VARIABILITATEA STATUTELOR BIOCHIMICE ALE PARTENERILOR SISTEMULUI „PARAZIT-GAZDĂ”

VARIABILITY OF THE BIOCHEMICAL STATUSES OF THE “PARASITE–HOST” SYSTEM PARTNERS

CZU: 591.69 **https://doi.org/10.59295/spd2025e.46**

Vadim RUSU
ORCID: 0009-0002-3758-6968
E-mail: vadim.rusu@usm.md

Ion TODERAȘ
ORCID: 0000-0003-1599-838X
E-mail: iontoderas@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Nadejda RAILEAN
ORCID: 0000-0001-7818-9200
E-mail: nadejdarailean@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Mihail BUDEANU
ORCID: 0000-0002-4120-4152
E-mail: mihail.budeanu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Igor PÎRȚU
ORCID: 0000-0003-4537-3364
E-mail: igor.pirtu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary. *The prospects of studying amino acids in the “parasite-host” system are conditioned by the possibility of experimentally reproducing environmental conditions. This would allow identifying changes in the set of amino acids, changes that would proportionally reflect the changes that occurred in the culture medium. Another problem that deserves all attention is the elucidation of the mechanism of absorption of some amino acids by tissue parasites. It was found that the host and the tissue parasite present significant differences between the sets of free amino acids in their organisms. The parasite selectively absorbs, first of all, the indispensable amino acids, the share of which in the organism of the parasitized host is diminished to the highest degree. Therefore, parasitized hosts present significant decreases in the share of essential*

amino acids, in relation to non-parasitized hosts. The values of the sums of the entropies of the sets of free amino acids tend to increase in infected hosts in relation to uninfected ones. This is due to the decrease in the proportion of some amino acids as a result of selective absorption by the parasite.

***Keywords**: ,,host parasite" system, free amino acids, biochemical aspects.*

INTRODUCERE

Studiul variabilității statutului biochimic al partenerilor sistemului ,,parazit-gazdă" se poate dovedi util pentru soluționarea atât a unor probleme actuale ale biologiei parazitului și gazdei, precum și a problemei complexe cu privire la natura parazitismului. Aceasta are o mare importanță atât teoretică, cât și practică. Ne-am oprit mai amănunțit asupra acestor chestiuni care, la opinia noastră, au cea mai mare actualitate:

- ce concluzii pot fi enunțate prin compararea statutelor biochimice ale parazitului și gazdei?
- e posibilă oare stabilirea unor verigi în metabolismul paraziților, care ar putea servi drept puncte de aplicare a unor noi preparate antihelmintice?
- cum influențează modificarea condițiilor mediului ambiant asupra ponderii substanțelor de diferite clase în organismul parazitului?
- pot fi oare elaborate teste biochimice, cu ajutorul cărora ar putea fi apreciat gradul de influență a parazitului asupra gazdei?
- care substanțe prezintă o valoare de perspectivă mai mare pentru studierea în continuare a aspectelor biochimice ale interconexiunilor în sistemul ,,parazit-gazdă"?

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul a fost obținut în condiții de laborator. Sistemul ,,parazit-gazdă" , folosit ca model în cercetările noastre, constă din 2 parteneri, reprezentați de animale nevertebrate: gazdele *Chironomus piger* Strenzke, 1959; *Ch. thummi* Kieffer, 1911, *Ch. plumosus* Linnè, 1758 (*Diptera, Chironomidae*) şi mermitida acvatică *Hydromermis contorta* Linstow, 1889 (*Nematoda, Mermithidae*). Alegerea, în calitate de obiect de studiu, anume a modelului menționat, precum și a locului de colectare a materialului au fost condiționate de câțiva factori: în primul rând, de lipsa datelor referitoare la aspectele studiate de noi în sistemul ,,parazit-gazdă", format din parteneri nevertebrați; în al doilea rând, modelul studiat în cazul dat poate fi reprodus în condiții de laborator, fapt, care permite efectuarea unor investigații mai amănunțite și multilaterale. Acest fapt exclude erorile, condiționate de eterogenitatea taxonomică a materialului analizat.

