

УДК 576.895.122 : 577.11.114

**КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ТРЕМАТОД,
ПАРАЗИТИРУЮЩИХ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

© Э. А. Буренина

Трематоды *Eurytrema pancreaticum* и *Calicophoron ijimai* при инкубации *in vitro* потребляют глюкозу из среды и расходуют эндогенный гликоген. Конечные продукты углеводного обмена каликофоронов — молочная, уксусная, пропионовая, изомаляная и α -метилмалая кислоты, эурирем — молочная, уксусная, пропионовая, изомаляная, масляная, α -метилмалая, валериановая, капроновая кислоты. Испытано действие антгельминтных препаратов на углеводный обмен и конечные продукты обмена.

Распад углеводов у гельминтов по схеме Эмбдена—Мейергофа изучался рядом авторов, которые пришли к выводу, что процессы анаэробного окисления углеводов близки подобным процессам у позвоночных. У млекопитающих конечный продукт гликолиза (пируват) может выводиться из организма, полностью или частично окисляться, или частично использоваться для ресинтеза гликогена. Основную энергию трематоды получают за счет анаэробных ферментаций. Для трематод из кровяного русла и тканей — это гомолактатная ферментация, основным конечным продуктом которой является лактат, для кишечных трематод — ферментации, связанные с фиксацией CO_2 , частично вовлекающие и цикл Кребса. Конечные продукты в этом случае — летучие жирные кислоты и CO_2 . Однако в природе нет резкого деления на эти два типа: паразиты, которые фиксируют CO_2 , часто кроме летучих жирных кислот продуцируют лактат, а гомолактатные ферментеры могут фиксировать CO_2 в определенных пределах. Выделяемые конечные продукты зависят от многих внешних и внутренних факторов. К их числу относятся прежде всего состав среды культивирования, методы определения конечных продуктов, парциальное давление O_2 и CO_2 в среде.

Состав конечных продуктов, выделяемых трематодами в среду содержания, представляет большой интерес для понимания путей, с помощью которых утилизируются углеводы в процессе аэробных и анаэробных ферментаций, в которых образуются богатые энергией соединения. Первые работы по изучению конечных продуктов трематод относятся к началу нашего века. Так, Вейнланд и фон Бранд (Weinland, Brand, von, 1926) определили, что конечными продуктами ферментации углеводов печеночной двуустки *Fasciola hepatica* являются свободные жирные кислоты с длинной углеродной цепью и CO_2 .

Разные виды гельминтов резко отличаются конечными продуктами углеводного обмена. Работы исследователей по этому вопросу обобщены в ряде обзоров и монографий (Bueding, 1950; Read, 1961, 1968; Smyth, 1966; Brand, von, 1973; Coles, 1973, 1975; Soprunov, 1978; Barrett, 1984). Различен состав конечных продуктов трематод. Так, *Schistosoma mansoni*, обитающая в крови, где достаточно кислорода, выделяет в основном молочную кислоту, количество которой составляет 80—90 % потребленной глюкозы, и небольшое количество CO_2 и H_2O (Bueding, 1950). На обмен этого паразита не влияет наличие или отсутствие O_2 в среде. Дочерние спорозисты *S. mansoni* при содержании в аэробных условиях также выделяют молочную кислоту

(Coles, 1973). Трематоды *Paragonimus westermani* и *P. miyazakii*, также живущие в среде, богатой кислородом (в легких), выделяют летучие жирные кислоты — муравьиную, уксусную, пропионовую, н-масляную, α -метилмасляную, н-валерьяновую и н-капроновую (Намајима, 1967).

Объектами нашего исследования были трематоды *Eurytrema pancreaticum*, паразитирующие в поджелудочной железе, и *Calicophoron iijimai*, паразитирующие в рубце крупного рогатого скота. Эти гельминты широко распространены на Дальнем Востоке, однако углеводный обмен и конечные продукты обмена не изучены.

Цель настоящей работы — изучение конечных продуктов углеводного обмена трематод, паразитирующих у крупного рогатого скота, а также изучение влияния некоторых антгельминтных препаратов на состав и количество конечных продуктов обмена.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гельминтов, собранных сразу же после забоя скота, споласкивали физиологическим раствором, промывали раствором Гедона—Флейга с антибиотиками и подсушивали фильтровальной бумагой. 1.5 г червей помещали в колбы с 60 мл среды Гедона—Флейга, в 1 л которой содержалось 2 г глюкозы, 1 000 000 ЕД пенициллина и 1 200 000 ЕД стрептомицина, инкубировали в термостате при 37° в течение 24 ч. Стерильность среды проверяли посевом на агаре до и после 24 ч инкубации. Среда была стерильной. Для создания анаэробных условий среду перед помещением червей и после дегазировали в течение 3 мин. Молочную кислоту в среде содержания определяли колориметрическим методом с параоксидифенилом (Barker, Summerson, 1941). Присутствие оргкислот в среде содержания определяли методом тонкослойной хроматографии на ацетилцеллюлозе (Randerath, 1966). Общее количество летучих жирных кислот определяли титрованием отогнанных проб 0.01 N H₂SO₄. Летучие жирные кислоты из среды содержания отгоняли с водяным паром. После нейтрализации дистиллята 0.05 N КОН и его упаривания получали смесь калиевых солей летучих жирных кислот (ЛЖК). Высушенные соли непосредственно перед анализом заливали хлороформом и по каплям добавляли концентрированную H₃PO₄ до полного перехода кислот в хлороформ. Состав ЛЖК определяли с помощью газожидкостного хроматографа С_G-5А «Shimadzu» на 15 %-ном неопентилгликольсукцинате, содержащем 2 % H₃PO₄. Твердой фазой служил хромосорб W. Длина колонки 2 м, температура разделения 145°, скорость потока гелия 65, 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 C₁—C₆ кислот.

