

УДК 577.1.576.895.121.

**ОСОБЕННОСТИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА
BOTHRIOCEPHALUS SCORPII
(CESTODA: BOTHRIOCEPHALIDAE)**

© Э. А. Буренина

Цестоды *Bothriocephalus scorpii* при инкубации *in vitro* потребляют глюкозу из среды и синтезируют гликоген. Конечными продуктами углеводного обмена *B. scorpii* являются молочная, янтарная и летучие жирные кислоты. Митохондрии *B. scorpii* интенсивно окисляли сукцинат, α -кетоглутарат, изоцитрат и менее интенсивно цитрат, оксалоацетат, пируват, цис-аконитат и малат.

Адаптация гельминтов к паразитическому образу жизни изменила соотношение затрат энергии на различные функции. У паразитических стадий развития гельминтов отсутствуют затраты на поддержание температуры тела, так как они имеют температуру тела хозяина. Энергетические расходы на мышечную деятельность тоже невелики, так как гельминты ведут малоподвижный образ жизни, а органы фиксации (присоски, крючья) позволяют противостоять перистальтике кишечника. Большая часть энергии расходуется на биосинтезы, поддержание градиентов и другие процессы жизнедеятельности, особенно во время быстрого роста на отдельных этапах развития, в период яйцепродукции. Энергия для поддержания жизни гельминтов освобождается во время диссимиляции органических веществ, в первую очередь сахаров. Работы по углеводному обмену гельминтов посвящены в основном выяснению их потребностей в углеводах. При голодании хозяев масса паразитирующих в них цестод уменьшается, что ведет к значительному снижению яйцепродукции. Рид и Ротман (Read, Rothman, 1957) установили, что цестоды *Calliobothrium verticillatum* и *Lacistorhynchus tenuis*, паразитирующие в спиральном клапане акулы, могут усваивать из внешней среды глюкозу и галактозу, но не могут ферментировать другие сахара. Это было подтверждено в опытах *in vitro* на цестодах *Mesocestoides latus* из опоссума, *Hymenolepis nana*, *H. citelli*, *Citotaenia* sp. и *Taenia taeniaeformis* из лабораторных животных (Read, Rothman, 1958) и на *H. diminuta* и *Oochoristica symmetrica* (Laurie, 1957).

По физическим и химическим свойствам гликоген гельминтов напоминает гликоген позвоночных. При осторожной экстракции щадящими методами было показано наличие у *H. diminuta* двух фракций гликогена с различными молекулярными весами (Orrel e. a., 1966). Высокое содержание гликогена отмечено в тканях цестод *H. diminuta* (Read, 1956; Fairbairn e. a., 1961; Reissing, Colucci, 1968; Moczon, 1974), *T. taeniaeformis* (Brand, Stites, 1970) и *Schistocephalus solidus* (Korting, Barrett, 1977). Основным местом отложения гликогена служит паренхима, особенно окружающая физиологически активные органы.

Почти для всех изученных гельминтов установлено принципиальное сходство процесса гликолиза. Однако конечные ферментативные реакции могут отличаться от обычной схемы. Чаще всего эти различия начинаются с разложения фосфоэнолпирувата и приводят к тому, что основными конечными продуктами превращения глюкозы является не молочная кислота, а сукцинат и летучие жирные кислоты (ЛЖК). Конечные продукты, выделяемые цестодами в среду содержания, представляют большой интерес для понимания путей, с помощью которых утилизируются углеводы в процессе аэробных и анаэробных ферментаций, в которых образуются богатые энергией соединения. Состав конечных продуктов цестод разнообразен: они выделяют сукцинат, лактат, ацетат, пропионат и этанол (Barrett, 1981). Этанол выделяют только сколексы *Echinococcus granulosus* и личинки и взрослые *T. taeniaeformis* (Agosin, 1957; Brand e. a., 1968). Образование $^{14}\text{CO}_2$ из $[1-^{14}\text{C}]$ -глюкозы и $[6-^{14}\text{C}]$ -глюкозы изучали у сколексов *E. granulosus* (Dicowsky e. a., 1968) и у взрослых *H. diminuta* (Scheibel, Saz, 1966) и нашли, что ацетат и пропионат образуются прямо из пирувата: ацетат — декарбоксилированием, пируват — восстановлением через лактат.

Обмен веществ гельминтов холоднокровных животных пока мало изучен, поэтому интересно сравнить его с особенностями обмена гельминтов, паразитирующих у млекопитающих.

Объектом нашего исследования была цестода *Bothriocephalus scorpii* из отряда Pseudophyllidea Carus, 1863, сем. Bothriocephalidae Blanch, 1849, паразитирующая в пилорических придатках бычка Брандта (*Myoxocephalus brandti*) из залива Петра Великого.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ботриоцефалов собирали из живых бычков на сейнерах, отмывали морской водой, а затем раствором Рингера с антибиотиками (Давыдов и др., 1973) и подсушивали фильтровальной бумагой. 3 грамма цестод помещали в 120 мл среды Рингера с антибиотиками (1 млн ед. пенициллина и 1 млн 200 тыс. ед. стрептомицина на 1 л среды) и инкубировали в термостате при 37° в течение 24 ч.

