

УДК 619:636.995.121

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ НУТРИЕНТЫ В ЛИЧИНОЧНЫХ ФОРМАХ ТЕНИЙ И ИХ УЧАСТИЕ В МЕТАБОЛИЗМЕ

Дубина И.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

E-mail: Dubinain@mail.ru

Республиканское унитарное предприятие «Институт экспериментальной
ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», Минск, Беларусь

Аннотация

В цистицерках создается среда с постоянно высоким уровнем глюкозы. По мере развития *C.pisiformis* и *C.tenuicollis* избыточное содержание глюкозы в их внутренней среде аккумулируется в гликогене, что подтверждается гистохимически.

Значительный рост уровня лактата в цистицеркозной жидкости свидетельствует об усилении анаэробных условий. В условиях гипоксии гликолиз становится важнейшим источником энергии для цистицерков тениид. Жировые компоненты в тканях цистицерков не несут существенной энергетической нагрузки, а являются в основном пластическим материалом и метаболическими отходами.

Ключевые слова: глюкоза, гликоген, липиды, энергия, обмен веществ, гистохимия, личиночные формы, *C.pisiformis*, *C.tenuicollis*.

ENERGY NUTRIENTS IN LARVAL FORMS OF TAENIIDAE AND THEIR PARTICIPATION IN METABOLISM

Dubina I.N., candidate of veterinary sciences, associate professor

E-mail: Dubinain@mail.ru

Republican scientific and research affiliate unitary enterprise
«Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Vyshellessky S.N.»,
Minsk, Republic of Belarus

Annotation

The cysticercus creates the environment with a constantly high glucose level. As *C. pisiformis* and *C. tenuicollis* develop, excess glucose in their internal environment is accumulated in glycogen, which is confirmed by histochemistry.

The significant increase in the level of lactate in the cysticercotic fluid indicates the increase in anaerobic conditions. Under conditions of hypoxia, glycolysis becomes the most important source of energy for cysticercus taeniidae. Fatty components in the tissues of cysticercus do not carry significant energy load, but they are mainly plastic material and metabolic waste.

Key words: glucose, glycogen, lipids, energy, metabolism, histochemistry, larval forms, *C. pisiformis*, *C. tenuicollis*.



Специфическая дегельминтизация животных является одним из важных компонентов в комплексе противогельминтных мероприятий. Современные подходы к дегельминтизации требуют не только высокой ее эффективности, но и биобезопасности. Поэтому детальное изучение гистохимических и биохимических процессов позволяет определить возможность терапии на основе объективных знаний морфологических и метаболических особенностей, формирующихся у гельминтов в процессе адаптации к паразитированию в тканях хозяина [1, 2].

Целью нашей работы являлось изучение энергетических процессов в личиночных формах тений на основании гистохимических и биохимических исследований цистицерков *C. pisiformis*, *C. tenuicollis*.

Материалы и методы. Изучение гистохимических особенностей цистицерков *C. pisiformis*, *C. tenuicollis* проводили при получении личиночных форм от экспериментально инвазированных, а также от спонтанно инвазированных животных. Нами было проведено экспериментальное заражение 20 кроликов 5-месячного возраста яйцами *T. pisiformis* – 25-40 яиц на животное. На протяжении 90 дней за животными велось наблюдение, на 3-й, 5, 7, 10, 12, 14, 20, 35 и 90-й дни убивали по 2 животных, у которых осуществляли отбор печеночной ткани и обнаруженных цистицерков пизиформных.

Также проведено экспериментальное заражение 10 овец яйцами *T. hydatigena* – 50-60 яиц на животное. На протяжении 6 месяцев за животными велось клиническое наблюдение, на 5-й, 15-й, 25-й, 40-й, 180-й дни с момента заражения убивали по 2 овцы для последующего отбора цистицерков и изучения их структурно-морфологических особенностей.

Извлеченные цистицерки подвергались гистохимическому и биохимическому исследованию. Гистологические препараты готовились путем заливки тканей цистицерков, освобожденных от цистицеркозной жидкости, в парафин и последующего нарезания препаратов на санном микротоме.



Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином, а также подвергали гистохимическому исследованию путем окраски методом Шабадаша и Суданом III [3, 4, 5, 6, 7].

Биохимические исследования выполнялись по общепринятым в ветеринарной практике методикам.

Результаты исследования. Биохимическое исследование тканей цистицерков позволило установить нам наличие в них АТФ – универсальный источник энергии. Однако мы установили значительное изменение уровня АТФ в тканях как цистицерков пизиформных, так и цитсицерков тenuityкольных на разных стадиях онтогонестического развития (таблица 1).

Таблица 1. – Уровень АТФ в тканях *C. pisiformis* и *C. tenuicollis*
в разные периоды развития

Вид цистицерка		Уровень АТФ			
<i>C. pisiformis</i>	день	14	20	35	90
	ммоль/л	0,336±0,051	0,629±0,027	0,735±0,047	0,089±0,031
<i>C. tenuicollis</i>	день	15	25	40	180
	ммоль/л	0,412±0,047	0,764±0,042	0,759±0,038	0,054±0,015

Хорошо выражено повышение уровня АТФ в цистицерках, приходящееся на 14-35 день и 15-40 день (интенсивный органогенез и созревание цистицерков). В дальнейшем образование АТФ значительно понижается. Мы предполагаем, что, достигнув инвазионной зрелости, у личиночных форм тений значительно снижается интенсивность обменных процессов - период покоя.