Антгельминтные препараты растворяли в 96 %-ном этаноле и вносили в среду инкубации, параллельно ставили контроль на спирт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При 24-часовом содержании в среде Гедона—Флейга с глюкозой эуритремы и каликофороны активно поглощают глюкозу из окружающей среды и утилизируют ее. Эти данные подтверждает присутствие высокоактивной гексокиназы (у эуритрем — 12.1 ± 0.3 , у каликофоронов — 25.5 ± 0.2 нмолей превращенного субстрата/мин/мг белка). Эуритремы способны синтезировать гликоген при содержании в аэробных условиях и расходовать его — в анаэробных. В условиях голодания гликоген тканей эуритрем быстро расходуется и составляет в аэробных условиях 30.8, а в анаэробных — 46.2 % от исходного, а у каликофоронов расход гликогена не зависит от

Таблица 1
Утилизация углеводов и образование конечных продуктов
в *Calicophoron ijimai*

Table 1. Utilisation of carbohydrates and formation
of final products in *Calicophoron ijimai*

Утилизируемые углеводы и образующиеся конечные продукты	Условия	
	аэробные	анаэробные
Количество гликогена до инкубации*	766.5 ± 43.2	766.5 ± 43.2
Убыль гликогена*	151.1 ± 9.2	385.5 ± 40.7
Поглощение глюкозы**	140 ± 4	118.8 ± 17.7
Молочная кислота	102.3 ± 14.5	101.2 ± 11.1
Общее количество выделен- ных летучих кислот**	672.9 ± 3.8	690.4 ± 6.5
Кислота		
уксусная**	69.3 ± 0.4	69.7 ± 0.7
пропионовая**	510.7 ± 2.9	528.9 ± 5
изомасляная**	44.4 ± 0.3	39.3 ± 0.4
α-метилмасляная	48.4 ± 0.3	52.5 ± 0.6

Примечание. * Количество гликогена и его расход дан в мкмольях/г сырой массы глюкозных эквивалентов в течение 1 сут ± стандартная ошибка.

** Количество поглощенной глюкозы и выделенных в среду кислот за 1 сут ± стандартная ошибка среднего (в мкмольях/г сырой массы). Повторность всех опытов 6-кратная.

условий содержания и составляет 18.2—18.4 %. О способности расщеплять гликоген в условиях голодания свидетельствует высокая активность фосфорилазы (у эуритрем — 8.0 ± 0.2 , у калифоронов — 15.6 ± 0.6 нмоль превращенного субстрата/мин/мг белка).

Таким образом, эуритремы и каликофороны при содержании как в аэробных, так и в анаэробных условиях потребляют глюкозу из среды и расщепляют резервные полисахариды тканей, но в анаэробных условиях эти процессы протекают интенсивнее. Наши данные согласуются с данными, полученными на других паразитических трематодах: *Fasciola hepatica* (Weinland, Brand, 1926; Mansour, 1959; Сенутайте, 1968), *Fasciola gigantica* (Goil, 1961; El-Hehyawi, 1969; Al-Barwari, Abdel-Fattah, 1975), *Schistosoma mansoni* (Bueding, 1950; Magzoub, Maegraith, 1969; Magzoub, 1974; Schiller e. a., 1975; Bueding, Fisher, 1982), *Paramphistomum explanatum* и *Gastrothylax crumenifer* (Goil, 1957), *Dicrocoelium dendriticum* (Kohler, Stahel, 1972; Kohler, Hanselmann, 1973).

Конечные продукты углеводного обмена эуритрем и каликофоронов различаются (табл. 1, 2). Как видно из табл. 1, у каликофоронов летучие жирные кислоты составляют основную часть конечных продуктов, так как лишь 12—15 % кислотных групп оттитровываются после упаривания ЛЖК в аликвотной части среды содержания, полученной после пропускания ее через катионит. Состав их не зависел от наличия или отсутствия O_2 в среде инкубации. Эффект Пастера отсутствовал. Лактат составлял примерно 13 % всех конечных продуктов, а пропионат — 66—80 %. Соотношение пропионата к ацетату составляло в аэробных условиях 7.4 : 1, в анаэробных — 7.7 : 1.