Количество углеводов в среде до и после инкубации и количество гликогена в тканях цестод определяли по методу Морриса (Morris, 1948); молочную кислоту в среде содержания — по Баркеру и Саммерсону (Barker, Summerson, 1941). Общее количество летучих жирных кислот (ЛЖК) определяли титрованием отогнанных проб $0.01\text{ N H}_2\text{SO}_4$. Летучие жирные кислоты из среды содержания отгоняли с водяным паром. После нейтрализации дистиллята 0.05 N KOH и его упаривания получали смесь калиевых солей летучих жирных кислот. Высушенные соли непосредственно перед анализом заливали хлороформом и по каплям добавляли концентрированную H_3PO_4 до полного перехода кислот в хлороформ. Состав ЛЖК определяли с помощью газожидкостного хроматографа CG -5A «Shimadzu» на 15 %-м неопентилгликольсукцинате, содержащем 2 % H_3PO_4 . Твердой фазой служил хромосорб W. Длина колонки 2 м, температура разделения 145° , скорость потока гелия 65 мл/мин, водорода — 45 мл/мин, детектор пламенно-ионизационный. Содержание отдельных жирных кислот выражали в процентах от суммы всех летучих жирных кислот в пробе. Количественной оценкой содержания каждой кислоты служила площадь пика, вычисляемая путем умножения высоты пика на его ширину при полувысоте. Расшифровку результатов проводили по времени удерживания, используя стандартную смесь C_1 — C_6 кислот. Присутствие оргкислот в среде

содержания определяли методом тонкослойной хроматографии на ацетилцеллюлозе (Randerath, 1966).

Митохондрии из цестод выделяли по методике Причарда и Шофелда (Prichard, Schofield, 1968). Окислительные процессы изучали по методике Бенедиктова (1963) с феррицианидом калия в качестве искусственного акцептора электронов. Оптическую плотность выделенных митохондрий измеряли при 520 нм на СФ-4А. Белок определяли по Лоури (Lowry e. a., 1951), активность гексокиназы — по методу, описанному Говоровой (1971).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основным энергетическим резервом у цестод, как и у других гельминтов и животных, служит гликоген. При содержании ботриоцефалов в среде Рингера с глюкозой в аэробных и анаэробных условиях в течение 24-х ч. содержание гликогена в тканях цестод увеличивается (табл. 1), т. е. *B. scorpii* способны синтезировать гликоген. Мы выяснили, что *B. scorpii* способны поглощать глюкозу из среды инкубации: в аэробных условиях поглощали 64.4 ммоля/г/сутки, в анаэробных — 87.6 ммоля/г/сутки. Синтез гликогена, как и поглощение глюкозы, выше в анаэробных условиях. Наши данные согласуются с данными, полученными для *H. diminuta* (Read, 1956; Fairbairn e. a., 1961; Reissig, Colucci, 1968; Moczon, 1974), *T. taeniaeformis* (Brand, Stites, 1970); *S. solidus* (Korting, Barrett, 1977) и *Ligula intestinalis* (Sterry, McManus, 1982). Авторы предполагают, что цестоды адсорбируют глюкозу против градиента концентрации и используют свои эндогенные углеводы как источник энергии только тогда, когда нет их поступления извне. Трудности по интерпретации опытов с поглощением глюкозы могут быть связаны с регуляцией гликолиза. Разные цестоды способны утилизировать разные сахара, например *H. nana*, *H. diminuta* и *H. citelli* — глюкозу и галактозу, *Cittotaenia* sp. — глюкозу, галактозу, мальтозу, *S. verticullatum* и *L. tenuis*, паразиты спирального клапана акул, — глюкозу и галактозу (Read, Rothman, 1958). В связи с этим нам интересно было посмотреть, какие сахара могут фосфорилировать *B. scorpii*. Из пяти исследованных сахаров ботриоцефалы фосфорилируют лишь три: глюкозу, галактозу и фруктозу. Активность гексокиназы составила: с глюкозой 6.5 ± 0.2 , с галактозой 7.5 ± 0.1 , с фруктозой 2.9 ± 0.1 нмолей НАДФ/мин/мг белка, манноза и глюкозамин не фосфорилировались. Изучая влияние pH на фосфорилирование гексокиназами из тканей *B. scorpii*, мы нашли, что глюкоза, галактоза и фруктоза фосфорилировались при pH 6.6. Электрофоретическое разделение белков в полиакриламидном геле позволило выявить 1 изозим гексокиназы с относительной подвижностью Rf 0.11, что говорит о наличии в тканях *B. scorpii* одной неспецифической гексокиназы. Наши данные согласуются с данными, полученными на других цестодах (Read, Simmons, 1963; Read, 1968; Komunieski, Roberts, 1977). Авторы утверждают, что набор специфических гексокиназ у

Таблица 1

Содержание гликогена в тканях *Bothriocephalus scorpii*
Table 1. Content glycogen in tissues of *Bothriocephalus scorpii*

Условия опыта	Содержание гликогена мг/г сырой массы		Количество синтезированного гликогена	
	до инкубации	после инкубации	мг/г сырой массы	%
Аэробные	59.9 ± 1.7	65.4 ± 1.2	5.5	9.2
Анаэробные	59.9 ± 1.7	75.3 ± 1.4	15.4	25.7

цестод наиболее сужен по сравнению с другими классами гельминтов, и это уменьшение числа используемых углеводов коррелирует с более глубокой адаптированностью к паразитизму. Четыре гексокиназы описаны в сколексах *E. granulosis* (Agosin, Aravena, 1959).

