

В. С. ГЕВОНДЯН

К ВОПРОСУ ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ КОЛИЧЕСТВА
ОБЩИХ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ
У КРОЛИКОВ, ЗАРАЖЕННЫХ ФАСЦИОЛЕЗОМ*

Высокая реакционная способность сульфгидрильных групп белков и тиоловых соединений связана с многообразием химических реакций, в которые они вступают (ацилирование, алкилирование, фосфорилирование, окисление, образование меркаптидов, полумеркапталаей, водородных связей). Эти свойства SH-групп обуславливают их исключительное значение в физиологических и биохимических процессах.

Сульфгидрильные группы принимают активное участие в создании и поддержании сложной трехмерной структуры белков и ферментов вследствие того, что легко образуют различные внутримолекулярные связи: ковалентные, солеобразные, водородные и т. д.

Общеизвестно, что связывание сульфгидрильных групп инактивирует многие ферменты [2, 8 и др.], а последующее освобождение этих групп, путем воздействия, например, глутатиона, цистеина восстанавливает активность ферментов [7, 1].

В этом свете представляет интерес работа Т. А. Сперанской [10], которая занималась изучением терапевтического действия тиоловых соединений при инфекционном процессе. По данным автора, вещества, содержащие свободные SH-группы, обладают отчетливым лечебным действием при остром экспериментальном инфекционном процессе, что указывает на изменение тиоловых групп белков при инфекции. Об изменении количества сульфгидрильных групп в белках сыворотки крови при целом ряде патологических состояний указывает в своей работе Шoenбах [12].

Имеется большое число работ, указывающих на глубокие структурные изменения тканевых белков при сильных и длительных раздражениях; последние сопровождаются увеличением SH-групп белков [3].

Увеличение количества сульфгидрильных групп в белках внутренних органов наблюдается также при дистрофических явлениях нейрогенного происхождения [5]. Несмотря на то, что состояние SH-групп исследовано при многих заболеваниях, однако, в доступной нам литературе мы не нашли указаний о содержании сульфгидрильных групп белков при гельминтозах вообще и при фасциолезе в частности.

В данной работе нами была сделана попытка изучить количественные изменения SH-групп в гомогенатах мышц и внутренних органов, а

* Сообщение 1.

также в чистых сократительных белках мышц (миозин, актомиозин), при экспериментальном фасциолезе кроликов в динамике развития болезни.

Исследования проводились в секторе паразитологии Зоологического института (зав. сектором чл.-корр. АН Армянской ССР Э. А. Давтян) и в Институте физиологии АН Армянской ССР (в лаборатории, руководимой канд. биол. наук С. С. Оганесяном).

М е т о д и к а

Подопытными животными в наших исследованиях служили 12 кроликов в возрасте 4 мес., весом 2,5—3 кг.

Заражение производилось адолескариями, развившимися в лабораторных условиях, путем скармливания по 50 адолескариев на каждое животное. Кролики забивались натошак, в различные периоды заболевания, от 17 до 156 дней после заражения.

Исследовались печень, почки и мышцы. Для определения общего количества SH-групп готовился гомогенат тканей; 100 мг навески в условиях холодной камеры гомогенизировались с 30 мл физиологического раствора. Количество сульфгидрильных групп определялось с применением метода амперометрического титрования с помощью $\text{HgCl}_2 \cdot 10^{-3}\text{N}$ по Кольгофу и Гаррису [10]. Кроме того, определялось общее количество SH-групп в сократительных белках мышц. Миозин и актомиозин выделялись из бедренных мышц кролика по общепринятому методу Бейли. Выделение производилось в холодной камере при температуре $+1^\circ$. Мышца растиралась с незначительным количеством кварцевого песка в карбонатном растворе (0,5 М KCl , 0,03 М NaHCO_3) в отношении 1 : 3. Затем, через 10 мин., полученный экстракт центрифугировался.

Далее, для очистки белка трижды производилось его переосаждение. Количество белка определялось по микро-Кельдалю (сульфгидрильные группы в молях, рассчитывалось на 100 мг белка). В качестве контрольных животных служили 6 совершенно здоровых кроликов.

