

В.А.Захарян

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ

Показано нарушение фосфорного обмена при фасциолезе, изменение уровня молочной кислоты и нарушение окислительного фосфорилирования при гидатигенном цистицеркозе и фасциолезе, а также количественное изменение фракций фосфолипидов при аскаридозе птиц. Показана зависимость этих изменений от периода инвазионного процесса.

Эффективность борьбы с гельминтозами во многом зависит от понимания сущности патологических процессов, развивающихся в организме хозяина под воздействием гельминтов.

Согласно мнению Давтяна(4), при всех гельминтозах вслед за специфическим действием возбудителей с различной их биологией и физиологией следуют неспецифические реакции, приводящие во многих случаях к однотипным функциональным нарушениям в организме хозяина.

Поэтому всестороннее изучение нарушений обменных процессов, происходящих при различных гельминтозах сельскохозяйственных животных, будет способствовать выяснению тех интимных механизмов, которые участвуют в формировании патологических процессов.

1. Нарушение фосфорного обмена при фасциолезе

Фосфорному обмену принадлежит большая роль в клеточном метаболизме и, в частности, в процессах энергетического обмена, которые определяются количественными сдвигами неорганического фосфата, АТФ, фосфопротеинов, фосфолипидов и других соединений. По словам Энгельгардта (12), "движущей силой, непосредственно обуславливающей биологическую деятельность клетки, служит энергия, заключенная в соединениях фосфорной кислоты".

Представляло интерес исследование изменений фракций фосфата при одном из распространенных гельминтозов, а именно фасциолезе. Согласно немногочисленным литературным данным, фосфор (в основном исследовали неорганический фосфат) при гельминтозах изменяется незначительно (17), а согласно некоторым авторам (2,3), находится в пределах норм.

Обмен фосфатов изучали в крови, печени и мышцах овец, зараженных гигантской фасциолой (доза - 250 адолескарий). Определения фосфата проводили по методу Туракулова с соавт. (II).

В табл. I представлены данные об изменении общего фосфата в крови.

Таблица I

Содержание общего фосфата в крови овец при фасциозе, мг %

	Контрольная группа	Опытная группа			
		дни после заражения			
		15	30	45	60
Кол-во опытов	4	4	4	4	4
$M \pm m$	$15,2 \pm 0,44$	$18,5 \pm 0,78$	$9,8 \pm 0,61$	$19,0 \pm 0,56$	$16,4 \pm 0,65$
P.		$< 0,02$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,2$

Как следует из табл. I, отмечается довольно заметное снижение общего фосфата крови к 30-му дню заражения; в последующем количество его несколько возрастает, а к 60-му дню приближается почти к исходным величинам.

Снижение общего фосфата к 30-му дню заражения, что соответствует острому периоду инвазионного процесса, возможно, связано с усилением выведения его в виде солей из организма; возможно также, что принятый с пищей фосфат не усваивается.

Общий фосфат крови и тканей складывается из фракций кислотонерастворимой (фосфат белков, нуклеиновых кислот, липоидов) и кислоторастворимой (неорганический фосфат, фосфат адениловой системы, креатинфосфат и фосфогексозы). Основную часть кислоторастворимой фракции составляет неорганический фосфат.

Чтобы ответить на вопрос, за счет какой фракции происходит снижение содержания общего фосфата в крови, мы определяли также кислоторастворимую фракцию и разность между общим фосфатом и этой фракцией, т.е. кислотонерастворимую фракцию.

Как видно из табл. 2, к 30-му дню после заражения наблюдается резкое понижение кислотонерастворимой фракции (контроль - 6,2; опыт - 1,9 мг %). Это снижение, на наш взгляд, связано с нарушением синтеза фосфорсодержащих белков.

Изменение кислоторастворимой фракции незначительно. Кислоторастворимая фракция в основном представлена неорганическим фосфатом, органическая часть ее составляет незначительную величину и в основном состоит из фосфора АТФ.