Анализ данных по содержанию гликогена у цестод позволяет сделать вывод, что содержание резервного гликогена в тканях не зависит от систематического положения, но довольно четко зависит от пола и локализации. Гистохимическими методами получены данные по распределению гликогена в органах и тканях *H. diminuta* и выявлено, что гликоген неравномерно распределен вдоль стробилы (Daugherty, Taylor, 1956). Несмотря на то что гликоген составляет по весу значительную часть тела цестод, не следует думать, что гельминты располагают большими запасами энергетического материала. Напротив, запасы эти невелики: это объясняется тем, что потребление резервных полисахаридов идет очень интенсивно. В сколексах *E. granulosis* синтезируется 19.8 % гликогена на сухой вес, а у *H. diminuta* — 8 % от сырого веса (Agosin, 1957; Reissing, Colucci, 1968) и откладывается главным образом в паренхиме. Личинок и взрослых *T. taeniaeformis* инкубировали в среде, содержащей субстраты для синтеза гликогена — глюкозу, глицерин и галактозу. Исходное содержание гликогена у личинок составляло 8.67, у взрослых — 7.41 % от живого веса. Смесь глюкозы и галактозы вызывала усиление синтеза гликогена у личинок до 9.5 %, а смесь глюкозы и глицерола увеличивала синтез гликогена у взрослых до 8.7 % (Brand, Stites, 1970). Спектр молекулярных весов гликогена *H. diminuta* сменяется по мере развития цестоды. Предполагают, что высоко- и низкомолекулярные формы гликогена играют разные роли в метаболизме (Ogrell e. a., 1966). При голодании хозяина в течение 8 дней размеры и количество *L. tenuis* в кишечнике уменьшаются. Введение рыбе через рот крахмала и глюкозы предотвращает это явление (Read, Rothman, 1957). Аналогичные данные получены и для *H. diminuta* (Daugherty, Taylor, 1956; Lee, Ip, 1986).

Основным конечным продуктом обмена углеводов у *B. scorpii* является молочная кислота. При содержании в аэробных условиях *B. scorpii* выделяют 11.3 ± 0.4 мкмоль/г/сутки, а в анаэробных — 17.8 ± 0.3 мкмоль/г/сутки молочной кислоты. Авторы, изучавшие углеводный обмен у цестод, считают лактат и сукцинат главными конечными продуктами этого обмена, причем в анаэробных условиях продукция лактата увеличивается (Read, 1956; Laurie, 1957; Webster, 1972; Behm, Bryant, 1975; McManus, Sterry, 1982). Это согласуется с нашими данными. Наряду с лактатом *B. scorpii* выделяют также янтарную кислоту, которая является конечным продуктом цестод *H. diminuta*, *Moniezia expansa*, *E. granulosis*, *T. taeniaeformis*, *H. microstoma*, плероцеркоидов *L. intestinalis* (Agosin, 1957; Bueding, Saz, 1968; Saidur, Mettrick, 1982; McManus, Sterry, 1982). Кроме лактата и сукцината *B. scorpii* продуцирует и ЛЖК (табл. 2). Летучие жирные кислоты, в частности пропионат и ацетат, найдены также и среди продуктов обмена других цестод (Read, 1956; Laurie, 1957; Fairbairn e. a., 1961; Brand e. a., 1968; Kohler, Hanselmann, 1974; Behm, Bryant, 1975; Korting, Barrett, 1977; Saidur, Mettrick, 1982; McManus, Sterry, 1982). Главными конечными продуктами обмена *S. solidus* были ацетат и пропионат с преобладанием ацетата в аэробных условиях и пропионата — в анаэробных. У *Diphyllobothrium dendriticum* главными конечными продуктами были лактат и сукцинат (Reuter, 1967), у взрослых *L. intestinalis* в аэробных условиях — лактат и пропионат, а в анаэробных — лактат и ацетат (McManus, Sterry, 1982). Способность к образованию целого ряда конечных продуктов дает гельминту возможность гибко балансировать восстановительные сопряжения. Кроме того, различные конечные продукты могут быть произведены в разных клеточных составляющих и удовлетворять различные нужды. Лактат — характерный ци-

Таблица 2

Летучие жирные кислоты, выделяемые *Bothriocephalus scorpii* в среду инкубации (в % от общего количества)

Table 2. Volatile fatty acids excreted by *Bothriocephalus scorpii* in the incubation medium (% from common quantity)

