

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО, ВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА И
ПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

**КЫРГЫЗСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЖИВОТНОВОДСТВА, ВЕТЕРИНАРИИ И ПАСТБИЩ**

На правах рукописи

УДК 619.618.995.1.036.2

Чокморова Эркингул Элдияровна

**МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АНТИГЕЛЬМИНТИКОВ
(полимедол, мезизин, селсурвин, бензамедь, галкарамин)**

03.00.19- паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Бишкек 2002

Работа выполнена в отделе паразитологии Кыргызского научно-исследовательского института животноводства, ветеринарии и пастбищ и в Кыргызской государственной медицинской академии и на кафедре химии Жалал-Абадского государственного университета.

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Б.К. КАСЫМБЕКОВ

Научный консультант: доктор химических наук, профессор
Ж.А. АДЕНОВ

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Л.Ф. РОМАШЕВА

кандидат ветеринарных наук
У.А. ОРОЗОВ

Ведущая организация: Казахский научно-исследовательский институт ветеринарии (г. Алматы).

Защита диссертации состоится "24" декабря 2002 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 16.02.188 при Кыргызском научно-исследовательском институте животноводства, ветеринарии и пастбищ (Адрес: 720021, г.Бишкек, ул.Токтогула, 80).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызского научно-исследовательского института животноводства, ветеринарии и пастбищ.

Автореферат разослан "20" мая 2002 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук,
профессор

А.О. Осмонов

А.О. ОСМОНОВ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1. Актуальность темы диссертации. В настоящее время в практике гельминтологии синтезируются и применяются многочисленные химические вещества, которые обладают теми или иными антигельминтными свойствами. Действие того или иного препарата на организм животного и на гельминтов проверяют по заказу фирмы-поставщика.

В последние годы в бывшем Кыргызском государственном научно-исследовательском контрольном институте ветеринарии, в тесном содружестве с химиками, фармакологами и токсикологами республики апробированы следующие антигельминтики: фенотиазино-фосфатная солевая смесь с микроэлементами (фенфосс); поли – 1,3 диметилена-салицилат меди (II) и олова (II) (полимедол), пиперазин сульфата меди декагидрат (медизин), селенисто-сурьмянистовинная кислота (селсурвин), диаквдобензиллидазолосульфат меди (II) (бензамедь) и N – (β-Д-галактопиранозил – карбамоил) диэтилендиамин (галкарамин).

Антигельминтная активность вышеназванных препаратов на животных смешанными инвазиями (цестодогами и нематодами) изучена в экспериментальных и производственных условиях (К.Исмаилов, 1973; А.О.Осмонов, 1999; М.Бабакулов, 2001; Б.Касымбеков, 2002; М.Арзыбаев, 2002; Р.С.Салыков, 2002 и др.). Однако механизм действия этих препаратов мало изучен, поэтому выяснение данного вопроса представляет большой научно-практический интерес и дополняет существенный информационный пробел фармацевтических оценок современных антигельминтиков.

2. Связь темы диссертации с планом научно-исследовательской работы. Исследования, выполненные диссертантом, явились составной частью двух тематических планов научно-исследовательской работы лаборатории гельминтологии (с 2000г. отдел паразитологии) Кыргызского государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарии: (08) "Конструирование новых лекарственных форм антигельминтиков с использованием матричных носителей" за 1996-1999гг (№ госрегистрации 0000776) и (08) "Создание экологически безопасных лекарственных форм антигельминтиков" за 2000-2003гг (№ госрегистрации 0001379).

3. Цель и задачи исследований. Цель настоящей работы – изучение механизма действия антигельминтиков (полимедола, медизина, селенисто-сурьмянистовинной кислоты, бензамеди и галкарамина) на гельминтов и организм животных.

Основные задачи исследований:

- изучить двигательную функцию гельминтов (фасциол, моннезий и аскаридий) в норме и после применения антигельминтиков;
- изучить взаимоотношения гельминтов с организмом хозяина;

- определить влияние антигельминтных препаратов на активность ряда ферментативных процессов гельминтов;
- испытать новые соединения на антигельминтную активность, экономическую эффективность и внедрение их в производство.

4. Научная новизна полученных результатов. Впервые нами изучен механизм действия антигельминтиков: полимедола, мезизина, селсурвина, бензамеди и галкарамина. Последние три соединения испытаны на антигельминтную активность. Результаты научных исследований показали высокий антигельминтный эффект при мониезиозах и трихостронгилидозах овец и аскаридозе свиней.

Разработан способ лечения и профилактики смешанной мониезиозо-трихостронгилидозной инвазии и подана заявка на изобретение в Кыргызпатент.

5. Практическая значимость полученных результатов. Методика изучения пищеварения и движений гельминтов *in vitro* может быть использована для предварительного изыскания наиболее гельминтоцидных веществ, которых в дальнейшем следует испытывать на животных.

В ветеринарную клиническую практику предложены новые антигельминтики: селсурвин, бензамедь и галкарамин, синтезированные на базе местного сырья минерального происхождения.

Нами изучены: антигельминтная активность и экономическая эффективность препаратов.

По материалам исследований разработано "Временное наставление по применению бензамеди и галкарамина при смешанных мониезиозо-трихостронгилидозных инвазиях" и галкарамин внедрен в хозяйстве Сузакского района Жалал-Абадской области.

6. Экономическая значимость полученных результатов. Предложенные антигельминтики (селсурвин, бензамедь и галкарамин) – по антигельминтной эффективности не уступают зарубежным аналогам, а по цене в пять раз дешевле и изготавливаются из местного сырья.

При полной разработке нормативно-технических документаций эти препараты можно реализовать в местном рынке для дегельминтизации животных.

7. Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Результаты скрининга антигельминтных препаратов, основанные на данных физиологии, биохимии гельминтов: *Fasciola hepatica*, *Moniezia expansa*, *Ascaris suum*.

2. Определение воздействия антигельминтных препаратов (полимедол, мезизин, селсурвин, бензамедь, галкарамин) до и после испытаний в условиях *in vitro*.

3. Результаты степени активности антигельминтиков ряда ферментативных процессов гельминтов.