Основными источниками синтеза АТФ являются углеводы, жиры, менее значимы белки.

Одним из интегральных показателей состояния внутренней среды, отражающим обмен в организме углеводов, белков и жиров, является уровень глюкозы. Глюкоза является не только энергетическим субстратом, необходимым для синтеза жиров и белков, но и источником их синтеза.



При биохимическом исследовании *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* оказалось, что во внутрипузырной жидкости как цистицерков пизиформных, так и цистицерков тенуикольных содержится большое количество глюкозы (таблица 2, 3).

Таблица 2 – Изменение углеводного состава внутренней жидкости

C. pisiformis от кроликов в онтогенезе

Показатели	Единицы измерения	День с момента заражения		
		20-й	35	90
Глюкоза	ммоль/л	5,29±0,88	7,13±1,02	7,88±0,74
Лактат	ммоль/л	0,81±0,07	1,43±0,13	2,47±0,29
Пируват	мкмоль/л	73,91±3,06	52,07±2,88	32,47±1,25

Таблица 3 – Изменение углеводного состава внутренней жидкости

C. tenuicollis от овец в онтогенезе

Показатели	Единицы измерения	День с момента заражения		
		25	40	180
Глюкоза	ммоль/л	4,46± 0,25	4,79± 0,24	4,88± 0,17
Лактат	ммоль/л	1,02± 0,06	1,83± 0,08	3,81± 0,06
Пируват	мкмоль/л	58,04±2,31	46,32±3,02	39,14±2,15

Уровень глюкозы, содержащийся во внутрипузырной жидкости цистицерков пизиформных и тенуикольных, находится в концентрации, превышающей ее содержание в организме инвазированных животных. К моменту достижения инвазионной зрелости (35-й день) во внутрипузырной жидкости цистицерков пизиформных содержалось около 7,13 ммоль/л глюкозы, в сыворотке крови экспериментально инвазированных животных ее концентрация не превышала 4,36-5,61 ммоль/л. То есть уровень глюкозы в цистицеркозной жидкости на 29,87% выше, чем в крови животных-хозяев.

Окраска 40-дневных тенуикольных цистицерков методом Шабадаша позволила установить, что все структурные элементы сколекса содержат углеводные компоненты. Красно-фиолетовый цвет выявленных углеводных компонентов в оболочке сколекса и в его паренхиматозной ткани позволяет



предполагать, что это гликоген. Следовательно, к 40-му дню развития ткани сколекса цистицерков высоко насыщены гликогеном, который распределен равномерно по всему его объему (рисунок 1).



Рисунок 1 – Сколекс цистицерка tenuicollis, 40 дней развития.

Окраска по Шабдашу, 10x20.

Окисляясь, углеводы высвобождают энергию, которая расходуется клеткой на все процессы жизнедеятельности. Любой организм обладает свойством запасать углеводы впрок до того времени, когда потребуется значительное их количество для выполнения определенной работы, которая потребует затрат энергии. Исследование сколекса спустя 180 дней после экспериментального заражения гистохимическими методами, также обнаружило насыщение его тканей углеводными компонентами (рисунок 2).



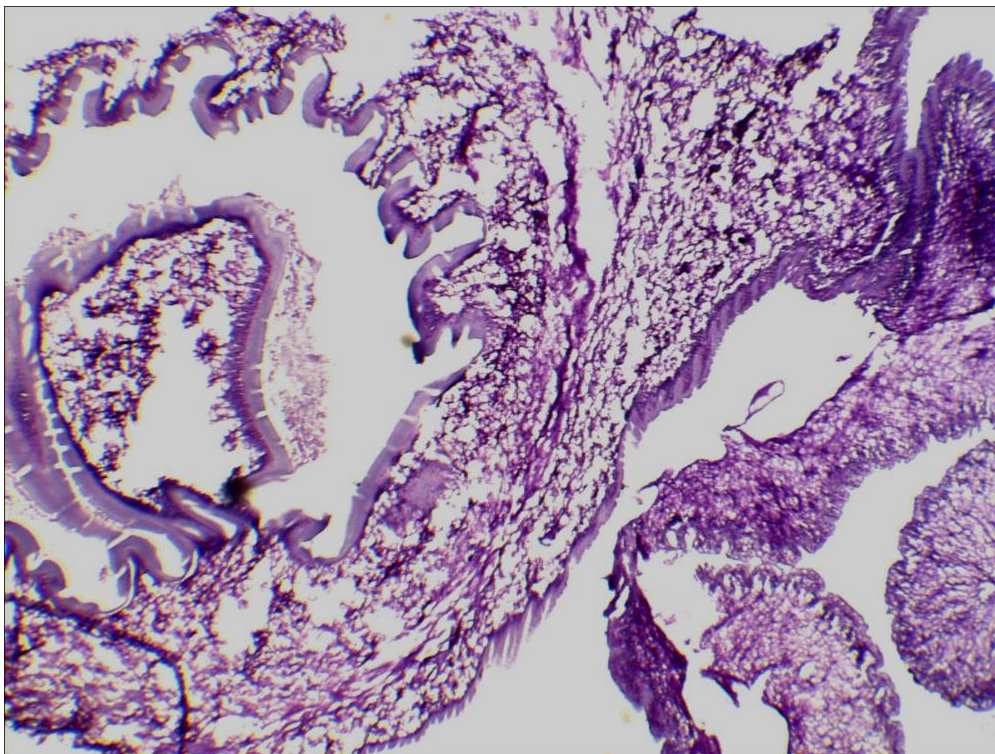


Рисунок 2 – Сколекс цистицерка tenuicollis, 180 дней развития.