Эуритремы — паразиты поджелудочной железы коров, утилизировали углеводы с иными результатами (табл. 2). Лактат у этой трематоды составлял 20—30 % всех конечных продуктов, при этом количество его повышалось при содержании эуритрем

Таблица 2

Утилизация углеводов и образование конечных продуктов в *Eurytrema pancreaticum*Table 2. Utilisation of carbohydrates and formation of final products in *Eurytrema pancreaticum*

Утилизованные углеводы и образовавшиеся конечные продукты	С глюкозой		Без глюкозы	
	аэробные	анаэробные	аэробные	анаэробные
Глюкоза и глюкозные эквиваленты	94 ± 3.8	88.4 ± 2.7	69.4 ± 5.8	68.0 ± 1.3
Лактат	47.8 ± 0.7	38.5 ± 1.8	36.3 ± 1	38.9 ± 3.5
Сукцинат	Следы	Следы	Следы	Следы
Общее количество летучих кислот	108.9 ± 8.2	123.7 ± 0.6	86.4 ± 7.2	80.6 ± 12.4
Кислота				
муравьиная	0.4 ± 0.1	1 ± 0	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.04
уксусная	18.1 ± 0.7	13.8 ± 0.01	11 ± 1.3	11.8 ± 1
пропионовая	68 ± 1	82.7 ± 0.02	32.4 ± 4.4	46.6 ± 1
изомасляная	2.8 ± 0.3	3.1 ± 0	2.8 ± 0.3	2.7 ± 0.1
масляная	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0	2.9 ± 0.4	1.2 ± 0.1
α-метилмасляная	3.9 ± 0.2	5.6 ± 0	4.6 ± 0.2	4.4 ± 0.2
валерьяновая	3 ± 0.1	3.2 ± 0	6.3 ± 1.2	2.7 ± 0.2
капроновая	11.0 ± 0.7	12.5 ± 0	24.8 ± 3.8	10.8 ± 0.4

Примечание. Глюкозный эквивалент гликогена в мкмольях равен массе гликогена × 11.1/180; все результаты выражены в мкмольях на 1 г сырой массы ± стандартная ошибка среднего. Повторность опытов 4—12-кратная.

в среде с глюкозой. Набор летучих кислот, выделяемых в среду эуритремами, шире, чем каликофоронами. Эффект Пастера отсутствовал. Отношение количества пропионата к ацетату было выше в анаэробных условиях как в среде с глюкозой, так и без нее и составило соответственно 6 : 1 и 4 : 1, а в анаэробных условиях — 3.8 : 1 и 3 : 1. Трематоды *Paragonimus westermani* и *P. miyazakii*, живущие в среде, богатой кислородом (в легких), имеют такой же набор ЛЖК, как и эуритремы (Намадзима, 1967).

Пропионат, как известно, образуется у беспозвоночных двумя путями: 1) через превращение малата в фумарат с помощью фумаразы и фумарата в сукцинат фумаратредуктазой и 2) через декарбоксилирование малата в пируват «малик»-энзимом, переаминирование пирувата с глутаматом и образование α-кетоглутарата. Поскольку у беспозвоночных имеются ферменты, способные превращать α-кетоглутарат в сукцинат, данная реакция служит еще одним существенным источником накопления сукцината при анаэробнозе (Хочачка, Сомеро, 1977). У каликофоронов и эуритрем нами обнаружены ферменты, способные обеспечить этот путь: фумаратредуктаза, «малик»-энзим, аланин- и аспаргатаминотрансферазы и др. (Выхрестюк и др., 1984, 1987). Значит, оба пути для образования пропионата у изучаемых трематод присутствуют.

Кроме ЛЖК конечными продуктами углеводного обмена эуритрем являются янтарная и фумаровая кислоты. В этом отношении наши данные согласуются с данными, полученными на *Paragonimus westermani* и *Eurytrema pancreaticum* (Ahn, Seo, 1972).

Наиболее подробно конечные продукты углеводного обмена охарактеризованы у *Fasciola hepatica*. Основную часть конечных продуктов у фасциол как в аэробных, так и в анаэробных условиях составляли пропионовая и уксусная кислоты в соотношении 3 : 1, лишь 4—9 % использованных углеводов превращалось в молочную кислоту (Mansour, 1959; Сенутайте, 1968; Zoeten e. a., 1969; Moss, 1970; Lahoud e. a., 1971a, 1971b, 1971c). Кроме органических кислот фасциолы выделяли большое количество CO₂, которое было одинаковым как в аэробных, так и в анаэробных условиях. обстоятельные работы последних авторов по установлению конечных

продуктов, выделяемых фасциолами, показали, что главным конечным продуктом обмена ^{14}C -пирувата являются ацетат и пропионат. В отсутствие эндогенных субстратов и глюкозы в анаэробных условиях уксусная кислота составляла 30 % от всех экскретируемых ЛЖК. Ацетат возникал при декарбоксилировании пирувата. Также показано превращение C^{14} -меченых аминокислот с разветвленной углеродной цепью в соответствующие ЛЖК. Лейцин, изолейцин и валин превращались в изовалериановую, 2-метилмасляную и изомасляную кислоты соответственно. Экскреция изобутирата, извалерата и 2-метилбутирата вызывала одновременное снижение скорости продуцирования ацетата.