4. Оценка влияния химических соединений – селсурвина, бензамеди и галкарамина на антигельминтную активность и определение экономической эффективности испытуемых препаратов.

8. Личный вклад соискателя. Вся экспериментальная часть диссертационной работы выполнена автором под руководством научного руководителя в условиях лаборатории гельминтологии Кыргызского ГНИКИВ и на кафедре химии Жалал-Абадского государственного университета, а также в крестьянских хозяйствах Сузакского района Жалал – Абадской области.

Некоторые фрагменты из указанных разделов выполнены нами в соавторстве:

- исследования по определению токсичности новых соединений проведены совместно с М.А. Арзыбаевым;
- среда и условия обитания кишечных гельминтов изучены совместно с С.С. Кожакматовой;
- испытания новых антигельминтиков и производственная проверка проведены совместно с М.Б. Бабакуловым, Б.К. Эрназаровой, Б.К. Касымбековым, М. Арзыбаевым.

9. Аprobация результатов диссертации. Материалы диссертации доложены и одобрены на заседаниях ученого совета Жалал-Абадского государственного университета (1999, 2002 гг.); расширенном заседании лаборатории гельминтологии, отдела паразитологии Кыргызского государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарии (1999, 2002 гг.); международной конференции "Наука и новые технологии" (г. Бишкек, 2000 г.); межведомственной научно-практической конференции, посвященной 50-летию со дня основания Жайылской зональной государственной ветеринарной лаборатории (2001 г.); в нормативных документах КГНИКИВ, вып. 1,2. (2001-2002 гг.).

10. Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе одна брошюра (3,3 п.л.). По результатам исследований заявлен 1 патент в Кыргызпатенте.

11. Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений.

Работа иллюстрирована 19 таблицами, 3 диаграммами, 7 наблюдательными листами и 4 фотографиями. Список литературы содержит 144 источника, в том числе 16 иностранных авторов. Приложение на 14 страницах.

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы представлены сведения об актуальности проблемы исследования механизма действия антигельминтиков на примере 13 ранее изученных препаратов. Дается анализ и пути проникновения препарата, его действие на гельминтов. Подробно представлены работы, характеризующие положение дел в области изыскания новых антигельминтных средств и необходимость дальнейшего углубленного гельминтологического, фармакологического и биохимического исследования новых антигельминтных препаратов.

Глава 2. Выбор принятого направления

Выбор принятого направления основан на литературных источниках: чтобы проявить свое действие, антигельминтный препарат прежде всего должен проникнуть в организм гельминта. Пути проникновения препарата в организм паразита различны и зависят от ряда условий (растворимости препарата, способа питания гельминта).

Некоторые антигельминтики, например, фенасал, хлорорганические соединения – это типичные протоплазматические яды, полностью денатурирующие структуры клеток.

По биологической классификации А.И.Кротова (1973) антигельминтные препараты меди относятся к средствам, действующим, преимущественно, на энергетические процессы гельминтов, подавляющие гликолиз.

Схема классификации антигельминтиков по механизму действия рациональна и полезна на данном этапе изучения вопросов, но пока еще требует дополнительных экспериментальных и теоретических аргументаций. Возможно, эти антигельминтные препараты понижают или вовсе подавляют восприятие продуктов обмена веществ.

Появилась необходимость дальнейшего углубленного гельминтологического, фармакологического и биохимического исследований новых антигельминтных препаратов, разработанных лабораторией гельминтологии Кыргызского государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарии, и тем самым раскрыть некоторые вопросы механизма антигельминтного действия.

Работы по изучению механизма действия антигельминтных препаратов проводились с 1999 по 2002 гг. Исследования проведены в лаборатории гельминтологии Кыргызского государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарии, на кафедре естественно-научных дисциплин Кыргызской государственной медицинской академии, на кафедре химии Жалал-Абадского государственного университета, в фермерских и крестьянских хозяйствах Сузакского района Жалал-Абадской области.

Для установления видового состава гельминтов, а также выяснения среды их обитания проводили полное гельминтологическое вскрытие

отдельных органов животных, поступивших в Бишкекские и Жалал-Абадские убойные пункты. Всего обследовано 715 экз. лечени от крупного рогатого скота, 516 комплектов кишечника от овец и 614 комплектов кишечника от свиней разных половозрастных групп, из них для определения видовой принадлежности брали 205 экз. гельминтов, из которых 85 экз. отнесены к фасциолам, 55 – к мониезиям и 65 – к аскаридиям.

Собранных гельминтов фиксировали: нематод – в жидкости Барбагалло, трематод и цестод – в 70° спирте, затем этикетировали.

Для определения вида гельминтов мы использовали “Определитель гельминтов мелкого рогатого скота” В.М.Ивашкина, А.О. Орипова, М.Д. Сонины (1989).

Для лабораторного исследования живых фасциол получали из желчных ходов печени крупного рогатого скота, мониезией – из тонкого отдела кишечника овец, аскарид – из тонкого отдела кишечника свиней и доставляли в лабораторию в растворе Кротова (1961) в термосе при температуре 37°С.

В лаборатории их тщательно промывали тем же раствором и содержали в термостате (37°С) по 10-15 экз. на 500 мл раствора Кротова с добавлением на 100 мл 100000 ЕД ленициллина и 200000 ЕД стрептомицина или акрихина 1:100000, которые задерживают развитие микрофлоры. Раствор меняли 2-4 раза в сутки. Фасциолы в этих условиях сохраняли подвижность до 12 дней, мониезии – до 9 и аскариды – до 13 дней, но для экспериментов их использовали лишь в первые сутки.

Нами проведена работа по методике визуальных наблюдений В.И.Ткач, А.Щербакова, А.И.Кротова, 1965; А.О.Осмонова, 1971 в следующей последовательности:

- визуальные наблюдения за движениями тела фасциол, головного конца, ротовой и брюшной присосок проводили в чашке Петри, которую помещали в термостатическую ванну, где фасциола находилась между стеклами в растворе Кротова при температуре 37°С;

- для наблюдения за движением мониезий брали головки и средние стробилы и помещали их в чашки Петри;

- для изучения движения аскарид брали целых половозрастных гельминтов, которых помещали в эмалированные кюветки размером 15х20х5 см, заполненные раствором Кротова с осмотическим давлением, эквивалентным 225 мМ NaCl, что соответствует осмотическому давлению мышечной ткани нематод – 223 мМ NaCl (А.И.Кротов, 1956). Раствор имеет рН 7,3-7,4, он содержит 0,84% NaCl, по 0,2% CaCl₂, KCl, Na₂CO₃ и 0,1% глюкозы. Раствор готовили на водопроводной воде.

