

УДК 576.895.121

**ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСПОРТА ГЛЮКОЗЫ У ЦЕСТОДЫ  
EUBOTHRIMUM RUGOSUM (PSEUDOPHYLLIDEA, AMPHICOTYLIDAE)****Г. И. Извекова**

Получены доказательства существования системы активного транспорта глюкозы у цестоды *Eubothrium rugosum*. Вычислены ее кинетические характеристики. Показано наличие градиента содержания глюкозы и интенсивности ее аккумуляции вдоль стробилы.

В настоящее время известно, что цестоды обладают системами для опосредованного поглощения органических веществ из окружающей среды. Поскольку у этой группы червей отсутствует пищеварительный тракт, все пищевые субстраты поступают в их организм через покровы тела. Известно, что тегумент у цестод модифицирован морфологически так, что напоминает щеточную кайму кишечника позвоночных (Smith, 1972; Lumsden, 1975; Куперман, 1980), причем во многих отношениях механизмы, обеспечивающие транспортные процессы у гельминтов и позвоночных, очень сходны (Pappas, Read, 1975). В связи с этим изучение поглощения нутриентов у цестод представляет значительный интерес. Существует несколько видов транспорта веществ через мембраны (диффузия, облегченная диффузия и активный транспорт), различающихся кинетикой процессов, энергетическими затратами и отношением к ингибиторам (Pappas, Read, 1975).

В большинстве работ, касающихся транспорта углеводов у цестод, изучалось преимущественно поглощение глюкозы, как основного моносахарида, используемого для синтеза гликогена. Потребление резервных полисахаридов у гельминтов протекает очень интенсивно, что позволяет предположить существование эффективных систем активного транспорта глюкозы (Сопрунов, 1984).

Большинство работ по транспорту углеводов выполнено на модельных видах цестод, выращенных в лаборатории, например на *Hymenolepis diminuta* из кишечника крыс (Read e. a., 1963). Литературные данные по транспорту глюкозы у цестод, паразитирующих в кишечнике рыб, очень малочисленны. Исследование гельминтов, полученных из хозяев, зараженных в природных условиях, связано со значительными сложностями, касающимися получения воспроизводимых данных. Нами была предпринята попытка изучения некоторых характеристик интенсивности поглощения глюкозы цестодой *E. rugosum*, обитающей в кишечнике налима.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Объектом исследований служили половозрелые особи цестод *Eubothrium rugosum* из кишечника налима (*Lota lota*) Рыбинского водохранилища. Материал собран в зимне-весенний период. Гельминтов исследовали через 1—2 ч после извлечения их из кишечника. Сразу после получения червей помещали

в раствор Рингера для холоднокровных животных (рН 7.4). Перед помещением цестод в инкубационный раствор их отмывали в трех объемах (по 50 мл) раствора Рингера, слегка осушали фильтровальной бумагой и резали на кусочки 4—6 см. В пробе, как правило, содержалось по 1—2 кусочка. В качестве инкубационного раствора использовали растворы Д-глюкозы, приготовленные на растворе Рингера в концентрации от 0.1 до 10 мМ. Инкубацию проводили в 5 мл раствора глюкозы при температуре 5 и 20° в течение часа. В каждом из поставленных опытов определяли «фоновое» содержание глюкозы, т. е. ее количество в гельминте при инкубации в растворе Рингера без глюкозы. Интенсивность аккумуляции глюкозы определяли по накоплению гексоз за 60 мин инкубации в расчете на 100 мг сырого веса гельминтов и выражали в ММ глюкозы. Концентрацию гексоз определяли модифицированным методом Нельсона (Уголев, Иезуитова, 1969). Значения константы Михаэлиса ( $K_m$ ) для процессов аккумуляции и максимальной скорости реакции ( $V_{max}$ ) определяли методом двойных обратных величин. В каждом опыте исследовали по 10—20 червей от 1—2 налимов.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность аккумуляции глюкозы. С целью выяснения механизмов поглощения глюкозы цестодой *E. rugosum* была поставлена серия опытов по определению интенсивности аккумуляции глюкозы в организме гельминтов в зависимости от ее концентрации в инкубационном растворе. При этом оказалось, что абсорбция глюкозы как при 5, так и при 20° носит характер типичной кинетики насыщения (рис. 1). При 5° с увеличением концентрации глюкозы в инкубационной среде от 0.1 до 10 мМ абсорбция глюкозы увеличивается от  $1.53 \pm 0.26$  до  $3.31 \pm 1.03$  мМ, а при 20° — от  $1.12 \pm 0.20$  до  $2.76 \pm 0.23$  мМ. При содержании в инкубационной среде от 0.1 до 2.5 мМ глюкозы в тканях гельминта этот моносахарид накапливается против градиента концентрации. Так, интенсивность ее аккумуляции в этих условиях при 5° увеличивается от  $1.53 \pm 0.26$  до  $2.31 \pm 0.42$  мМ, а при 20° — от  $1.12 \pm 0.20$  до  $2.85 \pm 0.30$  мМ. Кинетика насыщения и накопление глюкозы против концентрационного градиента свидетельствуют о наличии активного компонента транспорта глюкозы у *E. rugosum*. Интенсивное потребление глюкозы из среды обитания было отмечено у многих видов гельминтов. Сравнение данных, полученных разными авторами, показывает, что все изученные цестоды используют активный механизм транспорта глюкозы, что дало основание предположить сходство их глюкозо-транспортных систем (Parras, Read, 1975).