Взрослые фасциолы приспособились к жизни в среде с низким содержанием O_2 . Глюкоза через систему анаэробного фосфорилирования трансформируется в CO_2 , лактат и малат, который в митохондриях затем преобразуется через пируват в ацетат и CO_2 или трансформируется в фумарат и через сукцинат окисляется до CO_2 и пропионата. Оба эти процесса идут с образованием АТФ (Lloyd, 1986).

Ювенильные мигрирующие *F. hepatica* имеют обмен, отличный от обмена взрослых. Сравнительное изучение обмена неполовозрелых 3-недельных и взрослых фасциол показало, что у молодых марит имеет место более слабый поток глюкозы через гликолиз, так как меченая глюкоза утилизировалась с половинной скоростью от скорости, характерной для взрослых фасциол (Williams, Bryant, 1963). У 6-недельных фасциол промежуточный обмен подобен таковому взрослых фасциол в желчном протоке, хотя они могут иметь больший потенциал для использования цикла Кребса (Prichard, 1974).

Успешное культивирование в больших масштабах личинок фасциол *in vitro* позволило провести группе бельгийских ученых обстоятельные работы (Tielens e. a., 1981a, 1981b; Tielens, 1982). Молодые мариты были изолированы сразу после вылупления из метацеркариальных цист и инкубированы *in vitro* с равномерно меченой глюкозой. В аэробных условиях CO_2 была главным конечным продуктом расщепления глюкозы. В отсутствие O_2 глюкоза превращалась главным образом в пропионат и ацетат в молярном соотношении 2 : 1. Авторы пришли к выводу, что молодые фасциолы имеют аэробный энергетический обмен, но уже физиологически подготовлены к бескислородному существованию, т. е. должны быть отнесены к факультативным анаэробам. В процессе развития они постепенно адаптируются к анаэробному образу жизни, так как по мере роста они получают все меньшее количество O_2 , которое поступает к тканям путем диффузии и поэтому обратно пропорционально размерам паразита (Tielens, 1982; Tielens e. a., 1984). Эта точка зрения подкрепляется еще и тем, что конечные продукты разрушения глюкозы различны в свежévelупившихся и 24—25-дневных марит. Если первые в аэробных условиях продуцируют преимущественно CO_2 и небольшое количество ацетата, то вторые — ацетат, пропионат (2 : 1) и лишь следы CO_2 . В анаэробных условиях состав этих продуктов почти одинаков в обеих возрастных стадиях.

Работы по конечным продуктам распада углеводов в других трематодах немногочисленны. Основным конечным продуктом гликолиза у *F. gigantica* является молочная кислота, содержание ее в среде составляет 2.18 % сухого веса ткани (Goil, 1961). У *Clonorchis sinensis* тоже около 50 % продуцируемых кислот составляет молочная кислота. У *Dicrocoelium dendriticum* при инкубации в анаэробной среде с глюкозой основными продуктами распада углеводов были лактат (40 % общего количества потребленной ^{14}C -глюкозы), ацетат и пропионат (по 30 %) и очень небольшое количество сукцината и CO_2 (Kohler, Stahel, 1972).

Как показали опыты с меченой глюкозой, у трематоды *Echinostoma liei* и в аэробных, и в анаэробных условиях конечными продуктами ферментаций были ЛЖК, лактат, CO_2 и небольшое количество сукцината. В отличие от других трематод основным конечным продуктом у *E. liei* был н-валерат. Интересно, что при инкубации с 3, 4- ^{14}C -глюкозой выделялось в 20 раз больше CO_2 , чем с 1- ^{14}C -глюкозой в анаэробных условиях и в 26 раз больше, чем в аэробных условиях. Этот факт авторы объясняют неполной ферментацией глюкозы и происхождением CO_2 из 3-го или 4-го

Таблица 3

Влияние антгельминтных препаратов на выделение летучих жирных кислот каликофоронами
 Table 3. The effect of anthelmintic preparations on the volatile fatty acid excretion
 in the calocophorones