Таблица 2

Содержание общего фосфата и его фракций в крови овец, зараженных фасциозом, мг%

Дни после заражения	Кол-во овец	Ф о с ф о р		
		общий	кислоторастворимый	кислоторастворимый
Контроль	4	15,2±0,44	3,2±1,25	9,0±1,0
15	5	18,5±0,78 p<0,02	8,0±1,14 p<0,5	10,5±0,7 p<0,5
30	5	9,8±0,61 p<0,001	1,9±0,61 p<0,02	7,9±0,2 p<0,5
50	5	10,0±0,56 p<0,001	9,1±0,69 p<0,1	9,9±0,3 p<0,5
60	5	16,4±0,65 p<0,2	7,0±0,70 p<0,5	9,4±0,2 p<0,5

Данные о количественных изменениях неорганической и органической частей кислоторастворимой фракции представлены в табл.3

Таблица 3

Содержание неорганической и органической частей кислоторастворимой фракции фосфата в крови овец, зараженных 250 адолескарями гигантской фасциолы, мг%

Дни после заражения	Кол-во овец	Ф о с ф о р	
		неорганический	органический
Контроль	4	5,8±0,17	3,2±1,0
15	5	7,6±0,41 (p<0,01)	2,9±0,58 (p<0,5)
30	5	7,4±0,21 (p<0,001)	0,5±0,09 (p<0,05)
50	5	7,5±0,23 (p<0,001)	2,4±0,37 (p<0,5)
60	5	7,2±0,21 (p<0,01)	2,2±0,54 (p<0,5)

Как показывают данные табл.3, при заражении овец 250 адолескарями отмечается повышение неорганического фосфора, и на всем протяжении инвазии его значения остаются высокими. Так, в контроле количество неорганического фосфата составляет 5,8 мг%, к 10-му дню - 7,6, к 30-му - 7,4, к 50-му - 7,5 и к 60-му - 7,2 мг%.

Понижение кислоторастворимой фракции фосфата происходит за счет органической части; оно особенно выражено на 30-й день после заражения. Так, если у контрольной группы фосфор органической части кислоторастворимой фракции составляет 3,2 мг%, то к 30-му дню после заражения его содержание понижается до 0,5 мг%.

Понижение органической части кислоторастворимой фракции фосфата, по-видимому, связано с нарушением синтеза макроэргических

соединений (главным образом АТФ) в дыхательной цепи. Незначительное же повышение неорганической части в крови овец можно связать с распадом фосфорсодержащих соединений и их пониженной усвояемостью в период инвазии.

2. Уровень молочной кислоты в крови овец при фасциолезе и гидатигенном цистицеркозе

Энергетически важным процессом в организме является путь анаэробного распада глюкозы (или гликогена), заканчивающийся образованием молочной кислоты.

Об интенсивности гликолиза мы судили по уровню молочной кислоты крови. Определение уровня молочной кислоты в крови проводили по методу Баркера и Саммерсона (13).

В табл. 4 приведены данные о содержании лактата. Уже с 10-го дня после заражения наблюдается постепенное повышение уровня молочной кислоты в крови овец, инвазированных 250-ю адолескариями, достигающего максимальной величины на 35-й день инвазии.

Таблица 4

Изменение содержания молочной кислоты в крови овец, зараженных фасциолезом, мг%

Группы	Кол-во овец	До заражения	Дни после заражения				
			10	20	35	45	70
Контрольная	3	16,4±0,5	16,8±2,5	18,8±3,0	17,9±2,5	14,5±0,1	---
Зараженная 250 адолескариями	4	16,9±0,7	18,1±1,0 P<0,5	17,2±0,8 P<0,5	30,7±5,3 P<0,5	18,1±3,8 P<0,5	18,2±1,0 P<0,5
Зараженная 65 адолескариями	4	17,0±1,5	16,1±1,5 P<0,5	22,3±0,5 P<0,02	13,9±1,5 P<0,5	20,0±1,0 P<0,1	15,3±1,0 P<0,5

У овец, зараженных 65-ю адолескариями, статистически достоверное повышение уровня молочной кислоты наблюдается на 20-й день.

Исследования уровня молочной кислоты в крови овец, зараженных гидатигенным цистицеркозом, проводили только в острый период инвазионного процесса (табл. 5).

Как следует из данных табл. 4., на 30-й день после заражения количество молочной кислоты крови повышается почти в 3 раза.