Materialul colectat a fost selectat și distribuit în următoarele categorii: larve de *Ch. piger* și de *Ch. plumosus* infestate cu *H. contorta* și neinfestate cu acest parazit; pupe de *Ch. piger* infestate și neinfestate cu *H. contorta:* femele și masculi de *H. contorta* extrași din corpul gazdei; femele de *H. contorta* postparazite; imago de *Ch. piger,* masculi și femele; imago, exuvii și ponte de *Ch. plumosus.*

Larvele de hironomide se examinau cu ajutorul microscopului binocular și se plasau în vase cu capacitatea de 0,5 litri cu o cantitate nu prea mare de apă, în care se întrețineau până la ieșirea paraziților. Exemplarele adulte ale hironomidelor erau plasate în eprubete cu diametrul de 10 mm, pe fundul cărora se turna un strat de apă (1,0 cm). De regulă, în aceste condiții mermitidele ieșeau destul de repede în apă din corpul insectelor. Vârsta larvelor de hironomide se stabilea prin măsurarea lățimii capsulei cefalice cu ajutorul ocular-micrometrului. Paraziții extrași din corpul gazdelor se clăteau îndată cu apă distilată, erau uscați cu hârtie de filtru, după care erau cântăriți la balanța analitică. În condiții de câmp larvele de hironomide și mermitidele postparazite au fost colecționate cu ajutorul căușelor și al fileurilor speciale; erau spălate prin clătirea fileului în apa bazinului acvatic respectiv. În condiții de laborator mermitidele erau distribuite în grupe separate prin examinarea cu ajutorul microscopului binocular. Disecția anatomică a larvelor de hironomide a fost efectuată în soluție fiziologică. Larvele hironomidelor erau supuse acestei operații conform celor ce urmează. Larvele erau plasate într-o picătură de soluție fiziologică pe o sticlă de ceas. După aceasta larvele erau decapitate prin secționare cu bisturiul, apoi, cu ajutorul a 2 ace de preparare, înfipte la extremitățile anterioară și posterioară ale larvelor, prin mișcări precaute se scotea în exterior conținutul corpului acestora. Pentru depistarea larvelor mici de mermitide, larvele hironomidelor erau plasate într-un amestec de glicerină cu apă (1:1), fapt ce le mărea transparența. Larvele hironomidelor erau plasate pe lame portobiect. La apăsarea ușoară, prin intermediul altei lame, mermitidele erau ușor observate prin peretele corpului larvelor de hironomide. Mermitidele au fost fixate în soluție de 4% de formalină. Pentru studiere detaliată și conservare larvele extrase de mermitide erau plasate în glicerin-gelatină. Pentru fixarea mermitidelor a fost utilizat și un amestec, format din formalină de 40 %, alcool de 96 %, acid acetic glacial și apă distilată în proporție 6:17:2:28. După 12-24 de ore obiectul era transferat într-un amestec de glicerină, alcool de 96 % și apă distilată în proporțiile 1:3:6. Vasele cu amestecul respectiv, în care se găseau preparatele, se lăsau deschise pentru 48-60 de ore la temperatura de 25-35°C. Astfel, alcoolul și apa se evaporau, iar mermitidele rămâneau în glicerină.

Conținutul în elemente chimice a fost determinat prin intermediul analizei spectrale de emisie. Evaluarea cantității de azot total a fost efectuată prin metoda Kjeldahl, după care prin recalculare a fost stabilită cantitatea de proteine (Nx6,25). Conținutul în lipide a fost calculat prin metoda Soxhlet. Conținutul în glucide a fost determinat prin calculul diferenței dintre 100 % și cantitatea proteinelor, lipidelor și substanțelor minerale în procente.

În scopul stabilirii masei uscate a partenerilor sistemului dat și al determinării conținutului de aminoacizi în corpul acestora, o parte din materialul colectat și cultivat în condiții de laborator a fost supus uscării prin liofilizare cu azot lichid. Acest procedeu a permis de a reduce masa probelor până la cea uscată și de a lăsa intactă compoziția chimică a proteinelor și a aminoacizilor liberi din hemolimfa animalelor care constituiau probele astfel tratate. După uscarea prin liofilizare probele plasate în fiole aparte, fiind