Летучие кислоты	Условия	
	аэробные	анаэробные
Уксусная	82.3±2.7	92.2 ±1
Пропионовая	6.3±0.7	1.8±0.5
Изомасляная	0.9±0.05	0.8±0.1
Масляная	2.5±0.6	1.2±0.07
α-метилмасляная	1±0.04	Следы
Валериановая	1.9±0.3	0.7±0.1
α-метилвалериановая	1 ±0.04	0.5±0.04
Капроновая	6.1±0.9	2.9±0.3

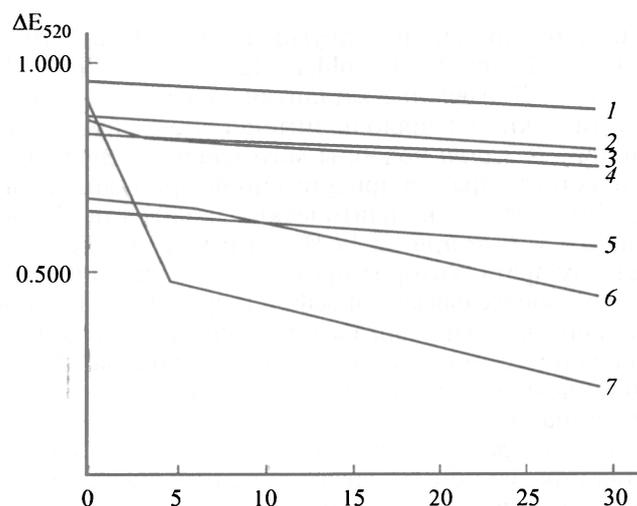
топлазматический конечный продукт, ацетат и пропионат — митохондриальные. Различные ткани цестод также могут образовывать разные конечные продукты, что, по-видимому, отражает их роль в обмене. ЛЖК, имеющие более низкие константы диссоциации по сравнению с пируватом, лактатом и сукцинатом, менее токсичны для тканей хозяина. Достоверно известно, как гельминты справляются с токсичностью своих конечных продуктов, которые все способны быть полностью окисленными через ЦТК. Если он действует, часть конечных продуктов может быть полностью окислена, а остаток ресинтезирован в гликоген. Известно, что пути, ведущие к образованию сукцината, малата и пропионата, обратимы и эти продукты потенциально глюконеогенные (Barrett, 1981).

Тканевое дыхание в митохондриях *B. scorpii* изучалось при помощи искусственного акцептора электронов, $K_3Fe(CN)_6$. Феррицианид калия удобен тем, что он принимает электроны на уровне цитохромов «b» и «с». Это позволяет изучать окисление субстратов, окисляющихся как через НАД, так и непосредственно через ФАД (флавинадениндуклеотид), и определять окислительную активность митохондрий с редуцированной дыхательной цепочкой.

Набухание митохондрий вызывается субстратами, которые поставляют электроны в основную цепь дыхания. Митохондрии *B. scorpii* обладают способностью к спонтанному набуханию, к набуханию в присутствии субстрата окисления, парахлормеркурийбензоата (п-хмб); выделенные митохондрии чувствительны к ионам K^+ и не чувствительны к ионам Ca^{2+} ; АТФ и ионы Mg^{2+} стабилизируют их структуру (см. рисунок).

Митохондрии *B. scorpii* восстанавливали феррицианид калия без добавления субстратов окисления. Эндогенное окисление было чувствительно к добавлению НАД, АТФ, малоната и бензоата. НАД увеличивал эндогенное окисление митохондрий на 31 %, АТФ — на 113 %; малонат ингибировал эндогенное окисление на 62, бензоат — на 81 %. Можно сделать вывод, что субстратами, окисляемыми при эндогенном процессе, являются жирные кислоты и сукцинатдегидрогеназа (СДГ).

Выделенные из *B. scorpii* митохондрии интенсивно окисляли сукцинат (табл. 3). Этот процесс протекал линейно в течение 30 мин, что говорит о стабильности сукцинатдегидрогеназного комплекса. В этом отношении *B. scorpii*, как и другие цестоды, не является исключением: сукцинатдегидрогеназа присутствует в тканях и прочно связана со структурой митохондрий. Сукцинатде-



Влияние различных эффектов на спонтанное набухание митохондрий *Bothriocephalus scorpii*.

1 — без добавок; 2 — $MgCl_2$; 3 — $MgCl_2$; 3 — АТФ; 4 — $CaCl_2$; 5 — KH_2PO_4 ; 6 — сукцинат; 7 — п-хмб.
По оси абсцисс — время (мин).

The influence of different effectors on spontaneous swelling of mitochondria *Bothriocephalus scorpii*.