Окраска по Шабдашу, x10.

Сопоставляя интенсивность и плотность окраски тканей сколекса цистицерков на 40-й и 180-й день развития, можно заключить, что уровень насыщения тканей гликогеном к моменту достижения ими инвазионной стадии и спустя полгода развития практически идентичны.

Наличие углеводных компонентов также установлено нами и во внутренней оболочке цистицерков. При этом сопоставление плотности и интенсивности окраски цистицерков на 40-й и 180-й день развития позволяет утверждать, что по мере развития в оболочке цистицерков уровень гликогена не снижается, а даже происходит некоторое накопление гликогена (рисунок 3, 4).

Не менее важным источником для синтеза АТФ являются жиры. Нами установлено наличие жировых компонентов в тканях цистицерков, а также во внутрипузырной жидкости *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* (таблица 4, 5).



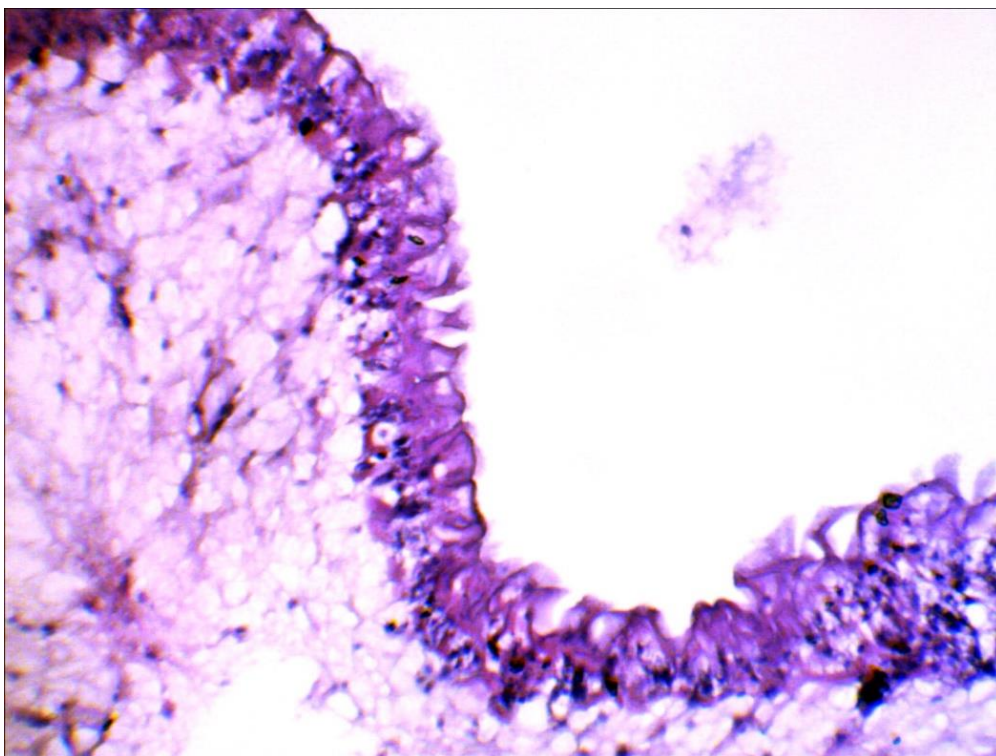


Рисунок 3 – Оболочка цистицерка tenuicollis, 40 дней.

Окраска по Шабдашу, x10.

