

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ФАСЦИОЛЕЗЕ

И. Д. ШЕЛЯКИН

кандидат ветеринарных наук

И.Ю. ВЕНЦОВА

кандидат биологических наук

Воронежский государственный аграрный университет

им. императора Петра I,

тел. 8(473)253-91-58, e-mail: inna_vencova@mail.ru

Изучен механизм действия ферментов переаминирования, мочевинообразования, антиоксидантной защиты в крови и печени крупного рогатого скота при фасциолезе. Установлено, что в печени у инвазированных животных наиболее интенсивное образование глутаминовой кислоты происходит при переаминировании аспарагиновой кислоты и аспарагина с α -кетоглутаратом. Также у этих животных отмечено более высокое содержание в крови мочевины, более высокая активность АсАт, АлАт и каталазы, а содержание церулоплазмينا и активность пероксидазы и СОД снижались.

Ключевые слова: коровы, антиоксидантная система, ферменты, фасциолез, переаминирование.

В познании специфики клеточного метаболизма одно из главных мест принадлежит проблемам ферментативного катализа, и прежде всего изучению особенностей функционирования, регуляции активности, механизма действия ферментов. Исследования саморегулирования обменных процессов на уровне отдельных ферментных систем позволят более глубоко и детально проанализировать метаболизм в животной клетке. Исследованию ферментативных процессов посвящено немало научных работ. В этом плане функциональное состояние ферментной системы крови и печени у крупного рогатого скота при фасциолезе изучено недостаточно, но имеет исключительное значение для определения биохимического статуса животных при проведении противофасциозных мероприятий.

Проблема регуляции метаболизма с целью последующей коррекции патологических изменений в организме на молекулярном уровне требует глубокого изучения биохимических путей формирования патологической картины и определения особенностей функционирования ключевых ферментных систем животного организма при течении фасциозной инвазии.

Целью наших исследований было изучение функционирования ферментной системы процессов: переаминирования, мочевинообразования, антиоксидантной защиты в крови и печени крупного рогатого скота, пораженного фасциолезом, для выяснения паразито-хозяйинных отношений и проведения патогенетической терапии.

Материалы и методы

Исследования проводили в одном из хозяйств Воронежской области на 20 коровах симментальской породы, инвазированных *Fasciola hepatica*, и 20

клинически здоровых коровах. Кровь брали из яремной вены утром до кормления. Для стабилизации крови применяли гепарин.

В цельной крови определяли: активность каталазы [8], концентрацию церулоплазмينا [3], активность пероксидазы в сыворотке крови [4], активность супероксиддисмутазы [8], активность аминотрансфераз определяли колориметрическим методом Райтмана–Френкеля и выражали в нмоль сек/л. Определение оптической плотности проводили с помощью фотоколориметра КФК-2 при длине волны 540 нм. Вычислялся коэффициент Де Ритиса (отношение АсАТ к АлАТ). Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента [6].

Результаты и обсуждение

Реакции орнитинового цикла синтеза мочевины в печени являются центральными реакциями обезвреживания аммиака и углекислоты. Ключевая роль в этом принадлежит ферменту аргиназе, катализирующему реакцию гидролиза L-аргинина, отщепляя гуанидиновую группу до мочевины и орнитина. Посредством процессов переаминирования осуществляется взаимосвязь белкового обмена с реакциями цикла трикарбоновых кислот, а также с уровнем свободных аминокислот метаболического фона [7].

Как показали наши исследования, в печени здоровых и инвазированных животных происходит переаминирование аспарагиновой кислоты, аспарагина, фенилаланина, гистидина, лейцина, тирозина, триптофана, метионина, валина и аланина с α -кетоглутаровой кислотой с образованием глутаминовой кислоты. Наиболее интенсивное образование глутаминовой кислоты происходит при переаминировании аспарагиновой кислоты и аспарагина с α -кетоглутаратом у инвазированных животных. Активными аминоклаторами в этой реакции являются также фенилаланин, гистидин, лейцин. Слабее всего реакция переаминирования протекает между аланином и α -кетоглутаратом. Отмеченный интенсивный синтез глутаминовой кислоты у коров, больных фасциолезом, свидетельствует о функциональном изменении клеток печени с усилением процессов переаминирования и самообновления белков в них, как ответная реакция на заболевание. Такие аминокислоты, как аргинин, лизин, серин, треонин и пролин в условиях наших опытов не вступают в реакцию переаминирования с α -кетоглутаратом.