protejate contra accesului de umiditate, au putut fi păstrate în decursul unei perioade suficient de lungi, până la efectuarea analizelor biochimice respective. Analiza de mai departe a materialului astfel preparat a fost efectuată cu ajutorul analizatorului automat de aminoacizi. Analizatorul respectiv servește pentru analiza calitativă și cantitativă a aminoacizilor prin metoda cromatografiei cu schimb de ioni pe ioniți. Analiza aminoacizilor a fost efectuată pentru două tipuri de probe: în hidrolizatele proteice - pentru aminoacizii proteici și în extrasele tisulare -pentru aminoacizii liberi. În soluția de hidrolizate analizatorul determină pe fiecare din cei 20 de aminoacizi din compoziția proteinelor. Analiza extraselor tisulare a permis stabilirea a circa 40 de substanțe, inclusiv aminoacizi liberi și peptide.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Una din ideile de bază care ne-au animat, în primul rând, a fost aceea despre existența la paraziți a unor substanțe neobișnuite, necaracteristice gazdei. Această idee se baza pe datele aduse în literatura de specialitate, conform cărora a fost atestată prezența la ascaride a unor glucide, ca tregaloza, determinată rar la animalele vertebrate. Am presupus că și printre aminoacizi pot fi găsiți asemenea compuși caracteristici numai pentru parazit. Aceste presupuneri, însă, fapt ilustrat de lucrarea de față, nu s-au confirmat. Mai mult decât atât, seturile aminoacizilor liberi și legați (proteici) s-au dovedit a fi practic identice din unghi de vedere calitativ atât la gazde, cât și la parazitul lor. Evident, această concluzie nu poate fi comună și pentru polimerii biologici ai aminoacizilor – proteinele, care se caracterizează prin specificitate.

Rezultate întrucâtva neașteptate au fost obținute în procesul comparării coraporturilor cantitative ale aminoacizilor la gazdă și parazit. Dacă prezența unor deosebiri pronunțate între gazdă și parazit în ce privește conținutul aminoacizilor liberi părea absolut naturală, atunci analogia destul de accentuată între coraporturile cantitative ale aminoacizilor proteici ai parazitului și gazdei părea dificil de explicat. La început această similitudine a fost explicată prin fenomenul de mimicrie moleculară sau prin adaptarea structurilor antigenice ale parazitului la cele ale gazdei. Pe de altă parte, e logic, ca numai o parte neînsemnată a structurilor antigenice ale parazitului (din care fac parte și grupele funcționale ale aminoacizilor), situate la suprafața corpului helmintului, să aibă importanță în procesul de elaborare a nereceptivității imunologice a parazitului față de gazdă. De aceea este puțin probabil ca similitudinea coraporturilor aminoacizilor proteici ai gazdei și parazitului să fie determinată, în primul rând, de similitudinea structurilor lor antigenice. Probabil, fenomenul atestat reflectă anumite mecanisme ancestrale de formare a setului general de aminoacizi ai proteinelor oricărui organism. Există informații cu privire la sinteza abiogenă a aminoacizilor pe Pământul prebiologic. Aceste date mărturisesc în favoarea acumulării preferențiale a unor asemenea aminoacizi, ca glicina, serina, alanina, acizii bicarbonici, adică a aminoacizilor cu cea mai mare pondere în proteinele sumare ale organismelor contemporane. În orice caz similitudinea cantitativă a seturilor de aminoacizi ai gazdei și parazitului, variabilitatea mică a acestora în diferite

condiții ecologo-fiziologice pot fi utilizate în cercetările consacrate biochimiei ecologice a helminților în calitate de criteriu de siguranță a metodei de determinare a aminoacizilor și chiar a calității materialului colectat. În cazul, în care cercetătorul atestă o variabilitate pronunțată a acestui indiciu, el trebuie să caute cauza acestui fenomen. Dacă, însă, acest indiciu variază puțin, concomitent cu variația pronunțată a aminoacizilor liberi, atunci se poate afirma cu siguranță că variabilitatea setului aminoacizilor liberi este condiționată într-adevăr de factorii ecologici, dar nu este legată de imperfecțiunea metodei.

2. După cum s-a menționat mai sus, compararea statutelor biochimice ale gazdei și parazitului a fost efectuată și în scopul identificării la paraziți a unor substanțe cu masă moleculară mică care ar lipsi la gazdă. Dacă asemenea substanțe ar fi găsite, atunci sistemele biologice, în care ele participă, ar putea servi drept ținte de aplicare a unor preparate antihelmintice noi. Depistarea unor asemenea substanțe ar deschide automat perspectiva studierii tuturor sistemelor biochimice cu care acestea ar putea fi legate. În procesul realizării lucrării de față asemenea substanțe nu au fost găsite. E posibil că o analiză mai minuțioasă va permite de a găsi și printre aminoacizi anumiți compuși minori specifici pentru parazit.