Наблюдение вели под бинокулярной лупой. Результаты записывали в специальный наблюдательный листок.

Предварительно, до воздействия антигельминтного препарата, регистрировали условно среднюю норму движений гельминтов в течение 15-30 мин. Каждый опыт длился не менее 1-2 часов. Испытуемые вещества в

разведенном состоянии (10^{-4} ; 10^{-3} ; 10^{-2}) добавляли в чашки Петри (у аскарид в кюветки) с таким расчетом, чтобы создать необходимую концентрацию. Во всех опытах рН растворов был в пределах 7,0-8,0. Каждый опыт повторяли 10 раз. В процессе работы провели 3 опыта, визуальные наблюдения проведены над 1150 гельминтами.

Летальный исход определялся отсутствием реакции у гельминтов на "обтекающий ток" (В.И. Ткач, А.Г. Щербакова, А.И. Кротов, 1965).

Биохимические исследования по выяснению влияния вышеназванных препаратов на ферментативную активность фасциол, мониезий и аскаридий изучали на гомогенатах, приготовленных из свежесобранных гельминтов путем растирания их в холодной среде в стеклянном гомогенизаторе с тефловым пестиком. Ввиду плохой растворимости некоторых препаратов в воде, их вносили в реакционную смесь в спиртовом растворе до конечной концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М. Контролем служили пробы без препарата (норма) и пробы, в которых вместо раствора препарата вносили соответствующее количество эталона (0,05 или 0,1 мл).

Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) определяли колориметрическим методом Хестрина в модификации Панюкова (1966), альдолазы – по методу Сибли и Ленингера в модификации Куланека и Клашки (1961), аминотрансферазы – спектрофотометрическим методом при длине волны 546 нм.

Торможение активности фермента выражали отношением (в процентах) разности активности опытной и контрольной проб к активности контрольной пробы.

Расчет ферментативной активности производился по формуле:

$$A = \frac{[E_x - E_{om}] \cdot n \cdot m}{V \cdot [E_n - E_p]} \cdot K$$

где, E_k - оптическая плотность контрольной пробы;

E_{ot} - оптическая плотность опытной пробы;

E_o - оптическая плотность контрольной пробы без инкубации;

E_p - оптическая плотность реактивов;

V - объем гомогената ткани, взятой в опыт;

n - разведение исследуемой ткани;

m - вес субстрата (количество мг в одном мл раствора);

K - коэффициент для перерасчета миллиграммов субстрата в микромоли (для 0,02 М раствора ацетилхолинхлорида он равен 5,5; бутирилхолиндиоксида - 3,3; пропионилхолиндиоксида - 3,4; бензоилхолинхлорида - 4,1).

Когда активность выражается в миллиграммах субстрата, то $K=1$. При расчете активности фермента по формуле E_o для растворов бутирилхолина, пропионилхолина и бензоилхолина можно не проводить (ввиду отсутствия спонтанного гидролиза), а E_o берется равной $E_k - E_p$.

Состав реакционной смеси (в порядке составления пробы): 1 мл 1,15 М фосфатного буфера с рН 7,8 для определения ацетилхолинэстеразы и рН 8,0

для бутирилхолинэстеразы, 1 мл гомогената, 1,5 мл H_2O , 1 мл 0,02 М раствора избранного субстрата. Контрольные пробы ставили с прокипяченным гомогенатом или вместо гомогената брали воду. Пробы инкубировали в водяной бане при $37^\circ C$ 1 ч. Реакцию останавливали, осаждая белки в 0,5 мл 50%-ной трихлоруксусной кислоты в каждой пробе. Общий объем проб и контролей равнялся 5 мл. В 1 мл трихлоруксусного фильтра методом Хестрина определяли количество субстрата, оставшегося нерасщепленным холинэстеразой. Активность фермента рассчитывали по формуле, описанной выше (А.Н. Панюков, 1966).

С лечебной целью при цестодозах и нематодозах овец были испытаны галкарарамин (N (β-D - галактопиранозил-карбамоил) диэтилендиамин и бензамедь (диаквондобензиллидазолосульфат меди (II)), селсурвин – при аскаридозе свиней. Препараты синтезированы в Институте химии и химических технологий Национальной академии наук Кыргызской Республики и Кыргызской государственной медицинской академии. Способ лечения и профилактики смешанных мониезиозо-трихостронгилидозных инвазий разработан в Кыргызском государственном научно-исследовательском контрольном институте ветеринарии и Жалал-Абадском государственном университете.

Цифровые данные, полученные в ходе выполнения работы, подвергнуты биометрической обработке по методам Р.С. Щульца (1933), И.А. Архипова (1989) и И.П. Плохинским (1961). Экономическая эффективность испытанных препаратов определялась по "Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий" (ВАСХНИЛ, М., 1982).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Глава 3. Действие антигельминтиков на двигательную функцию гельминтов

Заражение животных гельминтами вызывает у них различные заболевания, протекающие весьма тяжело, иногда кончающиеся падежом или вынужденным убоем.

Большинство гельминтов ведет подвижный образ жизни. Среди разнообразных мест их обитания наиболее постоянным является среда пищеварительного тракта животных.

Для выяснения данного вопроса нами проведено гельминтологическое вскрытие животных, в соответствии с инструктивными документами, в период наибольшего подъема инвазии. Для опыта использовали фасциолы, взятые в зимний период, а мониезии и аскариды – в летне-осенний период года.

Перед испытанием тех или иных химических веществ необходимо было рассматривать условия, при которых протекает жизнь гельминтов в кишечном тракте дефинитивного хозяина.

