

УДК 576.895.132 : 598.6 : 577.1

КАДАВЕРИН И ЕГО ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ПАРАЗИТА И ХОЗЯИНА ПРИ АСКАРИДИОЗЕ

Е. А. Дрюченко, М. Н. Куликова

Проведено сравнительное исследование процесса образования кадаверина в тканях аскаридий, а также в кишечнике и печени зараженных кур, приводятся данные об активности, рН-оптимуме лизиндекарбоксилазы, выделенной из тканей нематод и тканей хозяина. Обсуждается вопрос о токсической роли кадаверина при гельминтозах.

Среди промежуточных и конечных продуктов азотистого обмена животных в ряде случаев обнаруживаются соединения, обладающие как биологически активными, так и токсическими свойствами. Изучение процессов, определяющих образование подобных соединений у гельминтов, представляет интерес для решения вопросов взаимоотношений между паразитом и хозяином. К подобным соединениям может быть отнесен алифатический диамин-пентаметилендиамин или кадаверин. Он образуется в тканях животных в результате декарбоксилирования лизина. Кавье и Савель (Cavier, Savel, 1954), Лопез-Гордже с соавторами (Lopez-Gorge e. a., 1969) показали наличие такого процесса в тканях *Ascaris suum*, *A. lumbricoides* и *Moniezia expansa*. Мы также изучали этот процесс на примере других гельминтов.

Мы обнаружили активность лизиндекарбоксилазы в тканях цестод: *Bothrioccephalus scorpii*, *Traeanophorus nodulosus*, *Caryophyllaeus* sp., *Ligula intestinalis* (плероцеркоид), *Piramicoccephalus phocarum* (плероцеркоид), в тканях трематоды *Fasciola hepatica* и личинки нематоды *Terranova decipiens* (Дрюченко, 1982а, 1982б).

Задача настоящего исследования — получить сравнительные данные об интенсивности процессов образования кадаверина, протекающих в тканях паразита и хозяина. Известно, что среди экскреторных продуктов, выделяемых гельминтами, значительное место принадлежит аминам, среди которых ранее был идентифицирован кадаверин. Поскольку этот диамин образуется в результате декарбоксилирования лизина, мы исследовали активность лизиндекарбоксилазы в тканях аскаридий, а также в кишечнике и печени зараженных ими хозяев. В доступной нам литературе мы не нашли сведений по этому вопросу.

МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гельминтов *Ascaridia galli*, печень и кишечник кур получали на Московской птицефабрике, промывали в физиологическом растворе и замораживали. Затем ткани размораживали и суспензировали в 0.8%-ном растворе NaCl в соотношении 1 : 3 в стеклянном гомогенизаторе. Гомогенат центрифугировали 30 мин при 10 000 g и 4 °C. Ферментативной активности в осадке не обнаружено. К надосадочной жидкости мелкими порциями добавляли сухой сульфат аммония. Собирали фракции от 20 до 70% насыщения и осадок растворяли в 0.2 M растворе фосфатного буфера рН 6.2, содержащем 10^{-5} M пидидоксальфосфата. Диализ проводили против того же буфера в соотношении 1 : 100.

Активность лизиндекарбоксилазы определяли модифицированным методом Дикермана и Картера (Dickerman, Carter, 1962). Метод основан на спектрофотометрическом определении 2,4-динитро-1-фтор-производного кадаверина, экстрагированного хлороформом. Инкубационная смесь состояла из 1 мл 0.1 М фосфатно-цитратного буфера pH 4.4 и 5.6; 5.4 мкМ L-лизина, 40 мкМ пиридоксальфосфата и 0.5 мл экстракта ткани. Для определения pH-оптимума фермента были использованы серии растворов буфера от pH 3 до pH 7. Реакцию останавливали 98%-ным этиловым спиртом. Активность ферментов выражали в количестве нМ кадаверина, образованного за 30 мин инкубации в расчете на мг белка. Белок определяли по методу Лоури (Lowry e. a., 1951).

Активность лизиндекарбоксилазы, выделенной из гомогената аскаридий, собранных на птицефабрике, составляет 60 ± 23 нМ/мг белка. Изучение влияния концентрации водородных ионов на активность фермента показало наличие двух пиков активности — при pH 4.4 и pH 5.6. Оптимум действия лизиндекарбоксилазы соответствует pH 4.4. В опытах были использованы половозрелые самки аскаридий.

