

УДК 576.895.122 : 597.554.3+577.152.1

© 1993

**АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
И ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ЕЕ ИЗОФЕРМЕНТОВ
В ПЕЧЕНИ ЛЕЩА *ABRAMIS BRAMA*
ПРИ ПАЗАРИТИРОВАНИИ ПЛЕРОЦЕРКОИДОВ
ЦЕСТОДЫ *DIGRAMMA INTERRUPTA***

Ю. М. Крылов, Е. А. Долгих, В. В. Долгих

Изучено изменение активности лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27) в печени лещей, зараженных плероцеркоидами цестоды *Digamma interrupta*. Показано, что рост активности происходит за счет медленно мигрирующей формы ЛДГ-6. Обсуждается вопрос о взаимодействии в системе паразит—хозяин на уровне субстратов.

Изучение взаимоотношений в системе «паразит—хозяин» и выявление уровней взаимодействия членов симбиоза являются одним из ключевых для современной паразитологии. Существующие представления и накопленные данные позволяют утверждать, что при становлении системы «паразит—хозяин» возникает новая метаболическая система, которую обычно называют паразито-хозяинной. Несмотря на относительную изученность метаболизма у паразитов и некоторых аспектов их взаимодействия с хозяином, до настоящего времени остаются не изученными некоторые интимные механизмы, обеспечивающие ее функционирование. Ранее было постулировано (Крылов, 1991), что одним из уровней взаимодействия в системе «паразит—хозяин» является субстратный. Предполагается, что потребление или выделение отдельных метаболитов из организма хозяина приводит к индукции синтеза отдельных ферментов или ферментативных систем, ответственных за образование или потребление этих субстратов. Реализуется так называемый механизм субстратной регуляции. С нашей точки зрения, такой тип взаимодействия должен осуществляться на уровне ферментативных реакций, сопровождающихся формированием клеточного и организменного пула субстратов. Наиболее простой системой, позволяющей проверить справедливость данного предположения, является система генерации и метаболизма лактата.

С целью проверки данной гипотезы нами были изучены изменения активности лактатдегидрогеназы и спектра ее изоферментов в печени леща при развитии в нем плероцеркоидов цестоды *Digamma interrupta*. Метаболизм глюкозы у цестод относится к гомолактатному типу (Bryan, Flockhart, 1986). Это означает, что основная масса глюкозы расщепляется до лактата, который выделяется во внешнюю среду и в свою очередь принципиально должен индуцировать изменение активности ферментативных систем хозяина, метаболизирующих его.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе была использована печень лещей, зараженных плероцеркоидами, и интактных, выловленных в акватории Куйбышевского водохранилища Волги. Печень извлекали из свежельовленных лещей, отмывали от примеси крови в физиологическом растворе для холоднокровных и замораживали в жидком азоте. Активность лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27) определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Specord M40 по кинетической программе при 340 нм. Определяли прямую (лактат—пируват) и обратную (пируват—лактат) реакции, рассчитывали удельную активность на мг белка. Белок определяли методом Бредфорда. Разделение изоферментов осуществляли в вертикальных пластинках 5 % ПААГ в 40 мМ калий-фосфатном буфере, рН 7,8, локализацию изоформ выявляли с помощью модифицированного метода Серова и Нечаева (Корочкин и др., 1977). В качестве электродного буфера использовали 50 мМ калий-фосфатный буфер, рН 7,8.

В работе были использованы реактивы фирм SERVA, Chemapol и Реахим квалификации хч. Результаты исследований были обработаны статистическим методом непрямых разностей с использованием критерия Стьюдента. В работе приводятся статистически достоверные результаты.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении изменения активности лактатдегидрогеназы было обнаружено, что в печени зараженных плероцеркоидами рыб происходит статистически достоверное увеличение удельной активности как прямой, так и обратной реакций. У зараженных лещей активность прямой реакции составляла 1.25 ± 0.64 мкМ/мин/мг белка ($n=15$), а у интактных 0.57 ± 0.16 мкМ/мин/мг белка ($n=14$). У зараженных лещей удельная активность фермента была в 2.19 раза выше. При изучении активности обратной реакции было обнаружено, что у зараженных лещей она составляет 1.63 ± 0.39 мкМ/мин/мг

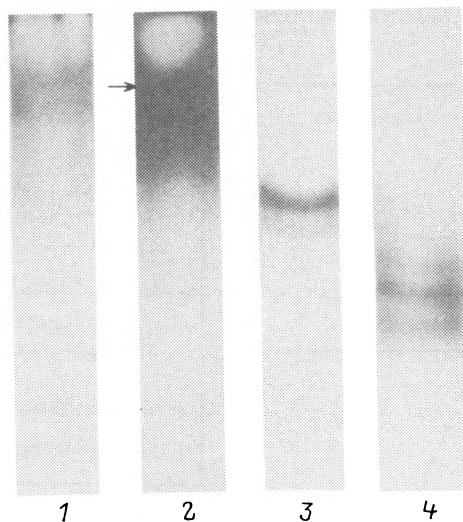


Рис. 1. Изоферменты ЛДГ леща.

1 — печень, незараженная особь; 2 — печень, особь, зараженная плероцеркоидами цестоды *D. interrupta*;
3 — мышцы, незараженная особь; 4 — сердце, незараженная особь.

Fig. 1. LDH isoenzymes of the bream.

белка ($n=3$), а у интактных 0.92 ± 0.03 мкМ/мин/мг белка ($n=3$). Увеличение обратной реакции у зараженных рыб происходит в 1.77 раза.