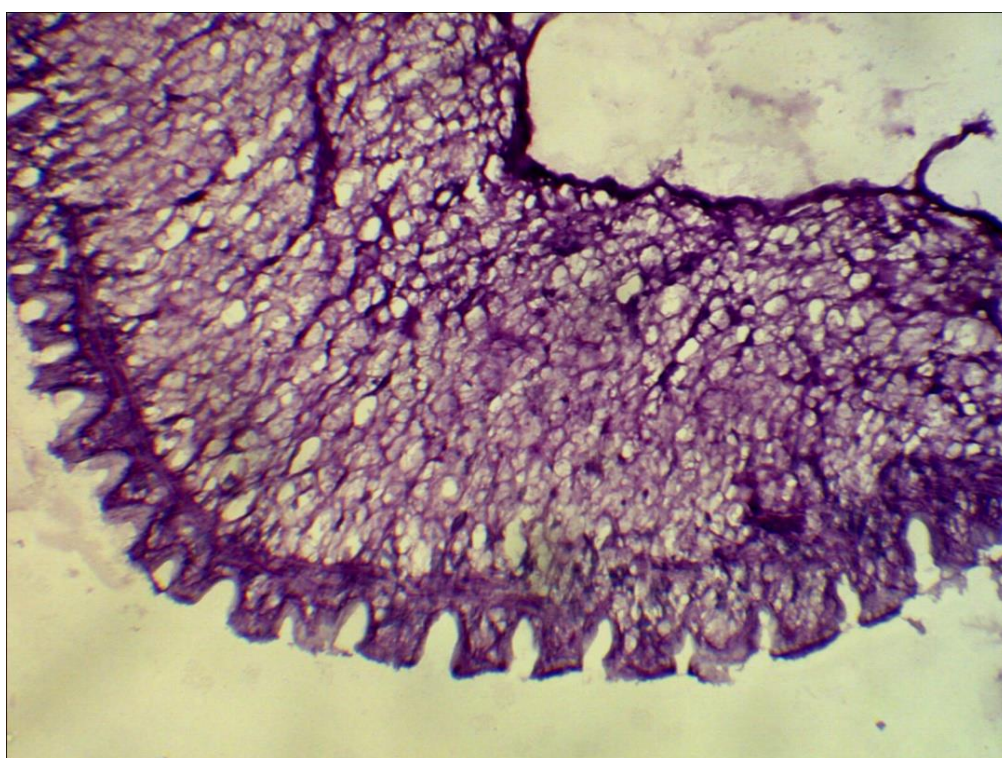


Рисунок 4 – Оболочка цистицерка tenuicollis, 180 дней развития.

Окраска по Шабдашу, x40.



Таблица 4 – Изменение липидного состава внутренней жидкости *C. pisiformis* от экспериментально инвазированных кроликов в онтогенезе

Показатели	Единицы измерения	День с момента заражения		
		20-й	35	90
Общие липиды	г/л	0,264±0,028	0,358±0,033	0,209±0,019
Холестерол	ммоль/л	0,18±0,009	0,36±0,037	0,08±0,015
Триглицериды	ммоль/л	0,116±0,011	0,175±0,016	0,123±0,013

Таблица 5 – Изменение липидного состава внутренней жидкости *C. tenuicollis* от овец в онтогенезе

Показатели	Единицы измерения	День с момента заражения		
		25	40	180
Общие липиды	г/л	0,30±0,049	0,51±0,032	0,275±0,051
Холестерин	ммоль/л	0,56±0,05	0,24±0,02	0,091±0,03
Триглицериды	ммоль/л	0,014±0,006	0,025±0,004	0,096±0,007

Липиды свободные или в виде липопротеидных комплексов входят в состав мембран и оболочек клеток, кроме того, выполняют роль энергетического резерва. При окислении 1 грамма липидов выделяется 39 кДж/моль энергии, что в 2 раза больше, чем при окислении 1 г углеводов. Однако необходимо отметить крайне низкое содержание липидов во внутрипузырной жидкости на всех стадиях развития *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* (таблица 4, 5).

Окраска цистицерков тениюкольных на 40-й день развития Суданом III выявила наличие жировых компонентов как в тканях сколекса, так и во внутренней оболочке цистицерка (рисунок 5, 6).

Обращает на себя внимание неравномерность распределения жировых элементов в тканях сколекса. Интенсивное окрашивание в желто-оранжевый цвет установлено в тканях спиралевидного канала. Ткани, формирующие ворсинки сколекса, окрашиваются в выражено желтый цвет. Также желтый цвет отмечается в слое мышечных волокон. При этом соединительная ткань сколекса не имеет выраженного восприятия Судана III, паренхима выглядит бледной, с легким голубоватым оттенком (рисунок 5).



Внутренняя оболочка цистицерков Суданом III окрашивается по всей ширине среза. Однако центральная часть оболочки окрашивается заметно интенсивней, в ней четко видно большое количество ярко-желтых зерен (рисунок 6).

Поскольку при использовании Судана III в интенсивно желтый цвет с оранжевым оттенком окрашивается холестерол и его эстеры, а в бледно-желтый цвет – фосфолипиды, можно утверждать, что в центральной части внутренней оболочки, а также в тканях спиралевидного канала (центр сколекса) наибольшее количество жировых элементов составляет холестерол. Периферические ткани как сколекса, так и внутренней оболочки окрашиваются в бледно-желтый цвет – жировые вещества представлены фосфолипидами.