гидрогеназа была обнаружена у *H. diminuta* (Read, 1952; Daugherty, 1954; Ward, Fairbairn, 1970), в сколексах *E. granulosus* (Agosin, Repetto, 1963), *M. expansa* (Davey, Bryant, 1969), *Mesocestoides corti* (Kohler, Hanselmann, 1974), *L. intestinalis* (McManus, 1975), *T. taeniaeformis* (Weinbach, Brand, 1970), *S. solidus* (Korting, Barrett, 1977), *S. mansonioides* (Fioravanti, Saz, 1978), у взрослых *Bothriocephalus gowkongensis*, *Khawia sinensis*, *Triaenophorus crassus* и *S. solidus* (Korting, 1976). Малонат в эквимольной концентрации угнетал окисление сукцината митохондриями *B. scorpii* на 37%. Добавление к реакционной среде п-хмб в концентрации 5 мМ угнетало окисление сукцината митохондриями полностью. Такое свойство п-хмб отмечено и для митохондрий позвоночных (Goodwin, 1960) и позволяет считать, что п-хмб полностью блокирует сульфгидрильные группы СДГ *B. scorpii*. Щавелевоуксусная кислота, являясь конкурентным ингибитором СДГ, угнетает окисление сукцината митохондриями *B. scorpii* на 82%.

Митохондрии *B. scorpii* окисляли α -кетоглутаровую кислоту (табл. 3), что свидетельствует о присутствии в митохондриях α -кетоглутаратдегидрогеназы.

Таблица 3

Интенсивность окисления субстратов цикла Кребса митохондриями *Bothriocephalus scorpii* (в мкмольх восстановленного $K_3Fe(CN)_6$ /мг белка/ 30 мин)

Table 3. Intensity of oxidation of substrates the Krebs cycle by mitochondria *Bothriocephalus scorpii* (in mkmol reduced $K_3Fe(CN)_6$ /mg protein/30 min)

Субстрат окисления	Интенсивность окисления	Субстрат окисления	Интенсивность окисления
Эндогенное окисление	1.78±0.16	Цис-аконитат	2.15±0.32
Сукцинат	11.4±3.15	Изоцитрат	4.55±1.49
α -кетоглутарат	5.41±0.94	Оксалоацетат	2.87±0.35
Малат	2.09±0.88	Цитрат	3.23±0.47
Фумарат	1.8±0.21	Пируват	2.87±0.39

Этот фермент был обнаружен и у других цестод (Daugherty, 1954; Agosin, Repetto, 1963; Davey, Bryant, 1969; Kohler, Hanselmann, 1974; McManus, 1975; Korting, Barrett, 1977). Добавление каталитических количеств НАД к реакционной среде практически не влияло на интенсивность процесса. В этом отношении митохондрии *B. scorpii* подобны митохондриям позвоночных, у которых окисление α -кетоглутарата в присутствии феррицианида калия идет в отсутствие НАД. Добавление каталитических количеств АДФ увеличивало активность процесса у *B. scorpii* на 17 %. Стимулирующее действие АДФ на окисление α -кетоглутарата, которое протекает без участия НАД, может быть объяснено тем, что процесс связан с фосфорилированием на уровне субстрата, и отсутствие акцептора макроэргического фосфата тормозит окисление. П-хмб тормозил процесс окисления α -кетоглутарата на 86 %, что, видимо, связано с ингибированием функциональных сульфгидрильных групп α -кетоглутаратдегидрогеназы.

Митохондрии *B. scorpii* способны окислять яблочную кислоту (табл. 3). Введение в состав инкубационной среды каталитических количеств НАД вызывало увеличение интенсивности процесса на 35 %, что говорит о присутствии в тканях цестоды малатдегидрогеназы (МДГ). Этот фермент присутствует у всех изучавшихся цестод (Read, 1953; Daugherty, 1954; Agosin, Repetto, 1963; Esch, 1964; Davey, Bryant, 1969; Ward, Fairbairn, 1970; Weinbach, Brand, 1970; Kohler, Hanselmann, 1974; McManus, 1975; Korting, Barrett, 1977; Fioravanti, Saz, 1978). У позвоночных для максимальной скорости окисления НАД-зависимых субстратов в присутствии феррицианида калия требуется обязательное присутствие АДФ. Добавление АДФ заметно ускоряло процесс окисления малата (на 79 %). Известно, что активность МДГ у позвоночных блокируется п-хмб. Ингибитор полностью угнетал окисление малата, видимо, ингибируя сульфгидрильные группы МДГ.

Выделенные из *B. scorpii* митохондрии способны окислять изоцитрат (табл. 3). Добавление НАД к инкубационной среде не влияло на окисление субстрата, а НАДФ увеличивал интенсивность процесса на 55 %. Это свидетельствует о присутствии в тканях *B. scorpii* НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы и способности тканей образовывать α -кетоглутарат. Изоцитратдегидрогеназа была обнаружена и в других цестодах (Agosin, Repetto, 1963; Esch, 1964; Davey, Bryant, 1969; Kohler, Hanselmann, 1974; McManus, 1975; Korting, 1976; Korting, Barrett, 1977). АТФ, являясь ингибитором изоцитратдегидрогеназы, угнетал процесс окисления изоцитрата с НАДФ на 31 %.