Результаты исследования

При изучении общего количества сульфгидрильных групп в гомогенатах печени, почек и мышц (в молях на 100 мг навески) у контрольных кроликов нами было установлено, что наибольшее количество их приходится на печень ($1,47 \cdot 10^{-6}$ М), далее следуют почки ($8,3 \cdot 10^{-7}$ М) и мышцы ($4,4 \cdot 10^{-7}$ М).

Анализируя эти данные, легко можно заметить, что количество SH-групп в печени превышает таковое в почках более чем в 1,5 раза, а в сравнении с мышцами—в 3 раза. Колебания количества SH-групп в тканях у вышеуказанных кроликов в печени составляло $1,47 \pm 0,028 \cdot 10^{-6}$ М, в почках — $8,35 \pm 0,062 \cdot 10^{-7}$ М и в мышцах — $4,39 \pm 0,17 \cdot 10^{-7}$ М.

Данные по определению количества сульфгидрильных групп в очищенных сократительных белках мышц (миозин, актомиозин) приводятся в табл. 2.

Таблица 1

Количество сульфгидрильных групп в гомогенатах тканей печени, почек и мышц у контрольных кроликов (в молях на 100 мг веса ткани)

№ кролика	Печень	Почка	Мышца
1	$1,39 \cdot 10^{-6}$ М	$8,4 \cdot 10^{-7}$ М	$3,94 \cdot 10^{-7}$ М
2	$1,40 \cdot 10^{-6}$ М	$8,2 \cdot 10^{-7}$ М	$4,00 \cdot 10^{-7}$ М
3	$1,52 \cdot 10^{-6}$ М	$8,6 \cdot 10^{-7}$ М	$4,50 \cdot 10^{-7}$ М
4	$1,57 \cdot 10^{-6}$ М	$8,4 \cdot 10^{-7}$ М	$5,00 \cdot 10^{-7}$ М
5	$1,40 \cdot 10^{-6}$ М	$8,3 \cdot 10^{-7}$ М	$4,70 \cdot 10^{-7}$ М
6	$1,48 \cdot 10^{-6}$ М	$8,2 \cdot 10^{-7}$ М	$4,20 \cdot 10^{-7}$ М
Среднее	$1,47 \pm 0,028 \cdot 10^{-6}$ М	$8,35 \pm 0,062 \cdot 10^{-7}$	$4,39 \pm 0,17 \cdot 10^{-7}$ М

Таблица 2

Количество сульфгидрильных групп в очищенных сократительных белках и актомиозина в молях на 100 мг белка у контрольных кроликов

№ кролика	Количество групп в молях на 100 мг белка	
	миозин	актомиозин
1	$2,21 \cdot 10^{-6}$ М	$1,72 \cdot 10^{-6}$ М
2	$2,25 \cdot 10^{-6}$ М	$1,76 \cdot 10^{-6}$ М
Среднее	$2,23 \cdot 10^{-6}$ М	$1,74 \cdot 10^{-6}$ М

Из таблицы следует, что количество SH-групп в миозине выше, нежели в актомиозине. Предельные колебания изучаемых величин у исследуемых (двух) животных существенно не отличались друг от друга.

В таблице 3 отражены количественные изменения сульфгидрильных групп в гомогенатах печени, почек и мышц в различные периоды заболевания. Как видно из данных таблицы, наивысшие сдвиги SH-групп в печени и почках наблюдаются в остром периоде заболевания (в период миграции паразитов до 54—56 дней).

В дальнейшем, с достижением фасциолами половозрелости (хронический период заболевания), число SH-групп идет на убыль, с нормализацией их количества к 75 дню заболевания.

Касаясь вопроса содержания сульфгидрильных групп в изучаемых органах и тканях у зараженных кроликов, следует отметить, что наиболее резкие сдвиги в процентном отношении наблюдались в мышцах (488%). Эти сдвиги были менее выражены в почках—331% и в печени—288%.

Интересно, что в период максимального нарастания SH-групп в мышцах (35—45 дни), в печени и почках наблюдалась ясно выраженная тенденция к их снижению.