Установлено, что кишечный сок, выделяемый бруннеровыми и либеркюневыми железами, расположенными по всему тонкому кишечнику, представляет собой бесцветную жидкость слабощелочной реакции с pH 7,4-7,6 и содержит около 2-3 % сухого вещества. Кишечный сок содержит ферменты: эрепсин (смесь различных пептидаз, расщепляющих пептоны и полипептиды), липазу, амилазу, мальтазу и лактазу.

Несомненно, что гельминты, обитающие в кишечном тракте, способны переносить довольно резкие колебания кислотности внешней среды (организма животного). Эти данные мы учитывали при отборе антигельминтных препаратов.

Питание гельминтов. Питание фасциол зависит от времени проникновения их в печень, которое совпадает с острым и хроническим течением фасциолеза. Фасциолы 5-20 -дневного возраста в период миграции травмируют слизистую оболочку кишечника и, проникая в кровеносную систему, нарушают циркуляцию крови на отдельных участках печеночных клеток. В этот период они питаются эритроцитами, частично лейкоцитами.

Продвигаясь по печеночной ткани (в 1-2 -месячном возрасте) они разрушают ткань, паренхиму, капилляры и желчные протоки. Образуют ходы, которые в дальнейшем превращаются в фиброзные тяжи, затем непосредственно вокруг паразита образуется барьерный вал, состоящий из гистиоцитов, лейкоцитов и других клеток соединительной ткани. В дальнейшем фасциолы постепенно переходят в желчные протоки, которые расширяются, и пораженные ткани печеночных клеток приводят к циррозу печени. Этот период совпадает с хроническим течением фасциолеза. Фасциолы живут годами (6-7 лет, в зависимости от возраста животного), питаются не кровью, а содержимым желчных ходов, отторгнутым эпителием и лейкоцитами.

Цестоды. Морфологически выраженная пищеварительная система полностью отсутствует, и они питаются диффузно, всасывая пищу всей поверхностью тела.

Покровная ткань плоских червей, именуемая "тегумент", состоит из трех слоев: отпадающего, блестящего и волокнистого или базального.

Верхний отдел тела плоских червей образуют многочисленные микроворсинки (микровиллы, микротрихии), дистальная часть которых состоит из электронно-плотного материала. Располагаются микроворсинки подобно цветочной кайме кишечного эпителия высших животных.

Весь тегумент пронизан порами, которые переходят в каналцы, доходящие до базальной мембраны. Многочисленные микроворсинки увеличивают всасывательную поверхность тела, а плотные дистальные концы их служат для фиксации к кишечной стенке.

Цестоды не имеют собственных пищеварительных ферментов и предполагается, что они поглощают всей поверхностью своего тела через микроворсинки простейшие продукты гидролиза углеводов, белков и жиров.

Для изучения пищеварения *Mexpanza* мы использовали 100 стробил (средние членики) паразитов. Проникновение питательных веществ определяли путем добавления в жидкость, куда погружены стробилы цестод, капельки эозина. При этом убедились, что 85% стробил поглощали краску преимущественно через микроворсинки, расположенные на наружных покровах.

Таким образом, можно заключить, что наружные покровы служат кишечником у паразитов, которые в большинстве случаев питаются через микроворсинки (микротрихии).

Нематоды. Пищеварительная система и способы питания разнообразны. Морфологически на переднем конце тела нематод расположено ротовое отверстие, обычно окруженное губами, на которых имеются чувствительные сосочки. Рот ведет в глотку, выстланную кутикулой; она имеет мускулистые стенки, которые переходят в кишечник. У аскарид, как и многих других нематод, основную роль в питании играет пищеварительный тракт. На одну клетку кишечного эпителия приходится около 4200-4800 микроворсинок. Этим достигается значительное увеличение адсорбирующей поверхности.

Движение и механизм двигательных реакций. Для изучения двигательных функций нами использована *F.hepatica* (115 особей). При этом установили, что поступательные движения фасциол происходят следующим образом: ротовая присоска совершает осязательные движения и прикрепляется к субстрату, после чего тело сокращается, а брюшная присоска фиксируется недалеко от места прикрепления ротовой. После этого ротовая присоска открепляется и головной конец вытягивается вперед. В среднем за час фасциолы способны передвигаться на 16-17 см, число сокращений тела в минуту равняется 7-8. Нередко головной конец трематод совершает разнообразные поисковые осязательные или пульсирующие движения. Если фасциолы не фиксированы на субстрате, то ротовая присоска ритмично сокращается. Число сокращений колеблется от 24 до 60 в мин. брюшная присоска сокращается реже и медленнее.

При удалении головного конца фасциол поступательные движения полностью прекращаются, но брюшная присоска продолжает сокращаться. Это указывает на то, что ее сокращения не зависят непосредственно от центральной нервной системы.

Фасциолы обладают тактильной и химической чувствительностью, отвечая на раздражения сокращениями различной длительности.

Движения стробилы цестод в растворе Рингера-Локка (в чашке Петри) состоят из интенсивных сокращений и расслаблений отдельных участков; сократительных движений перистальтического характера; латеральных и вентральных изгибов, змеевидных движений, спиралевидных закручиваний.

Нами проведено наблюдение за движениями члеников *M. expansa* 111 особей.

При этом установлено, что свободные присоски головки первоначально вытягиваются в длину, проходят между ворсинками и прикрепляются к другим, расположенным в поле их деятельности. Затем происходит открепление хоботка и оставшихся присосок и перемещение их. Таким образом, цестоды меняют место своей локализации несколько раз.

Двигательные реакции нематод изучали главным образом на аскаридах от свиньи. Наблюдение вели за 111 особями гельминтов, доставленных с убойной площадки г. Бишкек. Аскаридам свойственна свободная локализация в просвете тонкого кишечника и способность активного передвижения, что отличает их от ряда нематод, которые фиксируются на слизистой оболочке пищеварительного тракта или локализуются в других органах и тканях. Основные типы движений: змеевидные изгибы тела, обусловленные попеременным сокращением вентральной и дорсальной мускулатуры, и общее укорочение тела.