3. În calitate de mediu de gradul 1 pentru parazit servește însăși gazda (adică celulele, țesuturile, lichidul intracelular sau conținutul chimului alimentar pentru paraziții intestinali). În calitate de mediu de gradul II servește mediul de trai al gazdei [1]. Deoarece parazitul achiziționează de la gazdă toate componentele necesare pentru viață, nu este neobișnuit faptul, că între țesuturile gazdei și cele ale parazitului există sub unele aspecte similitudini. Acest fenomen este deosebit de pronunțat la cestode și la mermitide, care nu posedă sistem digestiv ca organ și absorb întreaga cantitate de hrană prin suprafața corpului (cu ajutorul mecanismelor de pinocitoză şi ale transportului activ și pasiv).

Modificările în mediul de gradul I, provocate atât de cauze fiziologice interne, cât și de factori abiogeni externi (fluctuații sezoniere ale temperaturii, cantității de hrană, apariția substanțelor poluante etc.) se reflectă întotdeauna asupra coraporturilor cantitative ale aminoacizilor liberi, precum și asupra ponderii lipidelor, glucidelor și proteinelor în țesuturile partenerilor sistemului „parazit-gazdă”. Deosebit de pronunțat se manifestă aceasta în ce privește aminoacizii liberi, fapt care complică înțelegerea acestui mecanism biochimic suplu.

4. Nu numai gazda influențează asupra parazitului, ci și parazitul are o acțiune determinată asupra gazdei. Deosebit de accentuată este această interdependență în invazia multiplă. Pe baza datelor din lucrarea noastră pot fi elaborate numeroase teste biochimice, cu ajutorul cărora se poate judeca cu destulă siguranță despre gradul și caracterul influenței paraziților tisulari asupra organismului gazdei. Compararea statutelor biochimice ale țesuturilor gazdelor sănătoase cu cele ale gazdelor infestate a arătat că prezența parazitului provoacă în țesuturile gazdei modificări cantitative ale conținutului de aminoacizi, lipide, glucide, proteine. În țesuturile gazdei infestate scade de 1,5-2,0 ori cantitatea totală a aminoacizilor liberi și cu 40-100 % ponderea relativă a fiecărui

aminoacid indispensabil în parte. Se creează impresia că sub influența parazitului are loc modificarea permeabilității membranelor celulare ale gazdei, care realizează absorbția selectivă a aminoacizilor indispensabili, în primul rând. Acest fapt este ilustrat și de creșterea ponderii proteinelor în organismele gazdelor infestate. Chimismul acestui proces nu este clar. Cât privește absorbția selectivă de către helminți a aminoacizilor indispensabili, aici sunt posibile 2 mecanisme: transportul real selectiv al acestor acizi prin membranele parazitului sau restabilirea mai slabă a conținutului normal al setului aminoacizilor indispensabili în celulele gazdei în raport cu aminoacizii obișnuiți. Acest fenomen pare natural, deoarece aminoacizii indispensabili nimeresc în țesuturile gazdei numai din hrană, iar cei obișnuiți pot fi sintetizați rapid din substraturi intermediare variate de către sistemele biochimice ale gazdei însăși. Nu încape îndoială că elucidarea acestor chestiuni poate avea importanță nu numai teoretică, ci și practică, în special, pentru sinteza unor preparate antihelmintice noi care ar putea să blocheze mecanismele de transport al aminoacizilor la helminți.

Fluctuațiile accentuate ale ponderii lipidelor, glucidelor și proteinelor la gazda infestată în raport cu cea sănătoasă nu provoacă schimbări ale valorii calorice a țesuturilor acestora, care este practic aceeași pentru ambele categorii de probe analizate.