При изучении изменений изоферментного спектра (рис. 1) было обнаружено, что при разделении в 5 % ПААГ гомогената печени леща обнаруживается 6 дискретных полос, обладающих активностью ЛДГ. Было отмечено, что при развитии в леще плероцеркоидов цестоды происходит увеличение активности медленно мигрирующей формы ЛДГ-6. Полуколичественная оценка активности изоферментов ЛДГ позволяет констатировать, что активность ЛДГ-6 значительно увеличивается у зараженных особей и составляет 60—90 % от общей.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты подтверждают высказанное ранее предположение о том, что при развитии паразита в организме хозяина имеет место взаимодействие двух метаболических систем. Так, происходит сопряжение метаболической системы катаболизма глюкозы паразита с системой метаболизма лактата на уровне организменного пула хозяина. Происходит формирование межорганизменного пула симбиотической системы. Система продукции лактата паразита, с нашей точки зрения, индуцирует увеличение активности системы метаболизма лактата в специализированном по его потреблению органе — печени хозяина. Полученные результаты согласуются с представлениями о том, что у цестод метаболизм глюкозы осуществляется по гомолактатному типу (Вруан, Flockhart, 1986). Общая схема сопряжения метаболических реакций паразита и хозяина представлена на рис. 2. Паразит расщепляет глюкозу до лактата и секретирует ее в брюшную полость хозяина, который в свою очередь вовлекает ее как в катаболические, так и анаболические реакции. Образующиеся при этом субстраты могут быть вновь вовлечены паразитом в свой метаболизм. Этот пример подтверждает предположение Шульмана и Добровольского (1977) о том, что паразит возлагает свои функции на организм хозяина. Особый интерес представляет индукция в печени изоформы ЛДГ-6, которая превалирует в печени леща и в интактных условиях. Изофермент ЛДГ-6 специфичен для костистых рыб (карповые, харациновые, тресковые) и кодируется одним геном (Shaklee, Whitt, 1981). Однако сам

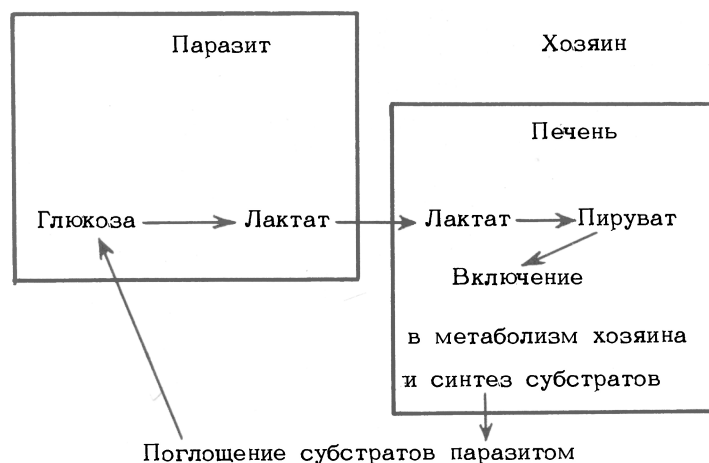


Рис. 2. Общая схема взаимодействия метаболических путей плероцеркоидов цестоды *Digamma interrupta* и леща *Abramis brama* на уровне лактата.

Fig. 2. General schem of the interaction of metabolic ways at the lactate level in the system plerocercoid *Digamma interrupta* — bream *Abramis brama*.

факт увеличения содержания изофермента, кодируемого одним геном и состоящего из 4 гомологичных субъединиц, представляется интересным. С определенной степенью уверенности можно утверждать, что аналогичные подтверждения высказанной ранее гипотезы (Крылов, 1991) могут быть найдены при изучении и других метаболических систем. С нашей точки зрения, такой способ сопряжения ферментативных систем и регуляции паразитом метаболизма хозяина может реализовываться только на уровне ферментов, не объединенных в метаболон, т. е. в условиях, когда метаболиты образуют свободный пул.

Список литературы

- Корочкин Л. И. и др. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 278 с.
Крылов Ю. М. Молекулярные и генетические основы паразитизма у эукариот: эволюция взаимоотношений в системе «паразит—хозяин» // Эволюция паразитов. Матер. 1-го Всесоюз. симпоз. Тольятти, 1991. С. 163—167.
Шульман С. С., Добровольский А. А. Паразитизм и смежные с ним явления // Паразитол. сб. Тр. ЗИН АН СССР. 1977. Т. 27. С. 230—248.
Вгван С., Флоскхарт Н. А. Biochemical strain variation in parasitic helminths // Advances in Parasitology. 1986. Vol. 25. P. 275—311.
Shaklee J. B., Whitt G. S. Lactate dehydrogenase isozymes of Gadiformes fishes: Divergent patterns of gene expression indicate a heterogenous taxon // Copeia 3. 1981. P. 563—578.

Институт экологии Волжского бассейна РАН,
Тольятти

Поступила 20.12.1992

AN ACTIVITY OF LACTATEDEHYDROGENASE AND CHANGES OF SPECTRUM OF ITS ISOENZYMES IN THE LIVER OF THE BREAM ABRAMUS BRAMA INFECTED WITH PLEROCERCIDS OF THE CESTOD DIGRAMMA INTERRUPTA

Yu. M. Krylov, E. A. Dolgikh, V. V. Dolgikh

Key words: lactatedehydrogenase, bream, plerocercoid, *Digamma interrupta*

S U M M A R Y

Changes of lactatedehydrogenase (KF 1.1.1.27) activity have been studied in the liver of the bream been infected with plerocercoids of the cestode *Digamma interrupta*. It is showed, that an increase of enzyme activity depends upon a slowly migrating form LDH-6. Problems of interaction at the level of substrate within a system parasite—host is considered.