Учитывая тот факт, что в гомогенатах печени и мышц около 30—40% приходится на небелковые SH-группы, можно заключить, что нарастание сульфгидрильных групп в гомогенатах, в первую очередь, связа-

Таблица 3

Количественные изменения сульфгидрильных групп в различные периоды заболевания фасциозом в гомогенатах печени, почек и мышц (в молях на 100 мг веса ткани)

№ кролика	День уоя после заражения	Печень		Почка		Мышца	
		в молях на 100 мг	в % по отношению к норме	в молях на 100 мг	в % по отношению к норме	в молях на 100 мг	в % по отношению к норме
30	17	$3,6 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	258	$2,78 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	331	$1,14 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	253
9	31	$3,2 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	228	$2,66 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	317	$1,57 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	350
10	35	$3,9 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	280	$2,20 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	262	$2,20 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	488
11	37	$2,8 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	202	$2,28 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	272	$1,60 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	356
12	49	$2,6 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	185	$2,27 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	270	$1,78 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	395
13	51	$2,06 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	147	$2,06 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	25	$1,79 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	399
14	54	$2,5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	178	$1,60 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	190	$8,10 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	180
15	75	$1,4 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	102	$8,30 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	100	$6,90 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	153
16	84	$1,56 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	112	$8,65 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	106	$5,00 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	111
17	86	$1,49 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	106	$7,80 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	93	$6,25 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	139
18	125	$1,80 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	128	—	—	$4,50 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	100
19	156	$1,40 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	100	$1,20 \cdot 10^{-6} \text{ М}$	143	$1,00 \cdot 10^{-7} \text{ М}$	111

но с белками. Это обстоятельство весьма существенно, так как еще со времен работ Гарриса [9], Мирского [11] известно, что увеличение SH-групп в белках является характерным показателем их денатурационных изменений. Представляло интерес выяснить количественные сдвиги SH-групп непосредственно в чистых белках мышц (миозин, актомиозин) в остром периоде заболевания (45—51—54 дни).

Как видно из приведенных данных, как в миозине, так и в актомиозине на 45—54 дни болезни отмечается увеличение SH-групп на 320 и более процентов. Это заставляет думать о существенных структурных изменениях денатурационного характера, которые претерпевают исследованные нами белки. При сопоставлении данных табл. 3 и 4 можно заметить, что в чистых белках мышц увеличение SH-групп более выражено, чем в гомогенате. Так, на 51 день в гомогенате число SH-групп увеличилось всего на 180% (мышца), между тем как в миозине число SH-групп увеличилось на 320%.

Вышеуказанные денатурационные изменения белков в гомогенатах и чистых белках можно поставить в связь с обширными воспалительными процессами в тканях (перитонит серозно-фибринозного характера, лихорадка, серозный гепатит, холангит, интерстициальный гепатит, интоксикация и кровотечения, выраженный аллергический синдром), сопровождающимися дистрофическими изменениями.

Резюмируя результаты наших опытов, можно заключить, что заражение кроликов *Fasciola hepatica* сопровождается изменением обмена тиоловых соединений в печени, почках и мышцах. Наибольшие сдвиги количества сульфгидрильных групп в гомогенатах вышеуказанных органов имели место в остром периоде заболевания (период миграции

фасциол—52—56 дни), т. е. когда отмечались выраженные клинические проявления в виде серозно-фибринозного перитонита, серозного гепатита, холангита, интерстициального гепатита, аллергического синдрома и т. д.