Увеличение уровня молочной кислоты в острый период инвазионного процесса как при фасциолезе, так и при гидатигенном цистицеркозе, по нашему мнению, указывает на то, что на этой стадии заражения наблюдается усиление гликолиза.

Таблица 5

Уровень молочной кислоты у овец, зараженных
цистицеркозом, мг%

Группы овец	Кол-во овец	Дни после заражения		
		10	15	30
Контроль- ная	2	13,6±1,9	13,1±0,6	13,8±0,7
Заражен- ная	9	---	15,6±2,7 P < 0,5	34,3±3,7 P < 0,01

Следует отметить, что, согласно ранее опубликованным данным (II), в данный момент наблюдается и подавление тканевого дыхания скелетной мускулатуры, печени и щитовидной железы при различных гельминтозах. Согласно этому можно заключить, что в острый период инвазионного процесса наблюдается компенсаторное усиление гликолиза.

3. Влияние гедатигенного цистицеркоза на окислительное фосфорилирование

Интенсивность окислительного фосфорилирования определяли по величине коэффициента P/O (отношение эстерифицированного неорганического фосфата к количеству поглощенного кислорода в мкат.).

Из тканей печени и мышц готовили гомогенат и инкубировали в воде, в которую входили следующие компоненты: K_2HPO_4 - 100, $CaCl_2$ - 3,5, $MgSO_4$ - 1,3, $NaHCO_3$ - 27, $NaCl$ - 300, сукцинат Na - 40 мМ. Акцептором фосфата служили глюкоза - 150 мг гексокиназа - 0,3 мг.

Поглощение кислорода определяли манометрическим методом (25), фосфат - по Лоури и Лопез (20).

В табл. 6 приведены значения P/O исследованных тканей.

Как видно из приведенной таблицы, в остром периоде инвазионного процесса коэффициент P/O как печеночной, так и мышечной тканей снижается более чем наполовину. Эти данные указывают на то, что при данной инвазии происходит инактивирование ряда дыхательных ферментов, в результате чего организм теряет основной фонд переработки АТФ.

Таблица 6

Влияние гидатигенного цистицеркоза на Р/О тканей
печени и мышц

Группы овец	Кол-во овец	Т к а н ь	
		Печень	Мышца
Контрольная	2	$1,26 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,06$
Забитая в острый пери- од	5	$0,47 \pm 0,02$ $P < 0,001$	$0,47 \pm 0,03$ $P < 0,001$
Забитая в хро- нический пе- риод	4	$0,82 \pm 0,05$ $P < 0,001$	$0,87 \pm 0,05$ $P < 0,001$

4. Обмен фосфолипидов при аскаридиозе кур

В жизнедеятельности животных немаловажную роль играют фосфолипиды. Выявлено их участие в формировании процессов возбуждения и торможения, в проведении нервного импульса, в реакциях ферментативного синтеза (21), в транспорте ионов и аминокислот через мембранные образования (14,16). Исключительно важная роль в формировании клеточных мембран принадлежит фосфолипидам (23).

Согласно литературным данным, важную роль фосфолипиды играют в энергетическом обмене. Еще в 50-х годах Джерард и Штрейхер (15, 24) высказывали мысль, что инозитиды и фосфатидная кислота, как метаболически активные липиды, служат переносчиками фосфата от АТФ на другие, обновляющиеся медленнее фосфолипиды. Грин и Флейшер (16) указывают, что процесс окислительного фосфорилирования в митохондриях протекает в безводном липидном матриксе и объясняют необходимость фосфолипидов для потока электронов с точки зрения создания среды с низкой диэлектрической константой. Митохондрии, освобожденные от фосфолипидов, но сохранившие свою тонкую структуру, теряют способность осуществлять перенос электронов, но способность эта восстанавливается от добавления смеси липидов (19). Не исключено прямое участие фосфолипидов в энергетическом сопряжении как коферментов или специфических кофакторов (9).

Учитывая вышеизложенные литературные данные о роли фосфолипидов и результаты наших исследований, мы решили проследить за изменением фосфолипидных фракций в крови птиц, зараженных одним из распространенных гельминтозов — аскаридиозом.