Наивысшая активность аргиназы в печени была у инвазированных животных и составила 4343 ± 718 – 5391 ± 265 мкМ мочевины на 1 г сырой ткани при концентрации мочевины в крови $26,5 \pm 2,7$ – $34,4 \pm 3,4$ мг % (табл. 1).

Достоверная разница в содержании мочевины в крови и выделения азота с мочой отмечена у больных и здоровых животных.

Так, концентрация мочевины в крови здоровых животных была ниже в 1,7 раза по сравнению с инвазированными животными, выделение азота с мочой – в 1,4 раза.

При фасциолезе нарушается структура и функция печени. Повреждается цитоплазматическая мембрана клеток, начинается выход растворимых энзимов цитоплазмы: аланинаминотрансферазы, альдолазы, фосфорилазы, лактодегидрогеназы и др. Ферменты быстро диффундируют в межклеточное пространство [3].

При необратимом разрушении гепатоцитов во внеклеточную среду выходят митохондриальные ферменты, в том числе аспартатаминотрансферазы, появляющиеся в циркуляции [9].

Одной из основных характеристик морфологической целостности гепатоцитов является определение в крови аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) и имеет исключительное значение для понимания специфики биохимических превращений в крови и печени коров при фасциолезе.

1. Активность аргиназы печени, концентрация мочевины в крови и выделение азота у коров

Группа животных		Активность аргиназы (мкМ мочевины на 1 г ткани)	Концентрация мочевины, мг %	Выделение азота с мочой (г в сутки на 1 голову)
Контрольная	1	3711±190	18,0±0,5	15,8±1,5
	2	3362±185	9,6±0,6	30,2±3,4
	3	3304±504	19,8±2,0	30,4±2,2
Инвазированная	1	5391±265	34,4±3,4	73,0±5,6
	2	5023±242	28,9±1,5	46,0±7,8
	3	4343±718	26,5±2,7	48,0±6,3

Одной из основных характеристик морфологической целостности гепатоцитов является определение в крови аспартатаминотрансферазы (АсАт) и аланинаминотрансферазы (АлАт) и имеет исключительное значение для понимания специфики биохимических превращений в крови и печени коров при фасциолезе.

Как показали наши исследования (табл. 2), активность АсАт и АлАт в крови инвазированных животных выше, чем в контрольной группе, и составляет соответственно АсАт 121±9,8–139±11,2 нмоль сек/л; АлАт 105±10,6–120±8,9, 81±8,6–103±11,3, 105±10,6–120±8,9 нмоль сек/л.

2. Активность АсАт и АлАт в крови (нмоль сек/л)

Группа животных		АсАт	АлАт	АсАт/ АлАт
Контрольная	1	81±8,6	105±17,2	0,77
	2	81±8,9	139±16,7	0,58
	3	103±11,3	139±11,7	0,74
Инвазированная	1	121±9,8	105±10,6	1,15
	2	139±11,2	120±8,9	1,15
	3	125±10,4	115±11,7	1,08

Важным показателем функционального состояния печени является коэффициент Де Ритиса – отношение активности АсАт к АлАт. В норме оно меньше 1. Увеличение коэффициента Де Ритиса у инвазированных животных связано, по-видимому, с прогрессирующим разрушением гепатоцитов.

Таким образом, одним из механизмов биохимической адаптации метаболизма в гепатоцитах при фасциолезе может являться увеличение активности аминотрансфераз в крови животных.

Функциональные изменения при фасциозной инвазии связаны с нарушением метаболизма в организме животного, приводящего к накоплению в крови метаболитов перекисного окисления липидов, к нарушению активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ): каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы (СОД), церулоплазмينا.

СОД – основной фермент первого звена АОЗ, катализирует дисмутацию и обезвреживание двух молекул супероксидного радикала O_2^- с образованием менее активной перекиси водорода, которая разлагается каталазой и группой пероксидаз до воды и кислорода. Церулоплазмин – трансферрин регулирует в организме уровень несвязанных ионов Fe^{2+} , которые являются сильными инициаторами свободнорадикального окисления. Посредством церулоплазмينا ионы Fe^{3+} встраиваются в трансферрин и транспортируются к тканям и гемопoэтическим органам [1].