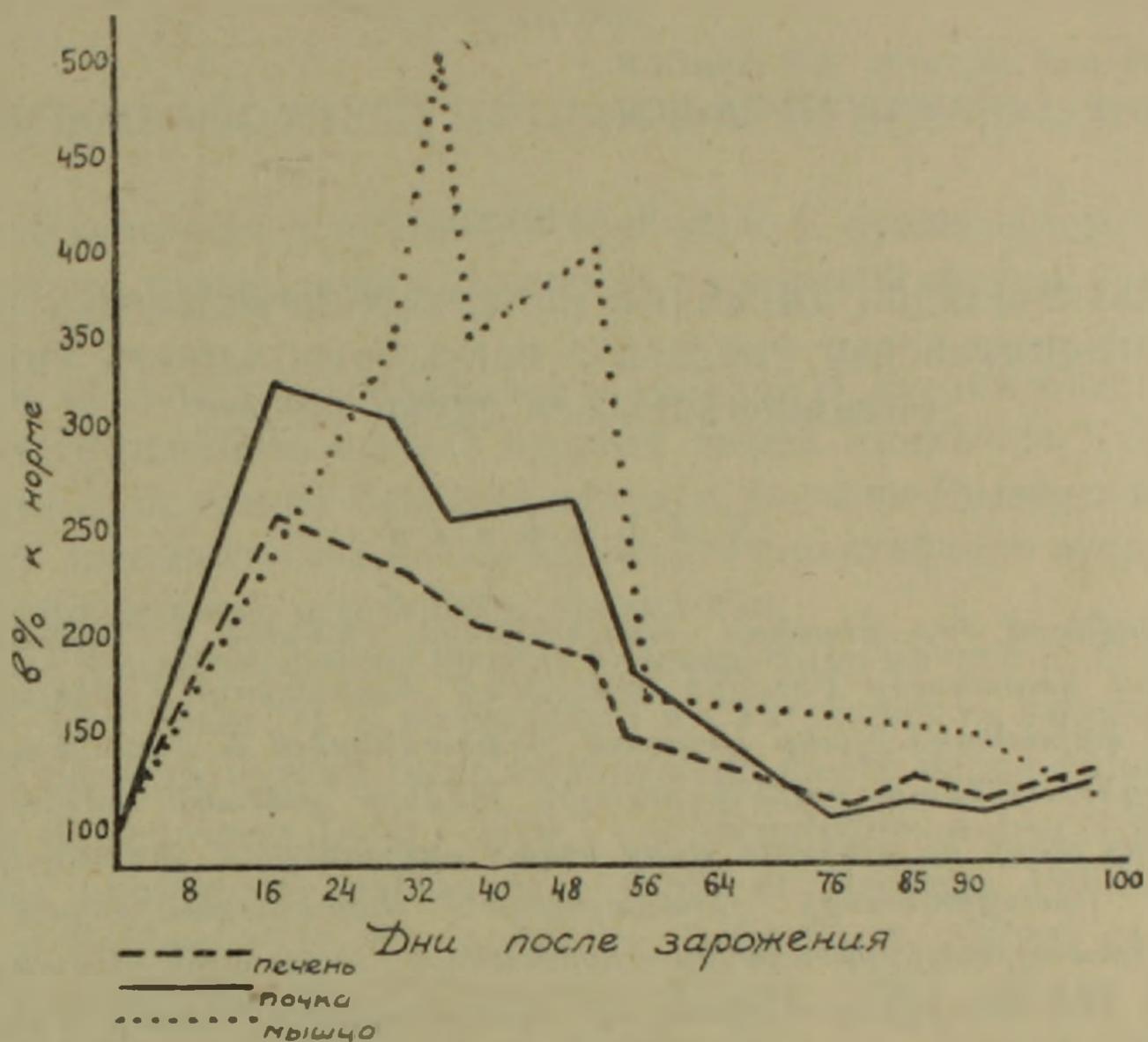


Рис. 1. Динамика количественных изменений сульфгидрильных (SH) групп в гомогенатах печени, почек и мышц у кроликов, зараженных фасциолезом (в % к норме).

Таблица 4

Количество сульфгидрильных групп в миозине и актомиозине у кроликов через 45—51—54 дня после заражения.

№ кролика	День убоя	Миозин		Актомиозин	
		количество в молях на 100 мг белка	в % по отношению к норме	количество в молях на 100 мг белка	в % по отношению к норме
13	51	$3,8 \cdot 10^{-6}$ М	170	$2,6 \cdot 10^{-6}$ М	125
14	54	$7,07 \cdot 10^{-6}$ М	320	$5,38 \cdot 10^{-6}$ М	310
31	45	$11,3 \cdot 10^{-6}$ М	510	$3,84 \cdot 10^{-6}$ М	220

При этом следует подчеркнуть то обстоятельство, что наивысшее увеличение SH-групп в процентном отношении к норме наблюдалось в мышцах (488%), далее следовали почки (331%) и печень (288%).