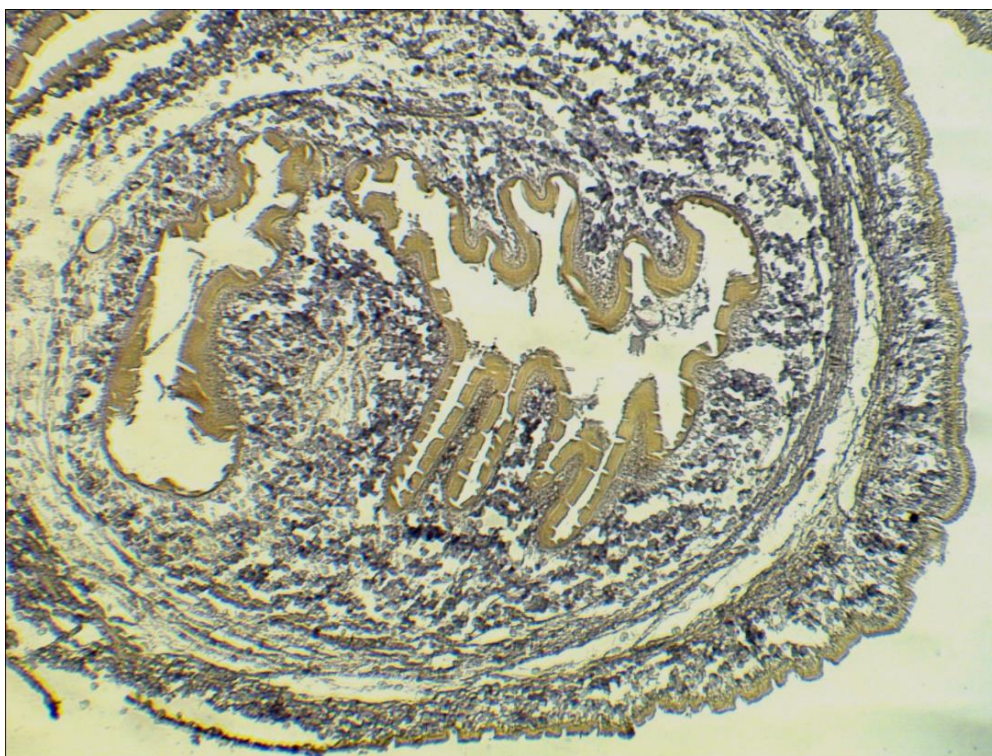


Рисунок 5 – Сколекс цистицерка tenuicollis, 40 дней развития.

Окраска Суданом III, x10.



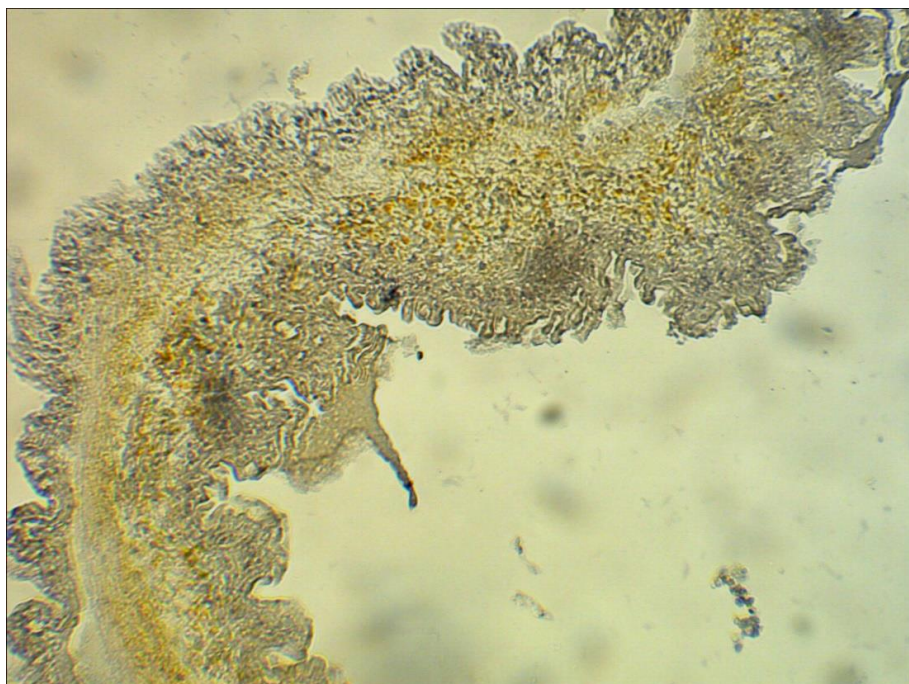


Рисунок 6 – Внутренняя оболочка цистицерка tenuicollis на 40 день развития. Окраска Суданом III, x40.

Необходимо отметить, что при окрашивании гистосрезов цистицерков tenuicollis на 180-й день развития Суданом III интенсивность окраски тканей значительно снижена по сравнению с 40-м днем (рисунок 7).