Мы наблюдали удлинение и укорочение тела аскарид, которые происходят в первые 40-50 сек. По мере понижения температуры раствора аскариды замедляют расслабление кожно-мышечного мешка.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что методика изучения пищеварения и движений гельминтов *in vitro* может быть использована для предварительного изыскания наиболее гельминтоцидных веществ, которых в дальнейшем следует испытывать на животных.

Определение влияния антигельминтных препаратов на физиологический статус гельминтов проведено на ряде антигельминтиков – полимедола (поли-1,3 диметилсалицилат меди и олова), медицина (пиперазина сульфата меди декагидрат) и селенистосурьмянистовинную кислоту (селсурвин) - на двигательные реакции гельминтов (фасциол, мониезий и аскаридий).

Полимедол в разведениях от 10^{-4} до 10^{-3} вызывал у фасциол значительное повышение тонуса, увеличение амплитуды и учащение ритма сокращений. Реакция фасциол на полимедол проявлялась, как правило, по истечении нескольких минут после введения препарата в среду. Ритмические сокращения сохранялись длительное время (120 мин. и более).

При действии полимедола в концентрации 10^{-2} после 60-90 мин наблюдалось постепенное уменьшение амплитуды, в дальнейшем ритмический характер сокращений нарушался и движения прекращались. С повышением концентрации (10^{-1}) обездвижение фасциол наступало значительно раньше (40-60 мин.). После прекращения движений фасциолы во всех случаях не реагировали на действие тока.

Визуальные наблюдения за реакцией ротовой и брюшной присосок на действие полимедола (10^{-4} , 10^{-3}) показали, что препарат в первую очередь оказывает влияние на ротовую присоску, расслабляя ее мускулатуру. Брюшная присоска первое время часто прикрепляется и открепляется от субстрата, затем также расслабляется.

Наши наблюдения за движениями стробилы цестод в растворе полимедола (10^{-4}) показали, что волны сокращений, проходящие по стробиле, не распространяются на соседние проглотицы, если между ними нарушена нервная система.

В основном полимедол (в концентрации 10^{-3}) парализует нервно-мышечную систему цестод и разрушает их покровные ткани наподобие фенасала.

Разрушение мониезий под действием полимедола начинается со сколекса. Наиболее быстро препарат действует на молодые членики, медленнее на гермафродитные и зрелые. Разрушение мониезий довершают ферменты хозяина.

Полимедол действует также на транспортную функцию тегумента, подавляя всасывание питательных веществ и усиливая экскрецию.

Начиная с концентрации 10^{-4} , раствор полимедола вызывает ритмические сокращения тела аскарид. Эти сокращения появляются как у целых аскарид, так и у различных их фрагментов, его действие проявляется и после наркоза.

Электрическая возбудимость начинает ослабевать, одновременно ослабевают и спонтанные сокращения. В конечном итоге спонтанные движения прекращаются, электрическая возбудимость исчезает.

Полимедол (10^{-3} , 10^{-2}) вызывает судорожные сокращения тела аскарид, выводя их из состояния наркоза; его действие заканчивается параличом мускулатуры и гибелью гельминтов.

Под действием раствора медицина у фасциол, фиксированных за головной конец, увеличивалась амплитуда сокращений и расслабления всего паразита, малые движения головного конца и передней трети тела. Помимо сокращений фасциолы совершают ундулирующие движения боковых полей, которые не всегда удается визуально улавливать.

При удалении головного конца ритмические сокращения временно прекращаются, а через 5 - 30 мин эти движения вновь возобновляются, но характер их иной, чем у целых паразитов.

Медицин в небольших концентрациях (10^{-4}) ведет к резкому усилению движений сколекса и стробилы цестод. При увеличении концентрации (10^{-2}) наступает кратковременное укорочение стробилы, сменяющееся удлинением. Движения присосок сколекса прекращаются, хоботок втягивается в хоботковое влагалище. При отмывании, движения постепенно восстанавливаются.

Начиная с концентрации раствора 10^{-3} , медицин вызывает ритмические сокращения тела аскарид. Электрическая возбудимость сохраняется, а затем начинает ослабевать, одновременно ослабевают и спонтанные сокращения.

Галкарарамин на фасциол в концентрации 10^{-4} видимого действия не оказывал, но при увеличении концентрации препарата до 10^{-2} наблюдалось значительное повышение тонуса мускулатуры, как правило, сопровождающееся значительным уменьшением амплитуды, которая через

30-60 мин. вновь увеличивалась, но мускулатура трематод оставалась в тонусе. Более сильное действие оказывал галкарарамин в концентрации 10^{-2} .

Визуальные наблюдения показали, что под действием галкарарамин в концентрации 10^{-3} ротовая и брюшная присоски сокращались и только после 15-20 мин. их мускулатура расслаблялась. Большая концентрация препарата (10^{-2}) вызывала быстрое (через 1-2 мин) расслабление мускулатуры ротовой присоски, которая приобретала форму мисочки. Глотка, как правило, была закрыта. Брюшная присоска продолжала сокращаться до 7-й минуты, после чего оставалась открытой или полуоткрытой, нередко втягивалась в тело.

Действие на двигательную активность препаратов селсурвина и бензамеди почти аналогично.

Глава 4. Влияние антигельминтиков на активность ряда ферментативных процессов

Проведенные исследования показали, что из всех испытанных антигельминтных препаратов только мезизин оказал ингибирующее влияние на трансаминазы свиной аскариды.

Степень активности трансаминаз в значительной мере зависела от длительности контакта мезизина с гомогенатом. Во всех опытах степень торможения возрастала с увеличением продолжительности предварительного контакта антигельминтика с ферментом. Так, в концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ М после предварительной инкубации мезизина с гомогенатом свиной аскариды вызывало увеличение процента торможения глутамат-аланин-трансаминазы ($P \geq 0,854$).

В реакции переаминирования глютаминовой кислоты со щавелевоуксусной кислотой мезизин подавлял образование аланина ($P \leq 0,080$).

Обращает на себя внимание резкое различие в степени чувствительности отдельных трансаминаз к действию мезизина. Например, мезизин не оказал ингибирующего влияния на аспартат-трансаминазу.