Среда содержания	Кислота, % от общего количества			
	уксусная	пропионовая	изомасляная	α -метилмасляная
Аэробные				
Среда Гедона—Флейга с глюкозой (контроль)	9.7 ± 0.7	75.3 ± 1.8	6 ± 0.7	9 ± 0.5
Та же + Г-1026	14.5 ± 0.4	74.9 ± 1.3	5.7 ± 0.8	5.3 ± 0.5
Та же + Г-937	13.7 ± 0.7	72 ± 0.4	6.9 ± 0.3	7.3 ± 0.2
Та же + оксинид	12.7 ± 0.8	73.9 ± 0.4	6.2 ± 0.2	7.2 ± 0.3
Анаэробные				
Среда Гедона—Флейга с глюкозой (контроль)	11.2 ± 0.9	74.4 ± 1.1	6.8 ± 0.6	7.6 ± 1.1
Та же + Г-1026	12.2 ± 0.5	77.6 ± 0.6	4.5 ± 0.5	5.8 ± 0.2
Та же + Г-937	12.7 ± 0.3	74 ± 0.5	6.4 ± 0.2	6.8 ± 0.4
Та же + оксинид	10.2 ± 1	76.5 ± 0.6	6.4 ± 0.6	6.8 ± 0.2

Примечание. Все антгельминтные препараты добавлены в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М/л.

атомов углерода молекулы глюкозы. Анаэробноз приводил к увеличению общего количества летучих кислот. Количество н-валерата, основного конечного продукта, возрастало более чем вдвое. Определяя наличие и количество метки в ЛЖК, образованных эхиностомами при инкубации с $6\text{-}^{14}\text{C}$ -глюкозой, авторы (Schaefer e. a., 1977) пришли к выводу, что большинство, если не все ЛЖК, происходят из экзогенной глюкозы.

Каванака и др. (Kawanaka e. a., 1989) в условиях *in vitro* изучали образование конечных продуктов метаболизма глюкозы у взрослых *S. japonicum*, которых содержали в среде с D- $(^{13}\text{C}_6)$ -глюкозой. Работу проводили с использованием метода ЯМР-спектроскопии. Установлено, что в аэробных условиях образуются лактат и аланин, а в анаэробных — лактат, аланин, сукцинат и ацетат. Последние два вещества как конечные продукты метаболизма глюкозы у взрослых шистозом установлены впервые. Наличие лактата и сукцината позволяет предполагать наличие частично обращенного ЦТК у взрослых шистозом в анаэробных условиях.

Способность к образованию целого ряда конечных продуктов дает гельминту возможность гибко поддерживать восстановительные сопряжения. Кроме того, различные конечные продукты могут быть произведены в разных клеточных структурах. Лактат — характерный цитоплазматический конечный продукт, ацетат и пропионат — митохондриальные. Различные ткани паразита также могут образовывать неодинаковые конечные продукты, отражающие их роль в обмене (Lahoud e. a., 1971c; Barrett, 1981).

Варьирование условий окружающей среды также приводит к изменению состава конечных продуктов. В отсутствие глюкозы *F. hepatica* продуцирует ацетат и пропионат и лишь следы лактата, в присутствии экзогенной глюкозы выделение лактата возрастает (Mansour, 1959; Lloyd, Barrett, 1983). Из этого следует, что в присутствии экзогенной глюкозы обменный поток в трематодах может переключаться с одного пути на другой, что предотвращает избыточное накопление метаболитов.

Основное преимущество гельминтов состоит в их способности изменять восстановительные сопряжения. Это позволяет идти синтетическим реакциям во время длительного анаэробноза. Синтетические пути как продуцируют, так и используют восстановительные эквиваленты, общий баланс направлен на производство избытка

Таблица 4

Влияние антгельминтных препаратов на выделение летучих жирных кислот эуритремами
(в % от общего количества)

Table 4. The effect of anthelmintic preparations on the volatile fatty acid excretion
in the eurythremes
(% from common quantity)

Жирная кислота	Среда Гедон—Флейга с глюкозой			
	контроль	+ Г-1026	+ Г-937	+ оксидид
Аэробные условия				
Уксусная	14.1 ± 0.7	12.6 ± 2.1	13.6 ± 1	22.1 ± 0.8
Пропионовая	53.8 ± 3.2	79.7 ± 2.5	77.5 ± 0.7	57.6 ± 1.1
Изомасляная	6.8 ± 0.2	3.7 ± 0.5	4.4 ± 0.2	8.3 ± 0.5
Масляная	3 ± 0.8	0	0	1.7 ± 0.4
α-метилмасляная	8.7 ± 0.3	4.0 ± 0.3	4.5 ± 0.7	10.6 ± 0.5
Валерьяновая	5.8 ± 1.2	0	0	0
Капроновая	7.8 ± 0.9	0	0	0
Анаэробные условия				
Уксусная	13.8 ± 1.3	11.2 ± 1	13.1 ± 0.4	8.8 ± 0.7
Пропионовая	75.6 ± 1.9	84.2 ± 1.1	81.2 ± 0.6	85.3 ± 0.6
Изомасляная	3.4 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.2
α-метилмасляная	4.2 ± 0.3	2.3 ± 0	2.9 ± 0.2	3.2 ± 0.2
Валерьяновая	Следы	0	0	0
Капроновая	3.1 ± 0.6	0	0	0
Масляная	Следы	0	0	0

Примечание. Все антгельминтные препараты добавлены в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ М/л.