Важная роль каталазы и пероксидазы при поражении печени фасциолами связана с активным их участием в поддержании антиоксидантного равновесия путем обезвреживания перекиси водорода.

При исследовании крови инвазированных коров выявлено повышение содержания церулоплазмينا, снижение уровня активности супероксиддисмутаза, повышение активности каталазы (на 10 % по отношению к клинически здоровым животным). Активность пероксидазы при этом снижалась и составляла (33,7±2,21–35,2±1,48 ед. опт. пл./л. с) (табл. 3).

3. Показатели антиоксидантного статуса крупного рогатого скота при фасциолезе

Группа животных		Церулоплазмин, моль/л	Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /л × 10 ³	Пероксидаза, ед. опт. пл./л. с	Супероксиддисмутаза, усл. ед.
Контрольная	1	2,35±0,3	31,8±3,28	39,5±2,26	267±4,23
	2	2,44±1,0	32,0±1,61	36,7±1,97	260±12,4
	3	2,33±1,2	31,6±2,02	39,8±2,12	248±8,81
Инвазированная	1	2,8±0,3	34,2±4,52	35,2±1,48	225±5,1
	2	3,4±0,7	33,5±2,68	34,3±2,18	222,5±12,4
	3	3,3±0,2	36,7±3,39	33,7±2,21	215±7,0
После лечения	1	2,37±0,9	30,9±2,64	39,6±2,24	264±2,74
	2	2,41±0,8	31,8±2,17	39,4±2,11	251±2,98
	3	2,34±0,4	30,9±2,18	39,7±2,02	250,4,31

Повышение содержания церулоплазмينا у инвазированных животных приобретает особое значение при снижении активности супероксиддисмутаза, так как СОД защищает внутриклеточные структуры, а церулоплазмин функционирует в крови, охраняя от повреждения биоструктуры, содержащие липиды [1].

Таким образом, аргиназная активность печени положительно коррелирует с концентрацией мочевины в крови и выделением азота с мочой. Интенсивный синтез глутаминовой кислоты при переаминировании аспартата и α-кетоглутарата, мочевины у коров, больных фасциолезом, свидетельствует о морфологическом и функциональном изменении гепатоцитов с усилением процессов детоксикации, как ответной реакции на заражение.

Состояние антиоксидантной защиты крови коров при фасциолезной инвазии характеризуется повышением содержания церулоплазмينا, активности каталазы, снижением активности пероксидазы и супероксиддисмутаза, что способствует снижению окислительных реакций перекисного типа, уменьшает тем самым накопление свободных радикалов в клетках, сохраняя целостность мембран.

Функциональное состояние ферментной системы переаминирования, мочевинообразования, антиоксидантной защиты имеет диагностическое значение для контроля над состоянием метаболического статуса животных и эффективностью терапии при фасциолезной инвазии.

Литература

1. Владимиров Ю.А. и др. Свободные радикалы в живых системах // Биофизика. Итоги науки и техн. – 2002. – № 29. – С. 252.
2. Владимиров Ю.А., Арганов А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
3. Гулак А.М., Дудченко В.В. и др. – М.: Наука, 1985. – 269 с.
4. Землянухин А.А. Малый практикум по биохимии. – Воронеж, 1998. – 135 с.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майрова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

7. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. – М.: Мир, 1980. – 282 с.

8. Рецкий М.И., Шабунин С.В., Блинецова Г.Н. и др. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма. – Воронеж, 2010. – 70 с.

9. Титов В.Н., Быкова Н.А. Методические и диагностические аспекты исследования активности аминотрансфераз // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 4–11.

Metabolic changes of some enzymes in the body of cattle at fasciolosis

I.D. Shelyakin, I.Y. Ventsova

The mechanism of transamination enzymes, urea, antioxidant protection in blood and liver of cattle afflicted with fascioliasis is studied. It was found that in the liver of infected animals, the most intensive formation of glutamic acid transamination occurs at aspartic acid and asparagine in α -ketoglutarate. Also, these animals have higher blood levels of urea, a higher activity of AST, ALT and catalase and the content of ceruloplasmin and peroxidase activity of SOD decreased.

Keywords: cows, antioxidant system, enzymes, fasciolosis, transamination.