Влияние мезизина на аланин-трансаминазу свиной аскариды оказалось неспецифичным. При действии мезизина на трансаминазы печени хозяина (поросят) установлено его ингибирующее влияние на аланин-трансаминазу. Однако трансаминазы печени поросят оказались менее чувствительными к действию мезизина, чем трансаминазы свиной аскариды. В той же самой концентрации (10^{-2} М) мезизин ингибировал глутамат-аланин-трансаминазу печени поросят ($P \leq 0,127$).

Из испытанных нами препаратов слабое ингибирующее влияние на трансаминазы свиной аскариды оказали галкарарамин и фенотиазин.

В опытах как *in vitro* так и *in vivo* эти антигельминтики слабо ингибировали аланин-трансаминазу и вовсе не действовали на аспартат-трансаминазу.

Недостаточно выясненным остался биохимический механизм действия фенотиазина на гельминтов. Этот антигельминтик угнетает поглощение кислорода личинками некоторых паразитических нематод на 20-40% и, возможно, угнетает ферменты цикла Кребса (Dicson W.M., Dunlap J.S., 1960).

Было отмечено также ингибирующее влияние на холинэстеразу сыворотки крови овец метаболитов фенотиазина.

Однако сам фенотиазин не оказывает угнетающего действия на холинэстеразу гельминтов-нематод.

В наших опытах фенотиазин обладал слабым ингибирующим действием на фрагменты переаминирования у свиной аскариды. Процент торможения аланин-трансаминазы достигал всего 17-18 в опытах как *in vitro* так и *in vivo*.

По нашим данным, конечные продукты азотистого обмена кишечных гельминтов (цестод) по своей химической природе резко отличаются от конечных продуктов азотистого обмена высших животных-дефинитивных хозяев этих гельминтов.

Если у млекопитающих на долю аммиака приходится от 0,5 до 3% общего (небелкового) азота мочи, то у гельминтов на долю аммиака приходится от 25 до 86% небелкового азота (чаще от 40 до 60%). Известно, что у млекопитающих основным конечным продуктом азотистого обмена является мочевины, на долю которой приходится от 60 до 90% общего азота мочи. У гельминтов мочевины как конечный продукт азотистого обмена, напротив, вовсе не образуется.

Глава 5. Испытание новых антигельминтных препаратов

Селенистосурьмянистовинную кислоту (селсурвин) испытали на 45 поросятах, спонтанно инвазированных свиной аскаридой. Поросят разделили на 4 группы по 10-12 голов в каждой. Животным 1, 2 и 3-й групп задавали селсурвин однократно перорально в дозе 10, 20 и 30 мл/кг соответственно, в виде 0,1 %-ного водного раствора. Поросьятам 4-й группы препарат не назначали и они служили контролем.

Антигельминтную эффективность селсурвина учитывали по результатам исследования проб фекалий поросят всех групп до и через 10 дней после дачи препарата. Пробы фекалий исследовали количественным методом флотации с использованием счетной камеры ВИГИС для учета количества яиц аскаридий в 1 г фекалий животных до и после лечения. В результате опыта 100%-ная эффективность получена от доз 20 и 30 мл/кг и 93,8% от дозы 10 мл/кг. У животных контрольной группы в период опыта показания существенно не изменялись, составив в начале опыта $71,2 \pm 7,0$ экз яиц в 1 г фекалий и $69,0 \pm 6,8$ экз. в конце опыта. Препарат хорошо переносился животными, не оказывая побочного действия на организм поросят.

Таким образом, при аскаридозе свиней дозу селсурвина 20 мл/кг в виде 0,1%-ной водной суспензии, можно рекомендовать как терапевтическую.

Экономическая эффективность селсурвин составляет 1869,4 сома на одну леченую голову; препарат на один сом затрат дает 7,40 сомов прибыли.

Изучение антигельминтной эффективности галкарамина при стронгилятозе и трихоцефалезе проводили на 40 овцах годовалого возраста в крестьянском хозяйстве "Жангыз-Жангак" Сузакского района Жалал-Абадской области.

Результаты опыта показали, что новый антигельминтный препарат галкарамин проявил высокую эффективность против трихоцефалеза при однократном пероральном индивидуальном применении в дозе 0,1 г/кг живой массы овец в виде водной суспензии, а при стронгилятозе его эффективность составила: ЭЭ-95% и ИЭ-94,2%.

Вольное скармливание галкарамина в дозе 0,1 г/кг массы овец с 0,2 кг концентратов утром натощак обеспечило лечебную эффективность при трихоцефалезе (ЭЭ-90% и ИЭ-98,3%) и соответственно при стронгилятозе (ЭЭ-90% и ИЭ-89,2%). Применение пиперазина дало 100%-ную ЭЭ и ИЭ при стронгилятозе, а при трихоцефалезе ЭЭ и ИЭ были равны 8%.

Галкарамин, заданный внутрь в дозе 0,1 г/кг массы овец в 10%-ной водной суспензии, и скармливаемый с концентратами не вызывает побочных явлений и хорошо переносится животными.

Бензамедь испытали на экспериментальной базе Кыргызского ГНИКИВ. Под опыт было взято 30 овец разного возраста, разной масти, местной породы и 10 голов молодняка крупного рогатого скота 1-2-летнего возраста.

Результаты опыта показали, что бензамедь при даче однократно в дозе 100 мг/кг для овец и 200 мг/кг массы для крупного рогатого скота обеспечила 100%-ную ЭЭ и ИЭ при мониезиезо-трихостронгилядозной инвазии. Препарат не вызывает послабления, в течение двух суток обеспечивает отхождение цестод и нематод с фекалиями. Указанная доза животными переносится удовлетворительно и не вызывает каких-либо отклонений от общего состояния (физиологической нормы животного), изменений крови, мочи и т.д.

Выводы

1. Методика изучения пищеварения и движений гельминтов *in vitro* может быть использована для предварительного изыскания наиболее гельминтоцидных веществ, которых в дальнейшем следует испытывать на животных.