восстановительных сил (Barrett, 1984). Накопление конечных продуктов должно быть совместимо с нормальным функционированием тканей. Летучие жирные кислоты, имеющие более низкие константы диссоциации по сравнению с пируватом, лактатом и сукцинатом, менее токсичны для тканей хозяина (Moss, 1970). Хотя ЛЖК имеют низкий рКА, высокие их концентрации могут нарушать функции митохондрий. Достоверно неизвестно, как гельминты справляются с токсичностью своих конечных продуктов. Свободноживущие организмы аккумулируют аэробные конечные продукты и затем реметаболизируют их при аэробных условиях. Все конечные продукты распада углеводов могут быть полностью окисленными через ЦТК. Если он действует, часть конечных продуктов может быть полностью окислена, остаток ресинтезирован в гликоген. Ресинтез углеводов из конечных продуктов в гельминтах почти не изучен. Однако известно, что пути, ведущие к образованию сукцината, малата и пропионата, обратимы и эти продукты потенциально глюконеогенные. Ресинтез глюкозы или гликогена из пирувата, лактата, этанола или ацетата требует добавочных путей вследствие высокого значения изменения свободной энергии их образования. Различные конечные продукты катаболизма глюкозы в гельминтах варьируют и по числу молей АТФ, образованных на моль глюкозы или глюкозной единицы гликогена. Самая низкая продукция АТФ — при образовании лактата, этанола или пирувата — 2 моля АТФ на моль распавшейся глюкозы.

Было изучено также влияние антгельминтных препаратов различной природы на выживаемость трематод при содержании их *in vitro*. Наиболее чувствительными к действию различных препаратов были эуритремы. Все антгельминтные препараты, внесенные в среду инкубации эуритрем в концентрациях 10^{-5} М и 10^{-4} М, за 12 ч

инкубации убивали трематод. Наиболее токсичными для каликофоронов в этих условиях были битионол, празиквантель, трихлорофен, бромоксан.

Влияние препаратов на расход гликогена каликофоронами было минимальным. Мало менялось и количество потребляемой глюкозы как у эуритрем, так и у каликофоронов. Все препараты увеличивали расход гликогена эуритремами: тегалид, бромоксан, Г-1028, фенбендазол, Г-1026, Г-937 увеличивали в 2—2.5 раза. Оксинид ингибировал поглощение глюкозы на 50 % и в аэробных, и в анаэробных условиях.

При определении молочной кислоты и летучих кислот, выделенных в среду инкубации, было исследовано действие трех препаратов: оксинид, Г-937 и Г-1026. У каликофоронов количество молочной кислоты, выделяемое в среду, резко возрастало под действием всех трех препаратов, особенно сильное увеличение вызывал оксинид в аэробных условиях. Соотношение летучих кислот при действии этих препаратов менялось мало, препарат Г-1026 приводит к небольшому уменьшению образования изомасляной и α -метилмасляной кислот у каликофоронов (табл. 3).

Добавление всех трех препаратов в среду содержания эуритрем увеличивало выделение молочной кислоты (Г-1026 — на 48 %, Г-937 — на 260.7, оксинид — на 94 %) по сравнению с контролем. Добавление всех препаратов резко меняло соотношение летучих жирных кислот, выделяемых в среду содержания (табл. 4). Все препараты подавляли выделение масляной, валерьяновой и капроновой кислот, резко возрастало выделение пропионовой кислоты, особенно в анаэробных условиях. Изменение состава конечных продуктов свидетельствует об изменении направленности обмена веществ под влиянием добавленных препаратов. Об этом же свидетельствует и угнетение активности ферментативных систем при добавлении препаратов (Выхрестюк и др., 1982, 1984).