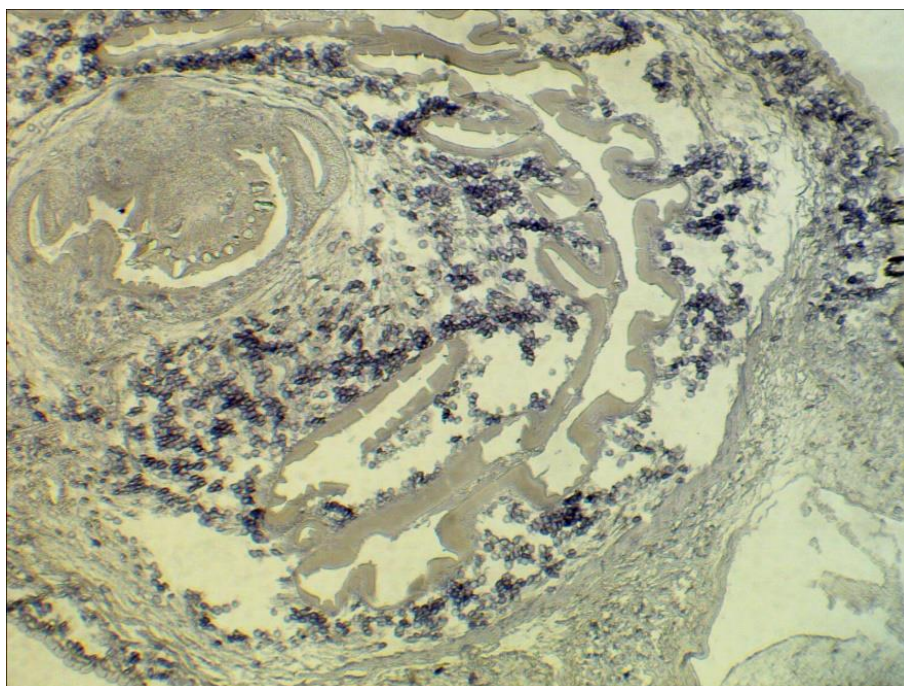


Рисунок 7 – Сколекс цистицерка tenuicollis, 180 дней развития. Окраска Суданом III, x10.



Если ткани спиралевидного канала и ворсинок имеют слегка желтоватый оттенок, то вся остальная часть сколекса не воспринимала Судан III, следовательно, в паренхиме сколекса к 180-му дню значительно снизилось содержание жировых веществ. Внутренняя оболочка цистицерков при окраске Суданом III также выглядит очень бледной, с незначительным желтоватым оттенком центральных тканей (рисунок 8).

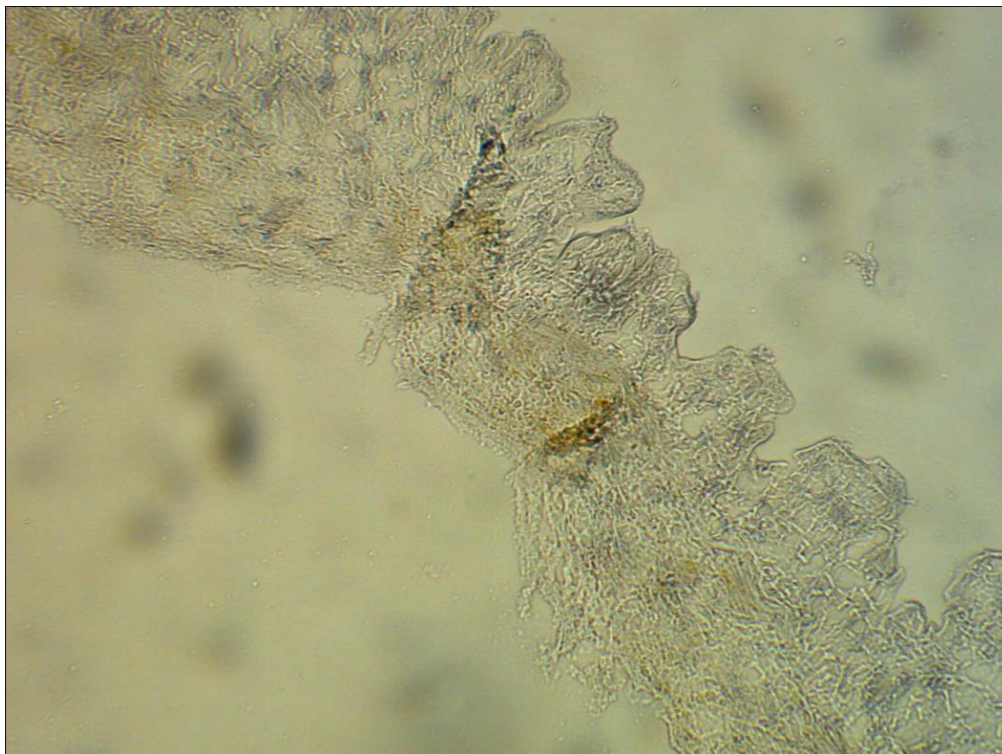


Рисунок 8 – Внутренняя оболочка цистицерка tenuicollis, 180 дней развития. Окраска Суданом III, x40.

Полученные результаты гистохимических исследований позволяют утверждать, что к 180-му дню развития цистицерков tenuicollis уровень насыщенности их тканей жировыми веществами резко снижается. Поскольку основными выявленными жировыми веществами в тканях цистицерков являются холестерол и фосфолипиды, выполняющие в большей степени структурную роль (при этом практически отсутствуют нейтральные жиры – энергетические компоненты), можно утверждать, что выявленные жировые



компоненты не несут существенной энергетической нагрузки. Следовательно, резонно предположить, что жировые вещества расходовались на обновление биологических мембран клеток тканей цистицерков. Биологические мембраны всех без исключения клеток состоят из фосфолипидов и холестерина. Как было установлено нами, основными клеточными элементами сколекса и оболочки цистицерка являются фибробласты. Продолжительность жизни нормальных фибробластов составляет 3 недели, в состоянии покоя продолжительность жизнеспособности их возрастает до 5 недель. Даже в период покоя фибробласты должны обновляться в среднем раз в 30-35 дней, а это требует расхода липидных компонентов, что и обуславливает расход жировых веществ, накопленных на стадии органогенеза и созревания.