Определение фосфолипидов проводили по методике, предложенной Маринетти и Стотцем (22) и затем модифицированной Смирновым с соавт. (10) и Карагезяном (8).

Опыты проводились на 24-х цыплятах трехмесячного возраста. Все цыплята содержались в одинаковых условиях. Цыплят заражали путем аскарирования им по 2500 яиц *Ascaridia galli*, которые выделяли из гонад половозрелых самок аскаридий. Яйца культивировали в 0,5% растворе соляной кислоты при температуре 24°C в течение 36 дней.

Как следует из табл. 7, при аскаридозе кур наблюдается уменьшение как общего количества фосфолипидов крови, так и всех фракций, за исключением лизолецитинов, количество которых резко увеличивается. По всей видимости, при аскаридозе кур происходит увеличение лизоформ фосфолипидов за счет отрыва жирной кислоты, которая в дальнейшем может пойти на процесс липидной перекисидации, что играет важную роль в проницаемости клеточных мембран.

Таблица 7

Количественное изменение фосфолипидов при аскаридозе кур

Фосфолипиды	Количество фосфолипидов, мкг/мл	
	Контрольная группа	Зараженная группа
Суммарные фосфолипиды	64,90 ± 1,18	56,03 ± 1,41 P < 0,01
Неидентифицированный фосфолипид	1,71 ± 0,12	1,37 ± 0,20 P < 0,02
Лизолецитины	5,73 ± 0,26	8,40 ± 0,28 P < 0,001
Монофосфоинозит-фосфатиды	2,75 ± 0,19	1,93 ± 0,20 P < 0,05
Сфингомиэлины	12,79 ± 0,24	11,49 ± 0,49 P < 0,05
Фосфатидилхолин	29,10 ± 0,53	21,03 ± 0,43 P < 0,001
Серинфосфатиды	5,86 ± 0,44	5,78 ± 0,33 P < 0,5
Фосфатидилэтаноламин-фосфатиды	6,97 ± 0,18	6,02 ± 0,32 P < 0,05

Лизоформы фосфолипидов, согласно литературным данным (18), являются разобщителями окислительного фосфорилирования. Это еще раз подтверждает наше высказывание о том, что при гельминтозах наблюдается разобщение окислительного фосфорилирования.

Уменьшение общего количества фосфолипидов в крови кур, зараженных аскаридозом, связано, по всей видимости, с уменьшением активности ферментных систем, ответственных за биосинтез липидов.

Результаты данных исследований совместно с ранее опубликованными (1,5,7) позволяют заключить, что одним из важнейших последствий токсических и аллергических реакций при гельминтозах является нарушение окислительных процессов, в частности, окислительного фосфорилирования. Данный процесс происходит в клеточных органеллах – митохондриях. Возможно, что в этих структурах имеет место нарушение проницаемости, ионного транспорта, конформации белковых молекул и изменение активности митохондриальных ферментов, ответственных за синтез макроэргических соединений.

В ы в о д ы

1. При исследованных гельминтозах наблюдается нарушение энергетического баланса клеток исследованных тканей, выражающееся в разобщении дыхания с фосфорилированием.

2. Гельминтозы вызывают нарушение фосфорного обмена, заключающееся в падении усвояемости фосфора организмом, уменьшении синтеза макроэргических соединений.

3. Указанные гельминтозы в острый период инвазионного процесса вызывают компенсаторное усиление гликолиза, в результате чего повышается уровень молочной кислоты крови.

4. При аскаридозе кур наблюдается заметное уменьшение количества фосфолипидов крови как общих, так и отдельных фракций, за исключением лизолецитинов, количество которых в значительной степени увеличивается.

5. Отмеченные нами сдвиги находятся в определенной зависимости от фаз инвазионного процесса (острая или хроническая) и доз инвазионного материала.