Список литературы

- Выхрестюк Н. П., Клочкова В. И., Буренина Э. А., Михайлицын Ф. С. Влияние некоторых антгельминтных препаратов на активность ключевых ферментов гликолиза трематоды *Calicophoron erschowi* // Мед. паразитол. 1982. Т. 3, № 6. С. 37—41.
- Выхрестюк Н. П., Буренина Э. А., Клочкова В. И., Ярыгина Г. В., Михайлицын Ф. С. Влияние некоторых антгельминтных препаратов на углеводный обмен трематоды *Eurytrema pancreaticum* // Мед. паразитол. 1984. № 1. С. 64—68.
- Выхрестюк Н. П., Буренина Э. А., Ярыгина Г. В., Хаматова А. Ю. Ферменты углеводного обмена в трематодах *Calicophoron ijimai* и турбелляриях *Phagocata sibirica* // Гельминты и вызываемые ими заболевания. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1987. С. 97—107.
- Сенутайте А. Ю. Летучие жирные кислоты, выделяемые трематодой *Fasciola hepatica* L. // Acta Parasitologica Lityanica. 1968. N 8. С. 75—80.
- Хочачка П., Сомеро Д. Метаболическая судьба пирувата и второй путь к сукцинату // Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. С. 66—68.
- Ahn J.-H., Seo B.-S. Paper chromatographic analysis of the carbohydrate metabolism of the lung fluke, *Paragonimus westermani* and the pancreatic fluke *Eurytrema pancreaticum* // Soul. Uidae Chapchi. 1972. Vol. 13, N 4. P. 235—242.
- Al-Barwari S. E., Abdel-Fattah R. F. The role of carbohydrates in the biology on the liver fluke *Fasciola gigantica*: glycogen content its utilization and resynthesis by starved flukes // Bulletin of Endemic Diseases. 1975. Vol. 16, N 1/2. P. 57—70.
- Barker S. B., Summerson W. H. The colorimetric determination of lactic acid in biological material // J. Biol. Chem. 1941. Vol. 138, N 2. P. 535—554.
- Barrett J. The Biochemistry of parasitic helminths. London; Basingstoke: MacMillan, 1981. 307 p.
- Barrett J. Anaerobic end products of helminths // Parasitology. 1984. Vol. 88, N 1. P. 179—198.
- Brand T., von. Biochemistry of parasites. N. Y.; London: Acad. Press, 1973. 365 p.
- Bueding E. M. Carbohydrate metabolism of *Schistosoma mansoni* // J. Gen. Physiol. 1950. Vol. 33, N 5. P. 475—495.
- Bueding E., Fisher J. Metabolic requirements of schistosomes // J. Parasitol. 1982. Vol. 68, N 2. P. 208—212.
- Coles G. C. The metabolism of Schistosomes: A review // Int. J. Biochem. 1973. Vol. 4, N 22. P. 319—337.