Митохондрии, выделенные из тканей *B. scorpii*, окисляли лимонную кислоту (табл. 3). Добавление каталитических количеств НАДФ вызывало увеличение интенсивности процесса на 33 %. Это подтверждает, что в тканях *B. scorpii* присутствует аконитаза. Присутствие этого фермента было отмечено и для других цестод (Agosin, Repetto, 1963; Davey, Bryant, 1969; Kohler, Hanselmann, 1974; McManus, 1975; Korting, 1976; Korting, Barrett, 1977).

Выделенные из тканей *B. scorpii* митохондрии способны окислять оксалоацетат и пируват, интенсивность окисления субстратов была на 60 % выше эндогенного окисления. При введении в инкубационную среду НАД наблюдалось увеличение окислительной способности только с оксалоацетатом (на 17 %). В тканях *B. scorpii* пируватдегидрогеназа, видимо, отсутствует, однако в плероцеркоидах *S. solidus* она обнаружена (Korting, Barrett, 1977).

Была отмечена способность митохондрий *B. scorpii* окислять цис-аконитовую кислоту, интенсивность окисления субстрата была на 20 % выше эндогенного окисления. При введении в инкубационную среду НАД наблюдалось увеличение окислительной способности митохондрий на 61 %. Это свидетельствует о присутствии в митохондриях *B. scorpii* фермента аконитазы,

катализирующего обратимое превращение цитрата в изоцитрат. В качестве промежуточного продукта образуется цис-аконитовая кислота. Аконитаза катализирует обратимое присоединение H_2O по двойной связи цис-аконитата. Уровни активности аконитазы и изоцитратдегидрогеназы у гельминтов обычно крайне низки. Подобный пример энзиматических активностей встречается у цестод, которые главным образом фиксируют CO_2 (*H. diminuta*, *S. solidus*, *L. intestinalis*).

Митохондрии, выделенные из *B. scorpii*, не окисляли фумаровую кислоту, интенсивность окисления была на уровне эндогенного (табл. 3). Добавление НАД к инкубационной среде вызывало увеличение процесса окисления на 32 %, что говорит о присутствии фумаразы. Этот фермент присутствовал в тканях и других цестод (Read, 1953; Agosin, Repetto, 1963; Davey, Bryant, 1969; Kohler, Hanselmann, 1974; McManus, 1975; Korting, 1976; Korting, Barrett, 1977). П-хмб полностью угнетал процесс окисления фумарата.

Подводя итог нашим опытам по определению окислительной активности с помощью феррицианида калия, можно сказать, что выделенные из *B. scorpii* митохондрии способны интенсивно окислять сукцинат, α -кетоглутарат, изоцитрат и менее интенсивно — цитрат, оксалоацетат, пируват, цис-аконитат, малат; фумарат совершенно не окислялся в наших опытах. Введение каталитических количеств НАД вызывало увеличение интенсивности окисления фумарата, малата, цис-аконитата, оксалоацетата и пирувата, а НАДФ — изоцитрата и цитрата. Классические ингибиторы (п-хмб, малонат и бензоат) оказывали четко выраженное воздействие на окислительные системы *B. scorpii*. Можно считать, что выделенные из тканей *B. scorpii* митохондрии по своим оптическим и биохимическим свойствам близки к митохондриям других изученных гельминтов и по ряду свойств напоминают митохондрии позвоночных. Следует отметить, что паразитический образ жизни и пребывание в почти анаэробной среде пилорических придатков бычка Брандта не оказали на митохондрии *B. scorpii* глубокого влияния и они не потеряли способность окислять большинство субстратов цикла Кребса. Способность к окислению субстратов *in vitro* еще не означает, что подобные процессы на самом деле идут *in vivo*. По этим опытам еще трудно судить об интенсивности и направленности метаболических процессов в тканях целой цестоды, паразитирующей в пилорусе хозяина.

Следует также признать, что в основном энергию для жизненных процессов *B. scorpii* черпают, видимо, за счет анаэробного распада углеводов, который заканчивается образованием молочной кислоты и летучих жирных кислот. В этом обмен углеводов у *B. scorpii* напоминает обмен других цестод, адаптированных к анаэробнобиозу.

Список литературы

- Митохондрии мышечной ткани *Ascaris suum*. Получение изолированной суспензии и изучение окислительной активности // Мед. паразитол. 1963. Т. 32, № 6. С. 683—687.
- Говорова С. В. Влияние некоторых производных дифенилсульфида на гексокиназу *Fasciola hepatica* // Тр. ВИГИС. 1971. Т. 18. С. 69—73.
- Давыдов О. Н., Куровская Л. Я., Стражник Л. В. Об углеводном питании цестоды *Bothriocephalus gowkongensis* (Gen. 1955) // Гидробиол. журн. 1973. Т. 9, № 6. С. 67—74.
- Agosin M. Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus*. II. Some observations on the carbohydrate metabolism of hydatid cyst scolices // Exp. Parasitol. 1957. Vol. 6, N 6. P. 586—593.
- Agosin M., Aravena L. Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus*. III. Glycolysis with special reference to hexokinases and related glycolytic enzymes // Biochem. Biophys. Acta. 1959. Vol. 34, N 1. P. 90—98.
- Agosin M., Repetto Y. Studies on the metabolism of *Echinococcus granulosus*. VII. Reactions of the tricarboxylic acid cycle in *Echinococcus granulosus scolices* // Comp. Biochem. Physiol. 1963. Vol. 8, N 3. P. 245—261.