Окраска цистицерков тенеикуловых Суданом III и методом Браше выявила наличие в сколексе внеклеточных образований – гранул, которые не выявлялись при окраске личинок другими методами (рисунок 9, 10).

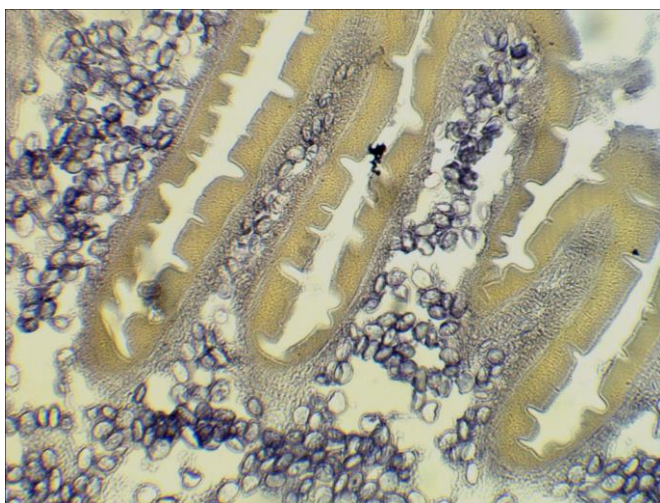


Рисунок 9. – Сколекс 40 дней развития. Окраска Судан III, x40

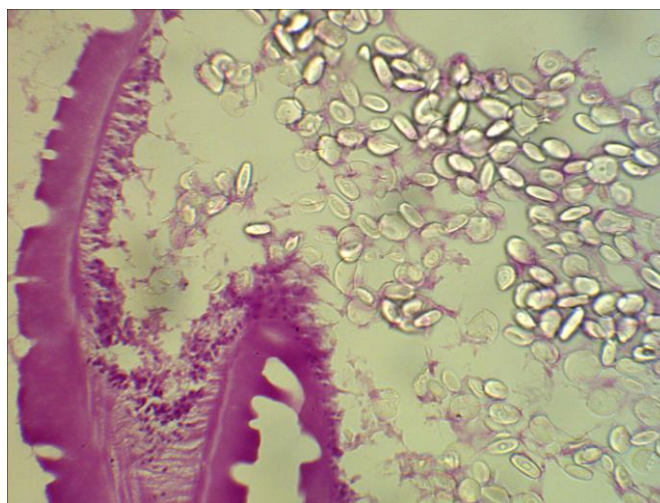


Рисунок 10. – Сколекс 40 дней развития. Окраска по Браше, x40

Общее количество гранул, их размер, структура не подвергались изменению в процессе онтогенеза. Поскольку гранулы обнаруживаются только при гистохимических методах окраски, позволяющих выявлять жировые и



белковые структурные элементы, резонно предположить, что они по своей структуре являются липопротеинами. Возможно, это одна из форм запасаания энергетического материала, необходимого личиночным формам в момент гибели промежуточного хозяина и до их попадания в организм дефинитивного хозяина. Как было ранее показано, цистицерки насыщены высоко энергетическим углеводом – гликогеном. Гликоген накапливается в период интенсивного роста и не расходуется в периоде покоя личинок. При разрыве связи между хозяином и личинкой, при гибели хозяина гликоген поддерживает жизнеспособность и инвазионность цистицерка до передачи другому хозяину. Однако весь запас гликогена расходуется в течение 24 часов. Данного времени не всегда достаточно для успешного заражения дефинитивного хозяина. В тех случаях, когда не произошло быстрой передачи цистицерков от промежуточного к дефинитивному хозяину, возможно, и используются липопротеины, запасенные во внеклеточных гранулах. Как показали наши исследования, цистицерки теньюкольные, извлеченные из организма овец, сохраняют жизнеспособность на протяжении 72 часов, т.е. времени достаточно для их обнаружения и заглатывания плотоядными [8, 9].

Нами установлено наличие пировиноградной и молочной кислоты в пузырьной жидкости цистицерков пизиформных и теньюкольных (таблица 2, 3). Обращает на себя внимание тот факт, что к 35-му дню развития *C. pisiformis* содержание лактата во внутрипузырной жидкости увеличено по сравнению с 20-м днем практически в 1,7 раза, а к 40-му дню – в 3,0 раза. В это же время отмечается снижение концентрации пировиноградной кислоты. Следовательно, можно утверждать, что по мере развития цистицерков происходит снижение окислительно-восстановительного потенциала их тканей и нарастает гипоксическое состояние. Мы предполагаем, что интенсивный рост тканей цистицерков, на стадии органогенеза, опережает рост капиллярной сети. Это создает анаэробные условия и ведет к накоплению лактата в результате активных процессов гликолиза [10].



Роль липидов в качестве биологически доступной энергии зависит от окислительного потенциала среды. В аэробных условиях при избытке доступного кислорода углерод полностью окисляется с выделением CO_2 . При снижении потенциала среды до $-0,4$ окисление углеводов становится неполным, энергетически все менее выгодным и, в конце концов, невозможным. В анаэробных условиях липиды теряют свою энергетическую ценность и являются только метаболическими отходами. Эту схему можно представить в виде рисунка 11.