2. Антигельминтное действие полимедола в малых концентрациях проявляется в усилении двигательных реакций у фасциол, мониезий и аскаридий; при увеличении его концентрации после возбуждения наступает сокращение тела и обездвижение гельминтов. Это проявляется в первую очередь за счет влияния препарата на присоски у фасциол, мониезий, и тела

в целом у аскарид, которые оказываются более чувствительными, чем мускулатура их тела.

3. Медизин вызывает судорожные сокращения тела аскарид, в концентрации 10^{-3} , выводя их из состояния наркоза; его действие заканчивается параличом мускулатуры гельминтов.

Действие селсурвина и бензамеди на двигательную активность гельминтов *in vitro* почти аналогично.

Фенотиазин, входящий в состав фенотиазино-фосфатной солевой смеси с микроэлементами как в опытах *in vivo*, так и *in vitro*, слабо угнетал активность аланин-трансаминазы нематод, что привело к гибели гельминтов.

4. Галкарамин, как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* слабо угнетал активность аланин-трансаминазы аскаридий.

Суммарный белок цестод (*Moniezia expansa*), получивших медьсодержащие препараты, содержит: аргинина-21,65%; лизина-17,28%; гистидина-5,64%; глутаминовой кислоты-6,10%; триптофана-1,75%; цистина-1,10%; метионина-1,48%; фенилаланина-2,6%; тирозина-1,73%. Все цифры показывают процент содержания азота аминокислот от общего белка.

5. Новый антигельминтный препарат галкарамин проявил высокую эффективность (100%) против трихоцефалеза при индивидуальном однократном пероральном применении в дозе 0,1 г/кг живой массы овец в виде водной суспензии, а при стронгилятозе его эффективность составила: ЭЭ-95% и ИЭ-94,2% и не вызывает побочных явлений и хорошо переносится животными.

6. Терапевтическая доза бензамеди равна для овец 100 мг/кг, а для крупного рогатого скота - 200 мг на 1 кг массы. При однократном его введении ЭЭ составляет 100% и ИЭ-100%. Препарат не вызывает расслабления, в течение двух суток обеспечивает отхождение цестод с фекалиями. Эта доза животными переносится удовлетворительно и не вызывает отклонений от общего состояния (физиологической нормы животного), изменений крови, мочи и т.д.

7. Терапевтическая доза селсурвина при аскаридозе свиней -20 мл/кг массы в виде 0,1 %-ного водного раствора, обеспечивает 100% ЭЭ.

Экономическая эффективность препарата - 1869,4 сома на одну леченую голову. Препарат на 1 сом затрат дает 7,40 сомов прибыли.

Препараты бензамедь и селсурвин не оказали заметного ингибирующего действия на трансаминазы свиной аскариды.

Практические предложения

1. При скрининге антигельминтных препаратов предлагаем комплексное исследование, основанное на данных физиологии, биохимии гельминтов и переносимости животными - дефинитивными хозяевами.

2. Для внедрения в ветеринарную практику разработаны: "Временное

наставление по применению бензамеди и галкарамина при смешанных мониезиозо-трихостронгилидозных инвазиях".

В связи с малой токсичностью препаратов-галкарамина, бензамеди – их можно применять индивидуально и групповым методом в дозах от 100 до 200 мг/кг массы животного в смеси с сухой дертью (ячменной или кукурузной) однократно, в утренние часы против смешанной мониезиозо-трихостронгилидозной инвазии овец и крупного рогатого скота; селсурвин – в виде 0,1%-ного водного раствора в дозе 20 мл/кг массы против аскаридоза свиней.

3. Отдельные материалы диссертационной работы рекомендовать включить в программу курса "Паразитология и инвазионные болезни животных" в раздел "Гельминтология" для студентов факультета ветеринарной медицины Кыргызского аграрного университета им. К. И. Скрябина, Жалал-Абадского государственного университета и ветеринарных отделений сельхозтехникумов и колледжей.

Список опубликованных работ по теме исследования

1. Арзыбаев М.А., Чокморова Э.Э. Токсикологические свойства новых гельминтоцидных соединений. // Наука и новые технологии. – Бишкек, 2000. № 6. – Ч. 1. – С.157-159.

2. Касымбеков Б.К., Чокморова Э.Э. О механизме действия антигельминтиков. // Сб. научных трудов, посвященный 50-летию со дня основания Жайылской вет. лаборатории. – Кара-Балта, 2001. – С.148-151.

3. Чокморова Э.Э., Касымбеков Б.К. О механизме действия антигельминтиков. – Бишкек, 2001. – 52 с.

4. Чокморова Э.Э. О механизме действия полимедола. // Нормативные документы и научн. статьи по борьбе с бруцеллезом и инвазионными болезнями животных. Вып. 1. – Бишкек, 2001. – С. 99-105.

5. Чокморова Э.Э., Кожакматова С.С. Среда и условия обитания кишечных гельминтов. // Нормативные документы и научн. статьи по борьбе с бруцеллезом и инвазионными болезнями животных. Вып. 1. – Бишкек, 2001. – С. 95-99.

6. Бабакулов М.Б., Чокморова Э.Э., Арзыбаев М.А. Основные механизмы двигательной активности гельминтов и влияние на них новых антигельминтиков из солей пиперазина. // Материалы региональной научно-практической конференции "10-летие суверенитета: итоги и перспективы". – Жалал-Абад, 2002. – С. 261-263.

7. Чокморова Э.Э., Сыдыгалиев М.К., Сулайманова Г.М. Методические рекомендации по исследованию физиологического и биохимического статуса гельминтов. // Нормативные документы и научн. статьи по борьбе с бруцеллезом и инвазионными болезнями животных. Вып. 2. – Бишкек, 2002. – С. 38-47.

8. Чокморова Э. Э., Аденов Ж. А., Осмонова А. А. Антигельминтная и экономическая эффективность селсурвина. // Нормативные документы и научн. статьи по борьбе с бруцеллезом и инвазионными болезнями животных. Вып. 2. – Бишкек, 2002. – С.63-70.

9. Аденов Ж.А., Чокморова Э.Э. Действие селсурвина на двигательную активность и ферментативные процессы свиней аскариды. // Нормативные документы и научн. статьи по борьбе с бруцеллезом и инвазионными болезнями животных. Вып. 2. – Бишкек, 2002. – С.70-76.