- Barker S. B., Summerson W. H. The colorimetric determination of lactic acid in biological material // *Journ. Biol. Chem.* 1941. Vol. 138, N 2. P. 535—554.
- Barrett J. *Biochemistry parasitic helminths*. London; Basingstoke: MacMillan, 1981. 307 p.
- Behm C. A., Bryant C. Studies of regulatory metabolism in *Moniezia expansa*: general considerations // *Int. Journ. Parasitol.* 1975. Vol. 5, N 2. P. 209—217.
- Brand T. von, Churchwell F., Eckert J. Aerobic and anaerobic metabolism of larval and adult *Taenia taeniaeformis*. 5. Glycogen synthesis, metabolic end products and carbon balances of glucose and glycerol utilization // *Exp. Parasitol.* 1968. Vol. 23, N 3. P. 309—318.
- Brand T. von, Stites E. Aerobic and anaerobic metabolism of larval and adult *Taenia taeniaeformis*. 6. Glycogen synthesis from single substrates and substrate mixtures // *Exp. Parasitol.* 1970. Vol. 27, N 3. P. 444—453.
- Bueding E., Saz H. J. Pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities of *Ascaris muscle*, *Hymenolepis diminuta* and *Schistosoma mansoni* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1968. Vol. 24, N 2. P. 511—518.
- Daugherty J. W. Synthesis of amino nitrogen from ammonia in *Hymenolepis diminuta* // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 1954. Vol. 85, N 2. P. 288—294.
- Daugherty J. W., Taylor D. Regional distribution of glycogen in the rat cestode, *Hymenolepis diminuta* // *Exp. Parasitol.* 1956. Vol. 5, N 4. P. 376—390.
- Davey R. A., Bryant C. The tricarboxylic acid cycle and associated reactions in *Moniezia expansa* (Cestoda) // *Comp. Biochem. Physiol.* 1969. Vol. 31, N 3. P. 503—511.
- Dicowsky L., Repetto Y., Agosin M. Studies of the metabolism of *Echinococcus granulosus*. X. The mechanism of production of volatile fatty acids // *Comp. Biochem. Physiol.* 1968. Vol. 24, N 3. P. 763—772.
- Esch G. W. Comparative carbohydrate metabolism of adult and larval *Multiceps serialis* // *Journ. Parasitol.* 1964. Vol. 50, N 1. P. 72—76.
- Fairbairn D., Wertheim G., Harpur R. P., Schiller E. I. Biochemistry of normal and irradiated strains of *Hymenolepis diminuta* // *Exp. Parasitol.* 1961. Vol. 11, N 3. P. 248—263.
- Fioravanti C. F., Saz H. J. «Malic» enzyme, fumarate reductase and transhydrogenase systems in the mitochondria of adult *Spirometra mansonioides* (Cestoda) // *Journ. Exp. Zool.* 1978. Vol. 206, N 1. P. 167—178.
- Goodwin T. W. *Recent advances in biochemistry*. London; Churchill, 1960. 125 p.
- Kohler P., Hanselmann K. Anaerobic and aerobic energy metabolism in the larvae (Tetrathyridia) of *Mesocestoides corti* // *Exp. Parasitol.* 1974. Vol. 36, N 2. P. 178—188.
- Kommuniecki R., Roberts L. S. Hexokinase from the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1977. Vol. 57 B, N 1. P. 45—49.
- Korting W. Metabolism in parasitic helminths of freshwater fish // *Biochemistry of parasites and host-parasite relationships*. Ed. H. Van den Bosshe. 1976. P. 95—100.
- Korting W., Barrett J. Carbohydrate catabolism in the plerocercoids of *Schistocephalus solidus* (Cestoda: Pseudophyllidea) // *Int. Journ. Parasitol.* 1977. Vol. 7, N 5. P. 411—417.
- Laurie J. S. The in vitro fermentation of carbohydrates by two species of cestodes and one species of acanthocephala // *Exp. Parasitol.* 1957. Vol. 6, N 3. P. 245—260.
- Lee C. G. L., Ip Y. K. Effect of host fasting and subsequent refeeding on the glycogen metabolizing enzymes in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) // *Biol. Bull.* 1986. Vol. 171, N 2. P. 417—425.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Parr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Journ. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, N 1. P. 265.
- McManus D. P. Pyruvate kinase in the plerocercoid of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllida) // *Int. Journ. Biochem.* 1975. Vol. 6, N 1. P. 79—84.
- McManus D. P., Sterry P. R. *Ligula intestinalis*: intermediary carbohydrate metabolism in plerocercoids and adults // *Z. Parasitenk.* 1982. Bd. 67, H. 1. S. 73—85.
- Moczon T. Regulacja metabolizmu w ontogenezie helmintow // *Kosmos (PRL)*. 1974. A 23, N 6. P. 597—613.
- Morris S. The estimation of glycogen with anthrone reagent // *Science*. 1948. Vol. 107, N 2775. P. 254.
- Orrell S. A., Bueding E., Colucci A. V. Relationship between sedimentation coefficient distribution and glycogen level in the cestode *Hymenolepis diminuta* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1966. Vol. 18, N 3. P. 657—662.
- Prichard R. K., Schofield P. J. A comparative study of the tricarboxylic acid cycle enzymes in *Fasciola hepatica* and rat liver // *Comp. Biochem. Physiol.* 1968. Vol. 25, N 3. P. 1005—1019.
- Randerath K. *Thin-layer chromatography*. N. Y, London: Acad. Press, 1966. P. 256—258.
- Read C. P. Contribution to cestode enzymology. I. Cytochrome system and succinic dehydrogenase in *Hymenolepis diminuta* // *Exp. Parasitol.* 1952. Vol. 1, N 4. P. 352—362.
- Read C. P. Contributions to cestode enzymology. II. Some anaerobic dehydrogenases in *Hymenolepis diminuta* // *Exp. Parasitol.* 1953. Vol. 2, N 4. P. 341—347.
- Read C. P. Carbohydrate metabolism of *Hymenolepis diminuta* // *Exp. Parasitol.* 1956. Vol. 5, N 4. P. 325—344.
- Read C. P. *Intermediary metabolism of flatworms* // *Chemical Zoology*. Vol. 2. Ed. Florkin M., Scheer B. T. N.Y: Acad. Press, 1968. P. 327—357.