Վ. Ա. ԶԱՄԱՐՑԱՆ

ԲԻՈԶԻՄԻԱՎԱՆ ՈՐՈՇ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՓՈՓՈԽՈՒ-
ԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՀԵԼՄԻՆՏՈՋՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ ֆ ո փ ու մ

Պարզված է, որ տարբեր հելմինթոզների դեպքում նկատվում է բժիշների, չյուսվածքների, լյարդի և մկանների էներգետիկ բալանսի խանգարում: Նըկատվում է նաև ֆոսֆորի փոխանակման խանգարում – պակասում է օրգանիզմի կողմից ֆոսֆորի յուրացումը և մակրոէրգիկ միացությունների սինթեզը: Սրա հետ միասին նկատվում է արյան մեջ կաթնաթթվի քանակի բարձրացում, որը ցույց է տալիս գլիկոլիզի կոմպենսատոր ուժեղացումը:

Հավերի ավարիդիոզի դեպքում արյան մեջ պակասում է ինչպես ընդհանուր ֆոսֆոլիպիդների, այնպես էլ նրա առանձին ֆրակցիաների քանակը, բացի լիզոլեցիտինից, որի քանակը բավականին բարձրանում է:

Նշված բոլոր փոփոխությունները որոշակի կախման մեջ են գտնվում ինվազիոն պրոցեսի ընթացքից /սուր ընթացքի ժամանակ զգալիորեն իջնում է/ և ինվազիոն նյութի դոզայից:

SUMMARY

The disturbance of phosphorus metabolism during fasciolosis, the change of lactic acid level and disturbance of the oxidative phosphorylation in hydatigenic cysticercosis and fasciolosis, as well as quantitative changes of phospholipid fractions in bird ascaridiosis was shown in the paper. The dependence of this changes on the period of invasion process was also shown.

Л и т е р а т у р а

1. Гевондян С.А., Захарян В.А. 1968. Тр.Ер.ЗВИ, вып. 29, 193-200.
2. Григорян Г.А. 1959 г.В сб.: "Работы по гельминтологии", вып. I, М., М-во с.-х. СССР, 43-45.
3. Григорян Г.А. 1961. Бюлл. науч.-техн. инф. Арм. НИИЖВ, № 6, 64-67.
4. Давтян Э.А. 1962. Тез. докл. Респ. науч. произв. конф. по гельминтологии. Джембул, 22-26.
5. Захарян В.А. 1967. Биол. журн. Арм., АН АрмССР, т. XX, № I, 86-90.
6. Захарян В.А. 1969. Биол. журн. Арм., АН АрмССР, т. XXII, № 8, 52-57.
7. Захарян В.А. 1971. Мат. 4 Респ. науч. конф. молодых науч. работников, Ереван, 459-461.
8. Карагезян К.Г. 1969. Лаб. дело, I.
9. Микельсаар Х. и др. 1974. Успехи совр. биол., т. 78, вып. 3(6), 348.
10. Смирнов А.А. и др. 1961. Биохимия, 26, 1027.
11. Туракулов Я.Х., Кургульцева Л.И., Гагел-ганц А.И. 1967. "Биохимия", 32, № I, 106-110.
12. Энгельгардт В.А. 1945. Изв. АН СССР, сер. биол., 182, 196.
13. Barker S., Summerson N. 1941. J. Biol. Chem., 138, 535.
14. Ellis R.B., Hawthorne J.N. 1962. Biochem. J., 84, 19.
15. Geyard R.W., Streicher E. 1954. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 85, 174.
16. Green D., Fleischer S. 1963. Biochim. Biophys. Acta, 70, 554.
17. Ibrovic M., Gall-Palla. 1959. Veter. Sborn., 3, 531.
18. Ленинджер А. 1966. "Митохондрия", М.
19. Lester R.L., Fleischer S. 1961. Biochim. Biophys. Acta, 47, 358, 2.

20. Louri O.N., Lopez J.A. 1946. J. Biol. Chem., 162, 421.
21. Marinetti G.V. et al. 1950. Biol. Chem., 233, 740.
22. Marinetti G.V., Stotz E. 1960. Biochim. Biophys. Acta, 21, 168.
23. Робертсон Дж. 1964. В кн.: "Структура и функция клетки", изд. "Мир", 172.
24. Streicher E. 1952. Feder. Proc., 12, 139.
25. Умбрейт В.В., Буррис Р.Х., Штауффер Дж.Ф. 1951. Манометрические методы изучения тканевого обмена, М.