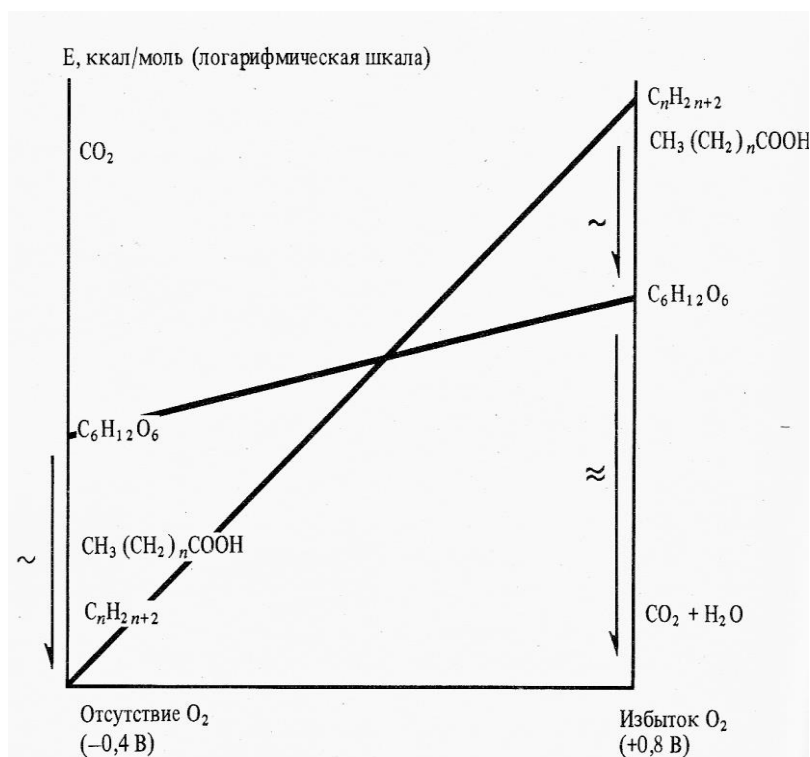


Рисунок 11. — Изменение доступной энергии углеводов и липидов в зависимости от окислительного потенциала среды (по Ф.Ф. Сопрунову)

Проведенные нами исследования показали развитие выраженных анаэробных условий в цистицерках, которые по мере их развития только усугубляются. Следовательно, низкий окислительно-восстановительный потенциал внутренней среды цистицерков не позволяет использовать



имеющиеся липиды в качестве источника биодоступной энергии, а значит, отсутствует необходимость их накопления как источников энергии.

Таки образом, сопоставив общее содержание липидов с уровнем глюкозы во внутрипузырной жидкости цистицерков пизиформных и tenuicollis, можно сделать вывод, что в условиях недостаточной обеспеченности тканей личинок кислородом гликолиз становится основным источником АТФ.

Заключение. В цистицерках создается среда с постоянно высоким уровнем глюкозы. По мере развития *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* избыточное содержание глюкозы в их внутренней среде аккумулируется в гликогене, что подтверждается гистохимически.

Значительный рост уровня лактата в цистицеркозной жидкости свидетельствует об усилении анаэробных условий. Следовательно, по мере развития цистицерков происходит снижение окислительно-восстановительного потенциала тканей цистицерков и нарастает гипоксическое состояние. В условиях гипоксии гликолиз становится важнейшим источником энергии для цистицерков тениид.

Выявленные жировые компоненты в тканях цистицерков не несут существенной энергетической нагрузки, а являются в основном пластическим материалом и метаболическими отходами.

Литература

1. Дубина И. Н. Цестодозы животных (общие и прикладные аспекты) : монография / И. Н. Дубина, А. И. Ятусевич. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 406 с.
2. Дубина И. Н. Личиночные цестодозы животных Беларуси и методы борьбы с ними / И. Н. Дубина, Н. Ф. Карасев // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2003. – № 1. – С. 16-18.



3. Артишовский А. А. Гистология с техникой гистологических исследований / А. А. Артишовский, А. С. Леонтьев, Б. А. Силка. – Минск : Высшая школа, 1999. – 201 с.
4. Неменкова Ю. М. Методы лабораторных клинических исследований / Ю. М. Неменкова. – Москва : Медицина, 1972. – 424 с.
5. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.]. – Москва : Медицина, 1987. – 368 с.
6. Жаков М. С. Анализ патологоанатомического вскрытия животных / М. С. Жаков. – Минск : Ураджай, 1977. – 128 с.
7. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Ленинград : Медицина. Ленинградское отделение, 1969. – 423 с.
8. Дубина И. Н. Проблема личиночных цестодозов животных / И. Н. Дубина // Ветеринарная наука – производству : научные труды. – Минск, 2007. – Выпуск 40. – С. 201-207.
9. Дубина И. Н. Эндогенная интоксикация при личиночных цестодозах и ее влияние на качество продукции / И. Н. Дубина // Ученые записки УО ВГАВМ. – Т. 48. – Выпуск 2. – Ч. 1. – 2008. – С. 63-65.
10. Дубина И. Н. Изменение морфологической структуры цистицерков (*C. pisiformis*, *C. tenuicollis*) в процессе онтогенеза / И. Н. Дубина // Экология и животный мир : международный научно-практический журнал. – 2019. – № 2. – С. 15-19.