- Read C. P., Rothman A. M. The role of carbohydrates in the biology of cestodes. III. Studies on two species from dogfish // *Exp. Parasitol.* 1957. Vol. 6, N 3. P. 288—293.
- Read C. P., Rothman A. M. The role of carbohydrates in the biology of cestodes. VI. The carbohydrates metabolized in vitro by some Cyclophyllidean species // *Exp. Parasitol.* 1958. Vol. 7, N 2. P. 217—223.
- Read C. P., Simmons J. E. Biochemistry physiology of tapeworms // *Physiol. Rev.* 1963. Vol. 43, N 2. P. 263—305.
- Reissing M., Colucci A. V. Localization of glycogen in cestode *Hymenolepis diminuta* // *Journ. Cell. Biol.* 1968. Vol. 39, N 3. P. 754—763.
- Reuter J. Studies on plerocercoids of *Diphyllobothrium dendriticum*. III. The dependence of lactic and succinic acid excretion on the gas phase // *Acta Acad. Abo.* 1967. Vol. 27, N 1. P. 1—27.
- Saidur R. M., Mettrick D. F. Carbohydrate intermediary metabolism in *Hymenolepis microstoma* (Cestoda) // *Int. Journ. Parasitol.* 1982. Vol. 12, N 2—3. P. 155—162.
- Scheibel L. W., Saz H. J. The pathway for anaerobic carbohydrate dissimilation in *Hymenolepis diminuta* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1966. Vol. 18, N 1. P. 151—162.
- Sterry P. R., McManus D. P. Ligula intestinalis: biochemical composition, carbohydrate utilization and oxygen consumption of plerocercoids and adults // *Z. Parasitenk.* 1982. Bd 67, H. 1. S. 87—98.
- Ward C. W., Fairbairn D. Enzymes of β -oxidation and the tricarboxylic acid cycle in adult *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and *Ascaris lumbricoides* (Nematoda) // *Journ. Parasitol.* 1970. Vol. 56, N 5. P. 1009—1012.
- Webster L. A. Succinic and lactic acids present in the protonephridial canal fluid of *Hymenolepis diminuta* // *Journ. Parasitol.* 1972. Vol. 58, N 2. P. 410—411.
- Weinbach E. C., Brand T. von. The biochemistry of cestode mitochondria. I. Aerobic metabolism of mitochondria from *Taenia taeniaeformis* // *Int. Journ. Biochem.* 1970. Vol. 1, N 1. P. 39—56.

БПИ ДВО РАН,
Владивосток, 690022
e-mail: burenina@ibss.dvo.ru

Поступила 20.08. 2000

PECULIARITIES OF CARBOHYDRATE METABOLISM OF BOTHRIOCEPHALUS SCORPII (CESTODA: BOTHRIOCEPHALIDAE)

E. A. Burenina

Key words: Cestoda, *Bothriocephalus scorpii*, end products, glucose, glycogen, mitochondrion.

SUMMARY

The cestodes *Bothriocephalus scorpii* during the incubation in vitro assimilated glucose from the incubation medium and synthesized of glycogen. End products of carbohydrate metabolism in *B. scorpii* were lactic, succinic and volatile fatty acids. Mitochondria isolated from *B. scorpii* intensively oxidized succinate, α -ketoglutarate, isocitrate and less intensively oxidized citrate, oxalacetate, pyruvate, cis-aconitate and malate.