Известно, что активность ряда ферментов коррелирует с возрастом животных. Мы провели несколько серий экспериментов на аскаридиях разного возраста. В опытах были использованы молодые самки, собранные на 38—40-й дни развития, половозрелые самки — на 50—55 и старые — на 78-й день развития. Всех цыплят заражали инвазионной культурой в 20-дневном возрасте. Доза заражения — 200 яиц на одного цыпленка.

Активность лизиндекарбоксилазы, выделенной из гомогената тканей нематод, собранных на 38—40-й дни развития, составляет 379 ± 35 нмоль на мг белка. Активность фермента аскаридий 50—55-дневного развития составляла 150 ± 53 нМ/мг белка. У нематод, собранных на 78-й день после заражения, мы не обнаружили активности процесса декарбоксилирования лизина. Результаты этих экспериментов позволяют объяснить полученное нами более низкое значение активности фермента, выделенного из тканей аскаридий, собранных на птицефабрике. Видимо, в этих опытах были использованы нематоды разного возраста и в основном «старые» самки аскаридий.

Мы провели также определение активности процесса декарбоксилирования лизина в различных органах и тканях аскаридий (кишечник, кожно-нервно-мышечный мешок, ткани половой системы). Опыты были проведены на половозрелых аскаридиях 50—55-дневного развития. Как показали результаты экспериментов, процесс образования кадаверина имеет место во всех исследованных тканях нематод. Активность лизиндекарбоксилазы, выделенной из гомогената тканей кишечника аскаридий, составляет 200 нМ/мг белка, половой системы (яйца аскаридий были удалены) — 184 нМ/мг белка и тканей кожно-нервно-мышечного мешка аскаридий — 82 нМ/мг белка (приведенные данные — средние из трех экспериментов).

Для сравнения интенсивности процесса образования кадаверина, протекающего в тканях хозяина и гельминта, мы определили активность лизиндекарбоксилазы в кишечнике и печени кур. Активность фермента, выделенного из гомогената тканей кишечника, составляет 138 ± 34 нМ/мг и печени кур 85 ± 26 нМ/мг белка. Оптимум действия лизиндекарбоксилазы кишечника кур соответствует pH 4.4 и печени кур pH 5.6.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных нами экспериментов показали, что при декарбоксилировании лизина в тканях аскаридий может быть образован кадаверин. Наибольшая активность фермента сосредоточена в тканях кишечника и половой системы нематод. Также была выявлена зависимость интенсивности процесса от возраста аскаридий. Активность лизиндекарбоксилазы, выделенной из гомогената молодых самок, собранных на 38—40-й дни после заражения инвазионной культурой, в два раза превышает активность фермента, выделенного из тканей аскаридий 50—55-дневного развития. В тканях нематод, собранных на 78-й день после заражения, мы не обнаружили процесса образования кадаверина. Исходя из этого можно предположить, что активность лизин-

декарбоксилазы снижается параллельно снижению интенсивности обменных процессов аскаридий.

Косвенные данные позволяют считать, что выделение кадаверина в среду паразитирования коррелирует с активностью процесса декарбоксилирования лизина. Так, было показано (Lopez-Gorge e. a., 1969), что при инкубации *Ascaris lumbricoides* в среде Тироды, содержащей 100 мг L-лизина на литр, нематоды полностью поглощают эту аминокислоту. 80% поглощенного лизина превращается в кадаверин и выделяется в среду содержания. Исследователи, изучавшие продукты экскреции *Taenia taeniaformis*, *Trichinella spiralis*, *Nippostrongylus muris* и *A. lumbricoides*, идентифицировали кадаверин среди выделяемых ими алифатических аминов с короткой углеродной цепью и убедительно доказали, что эти амины являются продуктами их жизнедеятельности (Weinstein, Haskins, 1955; Haskins, Weinstein, 1957a, 1957b; Haskins, Oliver, 1958; Castro e. a., 1973).

В настоящее время имеются работы, содержащие сведения о синтезе кадаверина в различных тканях животных. Известно об образовании кадаверина в почках, плаценте, яичниках мыши, об активном процессе образования этого диамина в клетках Эрлиха (McCann e. a., 1980; Alhonen-Hongisto, Janne, 1980; Andersson, Hennigsson, 1980, 1981). Наши эксперименты показали, что в тканях кишечника и печени кур также идет процесс декарбоксилирования лизина.