- Coles G. C. Fluke biochemistry — Fasciola and Schistosoma // Helminth. Abstr. Ser. A. 1975. Vol. 44, N 3. P. 147—162.
- El-Hehyawi G. H. Biochemical studies on trematodes. 1. Lipid fractions and glycogen content of Fasciola gigantica // J. Veter. Sci. United Arab. Rep. 1969. Vol. 6, N 2. P. 159—170.
- Goil M. M. Carbohydrate metabolism in trematode parasites // Z. Parasitenkunde. 1957. Vol. 18, N 1. P. 36—39.
- Goil M. M. Physiological studies on trematodes — Fasciola gigantica carbohydrate metabolism // Parasitology. 1961. Vol. 51, N 3/4. P. 335—338.
- Hamajima F. Studies on metabolism of lung flukes genus Paragonimus. III. Occurrence of organic acids in uterine eggs, larvae and adults // Japan. J. Parasitol. 1967. Vol. 16, N 1. P. 1—7.
- Kawanaka M., Matsushita K., Kato K., Ohsaka A. Glucose metabolism of adult Schistosoma japonicum as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy with D-[¹³C₆]-glucose // Physiol. Chem. and Med. NMR. 1989. Vol. 21, N 1. P. 5—12.
- Kohler P., Hanselmann K. Intermediary metabolism in Dicrocoelium dendriticum (Trematoda) // Comp. Biochem. Physiol. 1973. Vol. 45, N 3. P. 825—845.
- Kohler P., Stahel O. F. Metabolic end products of anaerobic carbohydrate metabolism of Dicrocoelium dendriticum (Trematoda) // Comp. Biochem. Physiol. 1972. Vol. 43, N 3. P. 733—741.
- Lahoud H., Prichard R. K., MacManus W. R., Schofield P. J. Volatile fatty acid production by adult Fasciola hepatica // Comp. Biochem. Physiol. 1971a. Vol. 38, N 2B. P. 379—391.
- Lahoud H., Prichard R. K., MacManus W. R., Schofield P. J. The relationship of some intermediary metabolites to the production of volatile fatty acids by adult Fasciola hepatica // Comp. Biochem. Physiol. 1971b. Vol. 39, N 3. P. 435—444.
- Lahoud H., Prichard R. K., MacManus W. R., Schofield P. J. The dissimilation of leucine, isoleucine and valine to volatile fatty acids by adult Fasciola hepatica // Int. J. Parasitol. 1971c. Vol. 1, N 3/4. P. 223—233.
- Lloyd G. M. Energy metabolism and its regulation in the adult liver fluke Fasciola hepatica // Parasitology. 1986. Vol. 93, N 1. P. 217—248.
- Lloyd G. M., Barrett J. Fasciola hepatica: inhibition of phosphoenolpyruvate carboxykinase and end product formation by guinolinic acid and 3-mercaptopycolinic acid // Exptl. Parasitol. 1983. Vol. 56, N 2. P. 259—265.
- Magzoub M. Glycogen utilization in some trematode parasites // Acta Vet. (SFRJ) 1974. Vol. 24, N 1. P. 27—31.
- Magzoub M., Maegraith B. C. Glycolytic activities of Schistosoma mansoni and the mode of action of antischistosomal drugs (Ambilhar and Astiban) // Ann. Trop. Med. Parasitol. 1969. Vol. 63, N 3. P. 377—391.
- Mansour T. E. Studies on the carbohydrate metabolism of the liver fluke Fasciola hepatica // Biochim. Biophys. Acta. 1959. Vol. 34, N 2. P. 456—464.
- Moss G. D. The excretory metabolism on the endoparasitic digenean Fasciola hepatica and its relationship to its respiratory metabolism // Parasitol. 1970. Vol. 60, N 1. P. 1—9.
- Prichard R. K. Intermediary metabolism in 6-week old, liver stage, Fasciola hepatica // Proc. 3-rd. Int. Congr. Parasitol. 1974. Vol. 3. P. 1498—1499.
- Randerath K. Thin-layer chromatography. N. Y.; London: Acad. Press, 1966. P. 256—258.
- Read C. P. The carbohydrate metabolism of worms // Comparative physiology of carbohydrate metabolism in heterothermic animals / ed. Martin A. W. Seattle: Univ. Wash. Press, 1961. P. 3—34.
- Read C. P. Intermediary metabolism of flatworms // Chemical Zoology / ed. Florkin M., Scheer B. T. Vol. 2. N. Y.: Acad. Press, 1968. P. 327—357.
- Schaefer T. W., Saz H. J., Weenstein P. P., Dunbar G. A. Aerobic and anaerobic fermentation of glucose by Echinostoma liei // J. Parasitol. 1977. Vol. 63, N 4. P. 687—689.
- Schiller E. L., Bueding E., Turner V. M., Fisher J. Aerobic and anaerobic carbohydrate metabolism and egg production of Schistosoma mansoni in vitro // J. Parasitol. 1975. Vol. 61, N 3. P. 385—389.
- Smyth J. D. The physiology of trematodes. Edinburg; London: Oliver and Boyd, 1966. 256 p.
- Soprunov F. F. Biochemie der Helminthen. I. Der Energiehaushalt der Helminthen // Parasitol. Schrifteur. 1978. N 23. 149 p.
- Tielens A. G. M. The energy metabolism of the juvenile liver fluke, Fasciola hepatica during its development in the vertebrate host // Ph. D. thesis. Utrecht. Univ., 1982.
- Tielens A. G. M., Meer P., van den, Bergh S. G., van den. Fasciola hepatica: simple, large-scale in vitro excystment of metacercariae and subsequent isolation of juvenile liver flukes // Exptl. Parasitol. 1981a. Vol. 51, N 1. P. 8—12.
- Tielens A. G. M., Meer P., van den, Bergh S. G., van den. The aerobic energy metabolism of the juvenile Fasciola hepatica // Mol. Biochem. Parasitol. 1981b. Vol. 3, N 4. P. 205—214.

- Tielens A. G. M., Heuvel J. M., van den, Bergh S. G., van den. The energy metabolism of *Fasciola hepatica* during its development in the final host // *Mol. Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 13, N 3. P. 301—307.
- Weinland E. O., Brand T., von. Beobachtungen an *Fasciola hepatica* (Stoffwechsel und Lebensweise) // *Z. Vergl. Physiol.* 1926. Bd 4. S. 212—285.
- Williams J. P. C., Bryant C. Intermediary metabolism in the immature liver fluke, *Fasciola hepatica* L. // *Nature Engl.* 1963. Vol. 200, N 4905. P. 489.
- Zoeten L. W., de, Posthuma D., Tipker J. Intermediary metabolism of the liver fluke *Fasciola hepatica*. I. Biosynthesis of propionic acid // *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 1969. Bd 350, N 6. S. 683—690.

БПИ ДВО РАН
Владивосток, 690022

Поступила 25.12.1997

FINAL PRODUCTS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN THE TREMATODES PARASITIZING IN THE CATTLE

E. A. Burenina

Key words: Trematoda, *Eurytrema pancreaticum*, *Calicophoron ijimai*, carbohydrate metabolism, anthelmintic preparations.

SUMMARY

The trematodes *Eurytrema pancreaticum* and *Calicophoron ijimai* during the incubation in vitro assimilated glucose from the incubation medium and utilized the endogenous glycogen. Final products of the carbohydrate metabolism in the calicophorones were lactic, acetic, propionic, isobutyric and α -methylbutyric acids; in the eurytremes they were lactic, acetic, propionic, isobutyric, α -methylbutyric, valerianic and capronic acids. The effect of anthelmintic preparations on the carbohydrate metabolism and its final products was investigated.