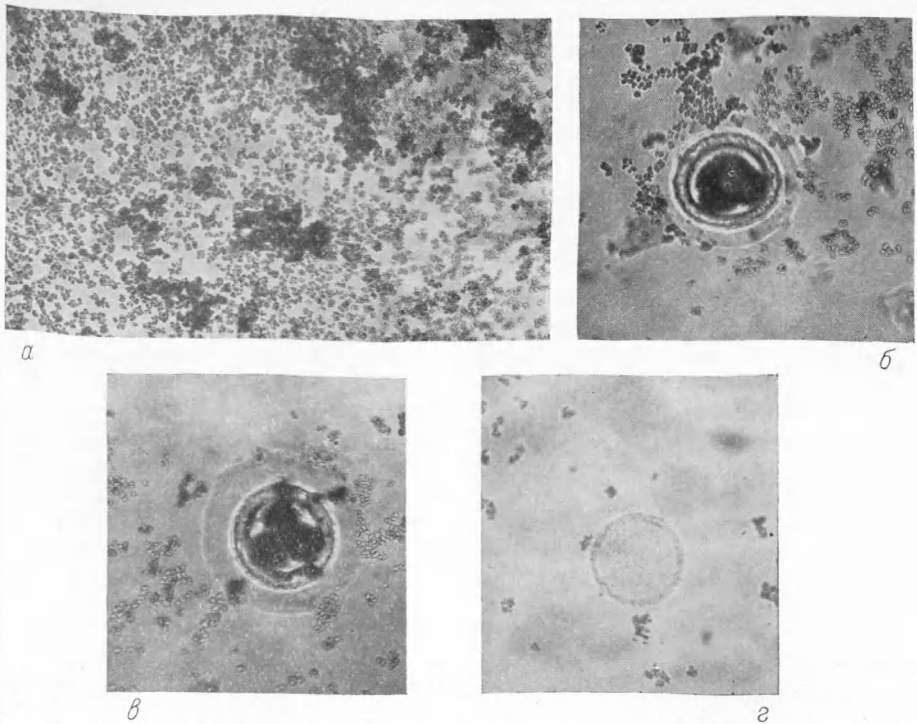


Рис. 2. Подавление размножения *Bac. megatherium* яйцевыми клетками кролика.
a — контроль; *б, в, г* — опытные висячие капли