Совокупность наших и литературных данных позволяет считать, что кадаверин может появляться в кишечнике зараженных кур как в результате его выделения гельминтами, так и быть образован самим хозяином. Однако нематоды на определенных этапах развития могут выделять в среду обитания значительно большее количество диамина по сравнению с хозяином. Так, активность фермента молодых самок аскаридий почти в 2.5 раза выше активности лизиндекарбоксилазы, выделенной из тканей кишечника кур, и почти в 4 раза превышает активность фермента печени хозяина. Присутствие этого диамина в кишечнике животных в количествах, превышающих физиологическую норму, как экспериментально показано работами Вираахован с соавторами (Veegaraghavan e. a., 1966), может привести к цепи болезненных процессов в случае, если защитные механизмы организма окажутся недостаточными. Исследования эти авторы проводили на обезьянах, кроликах, морских свинках и мышах. Показано, что симптомы, вызываемые введением кадаверина в организм животного, во многом напоминают нарушения, вызываемые введением холерного вибриона: понос, обезвоживание организма, нарушение электролитного баланса, нарушение всасывания и ряд других. Введение 7.5—10 мг кадаверина в кишечник морской свинки и 10—30 мг кролику приводило к возникновению воспалительных процессов в подслизистой, мышечной и серозной оболочках кишечника этих животных. Стенки кишечника становились отечными и кровоточащими, наблюдалось нарушение проницаемости. Так, скорость проникновения в кишечник синьки Эвана, введенной внутривенно, возрастала на 37.5% у 60% животных.

Влияние кадаверина на проницаемость кишечной стенки было подтверждено работами других авторов. Так, Янг и Бьелданс (Jung, Bjeldanes, 1979) показали, что при добавлении в среду этого диамина в соотношении 1 : 10 транспорт 1 мг гистамина через кишечную стенку морской свинки увеличивается на 17% и при соотношении 1 : 2 — на 29%. Еще Кавье и Савель, ссылаясь на работу Паррота (Parrot, 1947 — по: Cavier, Savel, 1954) отмечали, что гистамин, введенный per os, безвреден для морской свинки и становится токсичным, если вводится в сочетании с кадаверином.

Известно, что при ряде гельминтозов, связанных с поражением желудочно-кишечного тракта, наблюдаются симптомы, подобные тем, которые имеют место при введении кадаверина в кишечные петли животных. Слизистая становится отечной и кровоточащей, наблюдается трансфузия в кишечник как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений, нарушение электролитного баланса и ряд других (Шульц, Гвоздев, 1976). Экспериментально показано, что заражение крыс *Nippostrongylus brasiliensis* приводит к увеличению проницаемости слизистой кишечника (Nava, 1979) и, по мнению автора, это связано с воздействием метаболитов паразита. К такому выводу приходит и Меттрик

с соавторами (Mettrick e. a., 1979), которые изучали влияние на электролитный баланс заражения скребнями *Moniliformis dubius*.

Таким образом, косвенные данные, полученные нами, и результаты других исследований позволяют предположить, что выделение кадаверина гельминтами в кишечник хозяина является одной из причин, определяющих изменение физико-химических показателей среды обитания. Если защитные механизмы хозяина оказываются недостаточными, кадаверин может способствовать нарушению проницаемости кишечной стенки и создавать «ворота» для проникновения токсинов гельминтов в организм хозяина.

Шульц и Гвоздев считают, что к специфическим факторам патогенного воздействия могут быть отнесены химические эффекты, производимые возбудителем и оказывающие на хозяина непосредственное влияние. К таким факторам, видимо, можно отнести выделение гельминтами такого диамина как кадаверин.