5. Chestiunea referitoare la caracterul de perspectivă al studierii anumitor substanțe pentru elucidarea de mai departe a aspectelor biochimice în sistemul „parazit-gazdă”, după părerea noastră, merită toată atenția. Utilizarea mai largă a metodelor moderne biochimice ar putea contribui la elucidarea importanței din punct de vedere ecologo-fiziologic a unor substanțe încă puțin studiate, în special, a glucidelor, prostaglandinelor (influența cărora asupra organismului helminților nu este stabilită), izofermenților și a formelor multiple de enzime (de care, posibil, depinde adaptarea parazitului la o gazdă sau alta), a diferitelor substanțe biologic active cu masă moleculară mică (hormoni ș.a.), importanța cărora în adaptarea helminților la gazdă în anumite cazuri poate fi determinantă.

Un câmp larg de activitate se deschide și pentru studiul aspectelor bioenergetice în sistemul „parazit-gazdă” care, practic, nu sunt tratate în literatura de specialitate. Prezintă interes și chestiunea cu privire la existența anumitor particularități în adaptarea biochimică a paraziților gazdelor ectoterme, care îi disting de paraziții vertebratelor endoterme.

Perspectivele studierii aminoacizilor în sistemul „parazit-gazdă” sunt condiţionate de posibilitatea reproducerii experimentale a condițiilor mediului. Aceasta ar permite identificarea modificărilor setului de aminoacizi, modificări, care ar reflecta proporțional schimbările survenite în mediul de cultură. Altă problemă care merită toată atenția este elucidarea mecanismului de absorbție a unor aminoacizi de către paraziții tisulari.

În fața cercetătorilor preocupați de studiul setului de aminoacizi ai parazitului stă și sarcina (nerealizată încă nici pentru unul dintre helminți) determinării succesiunii aminoacizilor în proteinele pure ale paraziților. Este importantă elucidarea rolului biochimic al helminților în menținerea zoonozelor, inclusiv clarificarea mecanismelor de adaptare metabolică și a interacțiunilor cu sistemul imunitar al gazdei [2].

CONCLUZII

1. S-a demonstrat că gazda și parazitul tisular prezintă similitudini calitative și cantitative dintre seturile de aminoacizi proteici. Aceste similitudini sunt cu atât mai pronunțate, cu cât este mai înalt gradul de specificitate a partenerilor sistemului respectiv „parazit-gazdă".

2. Au fost determinați coeficienții, care exprimă raportul cantitativ al aminoacizilor bazici (arginina, lizina, histidina) față de cei bicarbonici (acizii asparagic și glutamic) și care sunt foarte apropiați ca valoare pentru proteinele parazitului *Hydromermis contorta* (0,92) și cele ale gazdei neparazitate *Chironomus plumosus* (0,96). Se presupune că această similitudine ar putea fi condiționată de coevoluția structurilor antigenice ale partenerilor sistemului „parazit-gazdă".

3. S-a constatat că gazda și parazitul tisular prezintă deosebiri semnificative dintre seturile de aminoacizi liberi din organismele lor. Parazitul absoarbe selectiv, în primul rând, aminoacizii indispensabili, ponderea cărora în organismul gazdei parazitate este diminuată în cel mai înalt grad. Deci, gazdele parazitate prezintă diminuări importante ale ponderii aminoacizilor esențiali, în raport cu gazdele neparazitate. Valorile sumelor entropiilor seturilor de aminoacizi liberi au tendința de creștere la gazdele infectate în raport cu cele neinfectate. Acest fapt este condiționat de scăderea ponderii unor aminoacizi ca rezultat al absorbției selective de către parazit.

4. S-a constatat că în corpul hironomidelor parazitate cresc semnificativ ponderile Mn și Cu, fapt, ce poate fi legat de intensificarea metabolismului gazdei sub influența parazitului.

REFERINȚE:

1. ERHAN, D. Paraziții, parazitismul și impactul acestora asupra mediului ambiant. Chișinău: Tipografia Centrală, 2024. 856 p.
2. BARTLEY D. M., RANA K., IMMINK A. J. FAO Aquaculture Newsletter - December 1997 - No.17.
3. GHERASIM, E. Fauna helmintică a amfibienilor (*Amphibia*), importanța acestora ca vectori în formarea și menținerea zoonozelor parazitare. Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe biologice. Chișinău, 2025. https://msuir.usm.md/server/api/core/bitstreams/37894528-80c7-4c63-aaea-49b9b018b9d8/content.

N.B. *Subprogram 010701 al USM ,,Evaluarea structurii și funcționării lumii animale și ecosistemelor acvatice sub influența factorilor biotici și abiotici în contextul asigurării securității ecologice și bunăstării populației".*