Чокморова Эркингул Эдрияровна

**Механизм действия антигельминтиков
(полимедол, мезинин, селсурвин, бензамедь, галкарамин)**

(03.00.19 – паразитология)

Резюме

Ключевые слова: гельминты, двигательные функции, ферментативный процесс, антигельминтики, испытание, внедрение, экономическая эффективность.

Объектами исследования служили: гельминты – *Fasciola hepatica*, *Moniezia expansa*, *Ascaris suum*, извлеченные из внутренних органов овец и свиней и антигельминтики: полимедол, мезинин, селсурвин, бензамедь и галкарамин, а также подопытные животные – овцы и свиньи.

Целью работы – явились – выявление механизма действия антигельминтиков на гельминтов и организма животных, результаты использовать для скрининга антигельминтных препаратов.

Применялись – гельминтологическое вскрытие органов и гельминтово-лярвоскопические исследований фекалий животных, физиологические и биохимические методы исследований гельминтов *in vitro* и *in vivo*.

Впервые диссертантом изучены механизмы действия антигельминтиков: полимедола, мезинина, селсурвина, бензамеди и галкарамина на физиологические и биохимические процессы гельминтов.

Полученные данные могут быть использованы для предварительного изыскания наиболее гельминтоцидных веществ, которые в дальнейшем следует испытать на животных.

Новые антигельминтные препараты: галкарамин, при пероральном применении в дозе 0,1 г/кг массы овец, в виде водной суспензии при стронгилятозе показал ЭЭ – 95%, ИЭ – 94,2%; бензамедь в дозе 0,1 г/кг при мониезиозе овец – 100% эффективность, селсурвин – в дозе 20 мл/кг массы в виде 0,1%-ного водного раствора обеспечивает ЭЭ и ИЭ, равную 100% против аскаридоза свиней. Экономическая эффективность селсурвина составляет 7,40 сомов на один сом затрат (по цене сентября 2001 года).

Э.Э. Чокморова

Чокморова Эркингул Элдияровна

Антигельминтиктердин гельминтке тийгизген таасири
(полимедол, мезизин, селсурвин, бензамедь, галкарамин)

(03.00.19 – паразитология)

Кыскача мазмуну

Негизги сөздөр: гельминттер, кыймылдоо функциясы, ферментациялык процесс, антигельминтиктер, сыноо, өндүрүшкө киргизүү, экономикалык натыйжа.

Изилдөөнүн объектиси катары – кой, чочко жана алардын ички органдарынан алынган гельминттер – Fasciola hepatica, Moniezia expansa жана Ascaris suum, жана антигельминтиктер: полимедол, мезизин, селсурвин, бензамедь, галкарамин пайдаланылды.

Иштин максаты: Жогоруда аталган препараттардын гельминтке жана малга тийгизе турган таасирин аныктоо, жана аны малга колдонуучу антигельминтиктерди тандап алуу үчүн пайдалануу.

Изилдөөдө – малды гельминтологиялык союу, анын кыгын гельминтокопрологиялык жол менен текшерүү, гельминттерди физиологиялык жана биохимиялык жактан изилдөө методдору колдонулду.

Диссертант тарабынан биринчи ирет полимедол, мезизин, бензамедь жана селсурвиндин – гельминттерге тийгизген таасири иликтенген.

Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдө – гельминттердин азык синирүү, кыймылдоо органдарына жана алардын денесине келтирилген биохимиялык өзгөрүүлөрдү эске алып, болжолдоо жолу менен жаңыдан алынган препараттардын антигельминтик катары тандап алууга көмөк берет. Натыйжада препараттын керектүүсүн алып чоң малдарга колдонсо боло тургандыгы далилденди.

Ушул метод менен тандалып алынган жаны антигельминтиктер: галкарамин- 0,1 г/кг дозада, ооздон бергенде койлордун стронгилятоздорунa – ЭЭ 95%; ИЭ 94,2%; бензамедь – 0,1 г/кг өлчөмдө койдун мониезиозуна 100% (ЭЭ, ИЭ), селсурвин – чочконун аскаридозуна каршы 20 мл/кг массасына 0,1% эритме катарында ичирсе 100% (ЭЭ, ИЭ) натыйжа берери аныкталды. Мындан ар бир сарпталган сомдон 7,40 сом кошумча пайда алынаарын эсептөө көрсөтү (сентябрь 2001 жалдагы баа менен алынды).

А.Кенеш

Chokmorova Erkingul Eldiyarovna

Mechanism of anthelmintic preparation effect
(polimedolum, medizinum, selsurvinum, benzamedium, galkaraminum)

(03.00.19 – parasitology)

Summary

Keywords: helminths, impellent functions, enzymatic process, antihelminths, test, introduction, economic efficiency.

As objects of research served: helminths - Fasciola hepatica, Moniezia expansa, Ascaris suum, taken from internal bodies sheep's and pigs and antihelminths: polimedolum, medizinum, selsurvin, benzamedium and galkaraminum, and also experimental animals - sheep's and pigs.

The purpose of work - were - revealing of the mechanism of action antihelminths on helminths and an organism of animals, results to use for scrinning antihelminthical preparations.

Were applied - helminthological opening of bodies and helminthoovolarvascopy researches of excrements of animals, physiological and biochemical methods of researches helminths in vitro and in vivo.

For the first time the dissertator investigates mechanisms of action antihelminths: polimedolum, medizinum, selsurvinum, benzamedium and galkaraminum on physiological and biochemical processes helminths.

The received data may be used for preliminary research most helmintosids substances which further should be tested for animals.

New anthelmintic preparation: galkaraminum, by oral application in a doze of 0,1 g/kg of sheep weight, as aqueous suspension at stronglylyantoz has shown: EE - 95 %, IE - 94,2 %; benzamedium in a doze of 0,1 g/kg at monieziroz of sheep has 100% efficiency, selsurvinum - in a doze of 20 ml/kg of weight as 0,1 % of aqueous suspension - provides EE- and IE equal 100% against ascariasis of pigs, economic efficiency selsurvin makes 7,40 soms on one som of expense (September, 2001 prices).

А.Кенеш