Л и т е р а т у р а

- Д р ю ч е н к о Е. А. Образование кадаверина у некоторых представителей гельминтов рыб, в печени и кишечнике их хозяев. — В кн.: Гельминты в пресноводных биоценозах. М., Наука, 1982, с. 81—85.
- Д р ю ч е н к о Е. А. Образование кадаверина у гельминтов. — В кн.: 3-й Международ. симпозиум по гельминтологии (Тез. докл., Кошице, ЧССР), 1982.
- Ш у л ь ц Р. С., Г в о з д е в Е. В. Основы общей гельминтологии. Т. 3. М., Наука, 1976. 246 с.
- A l h o n e n - H o n g i s t o I., J a n n e J. Polyamine depletion induces enhanced synthesis of cadaverine in cultured Ehrlich ascites carcinoma cells. — Biochem. a. Biophys. Res. Comm., 1980, vol. 93, N 4, p. 1005—1013.
- A n d e r s s o n A. C., H e n n i n g s s o n S. Biosynthesis and accumulation of cadaverine and putrescine in rat ovary after administration of human chorionic gonadotrophin. — Acta Endocrinol., 1980, vol. 95, p. 237—243.
- A n d e r s s o n A. C., H e n n i n g s s o n S. On the biogenesis of diamines and polyamines in the pregnant rat. — Acta Endocrinol., 1981, vol. 98, N 3, p. 456—463.
- C a s t r o G. A., F e r g u s o n J. D., G o r d e n C. W. Amine excretion in excysted larvae and adults of *Trichinella spiralis*. — Comp. Biochem. Physiol., 1973, vol. 45A, p. 819—828.
- C a v i e r R., S a v e l J. Etude de Quelques Aspects du metabolisme intermediaire des Acides amines Chez *L'ascaris du porc (Ascaris Lumbricoides linne 1778)*. — Buel Soc. de Chem. Biol., 1954, t. 36, N 11—12, p. 1631—1641.
- D i c k e r m a n H. W., C a r t e r M. H. A spectrophotometric method for the determination of lysine utilizing bacterial lysine decarboxylase. — Anal. Biochem., 1962, vol. 3, N 3, p. 195—205.
- H a s k i n s W. T., O l i v e r L. Nitrogenous excretory product of *Taenia taeniaeformis* larvae. — J. Parasit., 1958, vol. 44, p. 569—573.
- H a s k i n s W. T., W e i n s t e i n P. P. Nitrogenous excretory products of *Trichinella spiralis* larvae. — J. Parasit., 1957a, vol. 43, p. 19—24.
- H a s k i n s W. T., W e i n s t e i n P. P. The amino constituents from the excretory product of *Ascaris lumbricoides* and *Trichinella spiralis* larvae. — J. Parasit., 1957, vol. 45, p. 28—32.
- M c C a n n P. P., T a r d i f C., P e g g A. E., D i e k e m a K. The dual action of the non-physiological diamines 1,3-diaminopropane and cadaverine on ornithine decarboxylase of HTC cells. — Life Sci. USA, 1980, vol. 26, p. 2003—2010.
- L o p e z - G o r g e J., M o n t e o l i v a M., M a y o r F. Actividad lisina-descarboxilasa en *Ascaris lumbricoides* y *Moniezia expansa*. — Rev. iber. parasitol., 1969, vol. 29, N 2—3, p. 219—227.
- L o w r y O. H., R o s e n b r o u g h N. J., F a r r A. L., R a n d a l l R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. — J. Biol. Chem., 1951, vol. 193, N 1, p. 265—267.
- J u n g H.-Y. P., B j e l d a n e s L. F. Effects of cadaverine on histamine transport and metabolism in isolated gut section of the guinea-pig. — Food and Cosmet. Toxicol., 1979, vol. 17, N 6, p. 629—632.
- M e t t r i c k D. F., B u d z i a k o w s k i M. E., P o d e s t a R. B. Net fluxes of electrolytes in the rat intestine infected with *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). — Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1979, vol. 57, N 8, p. 882—886.
- N a w a J. Increased permeability of gut mucosa in rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis*. — Int. J. Parasitol., 1979, vol. 9, N 3, p. 251—255.
- V e e r a r a g h a v a n N., K a l y a n a r a m a n V., V i s a l a k s h i V. K. Role of pentamethylendiamine (cadaverine) in experimental cholera infection. — Ind. Med. Res., 1966, vol. 54, N 2, p. 117—128.
- W e i n s t e i n P. P., H a s k i n s V. T. Chemical Evidence of an excretory function for the so-called excretory system of the Filariform-larva of *Nippostrongylus muris*. — Exp. Parasitology, 1955, vol. 4, N 3, p. 226—243.

CADAVERINE AND ITS POSSIBLE ROLE IN THE HOST-PARASITE RELATIONSHIPS
DURING ASCARIDIASIS

E. A. Drjuchenko, M. N. Kulikova

S U M M A R Y

A comparative study of the formation process of cadaverine in tissues of ascarides, intestine and liver of hen was conducted. Data are given on the activity, pH-optimum of lysine decarboxylase obtained from tissues of helminth and its host. The question on a toxic role of cadaverine during helminthiasis is considered. It has been concluded that the accumulation of cadaverine in the host's intestine can break the permeability of the intestine walls and favour the penetration of toxins of helminths into the host's organism.