Исследование чистых белков мышц (миозин, актомиозин) показало, что в остром периоде заболевания (45—51—54 дни) количество SH-групп в последних увеличивалось до 320 и более процентов. Это указывает на структурные изменения белков денатурационного характера. Увеличение SH-групп в гомогенатах и чистых белках можно поставить в связь с

нейродистрофическими процессами, которые сопровождаются глубокими изменениями клеточных белков. В хроническом же периоде заболевания (после 54—56 дней) количество сульфгидрильных групп нормализовалось в печени и в почках к 75 дню, в мышцах—к 125 дню после заражения.

Зоологический институт АН АрмССР
и Институт физиологии АН АрмССР

Поступило 11.IV. 1963 г.

Վ. Ս. ՂԵՎՈՆԴՅԱՆ

ՖԱՍՑԻՈԼՅՈՋՈՎ ՎԱՐԱԿՎԱԾ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ՕՐԳԱՆՆԵՐՈՒՄ ԵՎ
ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ՍՈՒԼՖՀԻԴՐԻԼ ԽՄԲԵՐԻ ՔԱՆԱԿԻ
ՓՈՓՈԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ամփոփելով մեր փորձերի արդյունքները, կարելի է եզրակացնել, որ ճագարների վարակումը *Fasciola hepatica*-ով՝ խանգարում է թիուլային միացումների փոխանակությանը լյարդում, երիկամներում և մկաններում:

Հոմոգենատներում սուլֆհիդրիլային խմբերի քանակի ամենաշատ տեղաշարժերը տեղի են ունենում վերը նշված օրգաններում հիվանդության սուր շրջանում (ֆասցիուլաների շրջագայության ժամանակամիջոցում՝ 52—56 օրում)՝ սերուլային-ֆիրրինոլային պերիտոնիտի, սերուլային հեպատիտի, խուլանգիտի, ինտերստիցիալ հեպատիտի ալերգիական սինդրոմի և այլ կլինիկական ակնհայտ արտահայտությունների դեպքում:

Միաժամանակ անհրաժեշտ է ընդգծել այն հանգամանքը, որ SH-խմբերի ամենաբարձր ավելացումը տոկոսային նորմայի համեմատությամբ նկատվում է մկաններում (488 %), երիկամներում (331 %) և լյարդում (288 %):

Հիվանդության խրոնիկական շրջանում (54—56 օրից հետո) սուլֆհիդրիլային խմբերի քանակը լյարդում և երիկամներում նորմալավորվում է 75-րդ օրում, մկաններում՝ 125-րդ օրում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Барлоу Р. Введение в химическую фармакологию, пер. с англ. Л., 1959.
2. Беленький М. Л. и Розенгарт В. И. Успехи совр. биол. 28, 1949.
3. Насонов Д. Н. Местная реакция протоплазмы на распрост. возбуждение. 1959.
4. Оганесян С. С. и Егиян В. Б. Вопросы высшей нервной деятельности и компенсат. приспособл. Ереван, вып. III, 1961.
5. Оганесян С. С., Заминян Т. С. Тр. V Международной биохимической конференции, Рефераты секционных сообщений, секция 10.
6. Сперанская Т. А. Проб. эволюции функций и энзимохимии процес. возбуждения, М., 1961.
7. Barron E. S. a. Singer. J. Biol. chem. v. 157, 1945.
8. Binkley F. J. Biol. chem. v. 186, 1950.
9. Harris L. I. Proc. Rog. Soc. London, 94, 1923.
10. Kolthoff I. M. and Harris W. E. Ind. a. Eng. Chem., 18, 1946.
11. Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci. Washington v. 22, 1936.
12. Schoenbach E. W., Armistead E. B. and Weisman N. Proc. of the Soc. for Exper. Biology and Medicine, v. 73, 1950.