Интенсивность аккумуляции глюкозы из инкубационного раствора была примерно одинакова как при 5, так и при 20° (рис. 1). Практически при всех испытанных концентрациях не наблюдалось достоверных различий в интенсивности аккумуляции глюкозы при разных температурах. Так, при 2.5 мМ концентрации глюкозы в среде интенсивность аккумуляции ее составляла  $2.31 \pm 0.42$  и  $2.85 \pm 0.30$  мМ для 5 и 20° соответственно (при 5 мМ —  $2.79 \pm 0.9$  и  $3.06 \pm 0.45$  мМ соответственно).

В литературе имеются некоторые сведения о влиянии температуры на транспорт глюкозы. В частности, оптимальная температура поглощения глюкозы для цестоды *Calliobothrium verticillatum*, обитающей в пищеварительном тракте акулы, равна 20° (Fisher, Read, 1971). Для *H. diminuta* из кишечника крыс установлен оптимум поглощения при температуре 37—40° в зависимости от времени инкубации (Phiifer, 1960). При исследовании *E. rugosum* значительного влияния температуры на абсорбцию глюкозы не обнаружено. Это, по-видимому, связано с тем, что исследования проводились в зимний период на адаптированном к низким температурам налиме, у которого пищевая активность выше зимой. При этом известно существование как адаптаций обменных

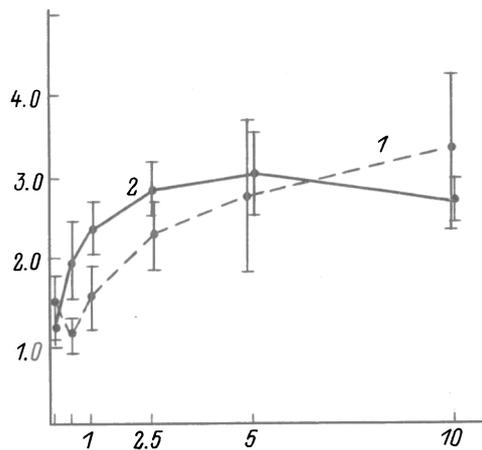


Рис. 1. Интенсивность аккумуляции глюкозы в зависимости от ее концентраций в среде цестоды *E. rugosum*.

1 — температура 5°, 2 — температура 20°. По оси абсцисс — концентрация глюкозы в среде, мМ; по оси ординат — интенсивность аккумуляции глюкозы, мМ.

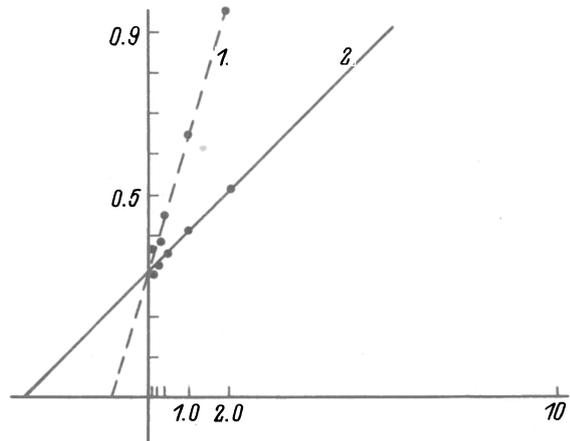


Рис. 2. Кинетика интенсивности аккумуляции глюкозы цестодой *E. rugosum*.

При оси абсцисс — величина, обратная концентрации глюкозы в среде; при оси ординат — величина, обратная интенсивности поглощения.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

процессов гельминтов к температуре тела хозяина (Сопрунов, 1984), так и адаптивных перестроек пищеварительных процессов у рыб (Кузьмина, 1985).

Кинетика интенсивности аккумуляции глюкозы. При исследовании взрослых форм цестод *H. diminuta* и *H. microstoma*, обитающих в кишечнике крыс, было установлено, что диффузионный компонент транспорта глюкозы пренебрежимо мал и что вся глюкоза поступает в тело гельминтов путем активного транспорта (Pappas, Read, 1975), а у цестоды *Calliobothrium verticillatum* из пищеварительного тракта акулы активно транспортируется 96 % глюкозы (Fisher, Read, 1971). Исходя из этих данных, а также из полученных нами кривых типичной кинетики насыщения (рис. 1), можно предположить, что глюкоза поступает в организм *E. rugosum* в основном путем активного транспорта. Это позволило определить константы абсорбции:  $V_{\max}$  — максимальную скорость транспорта и  $K_m$  — константу Михаэлиса для транспортных процессов при 20 и 5° (рис. 2). При этом оказалось, что максимальные значения  $V_{\max}^{20}$  и  $V_{\max}^5$  примерно одинаковы (3.33 и 3.45 мМ соответственно) и отношение  $V_{\max}^{20}/V_{\max}^5$  близко к единице (0.97). Несмотря на это транспортные константы  $K_m^{20}$  и  $K_m^5$  различаются,  $K_m^{20}$  значительно меньше  $K_m^5$  (0.33 и 1.25 мМ соответственно), а отношение  $K_m^{20}/K_m^5$  меньше единицы (0.26). Как известно, значение константы Михаэлиса является важной кинетической характеристикой, отражающей сродство транспортной системы к транспортируемому веществу (чем ниже  $K_m$ , тем больше сродство системы к субстрату). Вследствие этого полученные данные свидетельствуют о том, что при 20° сродство системы к транспортируемой глюкозе выше, чем при 5°. Большое сродство фермента к субстрату при 20° по сравнению с 0° показано для карбогидраз кишечника налима-хозяина изученной цестоды (Кузьмина, Голованова, 1983). Возможно, полученную аналогию в кинетических характеристиках можно объяснить тем, что процессы транспорта у гельминтов тесно связаны с процессами гидролиза, протекающими в кишечнике их хозяев.

«Фоновое» содержание глюкозы в различных участках стробилы *E. rugosum*. В связи с определением аккумуляции глюкозы в тканях *E. rugosum* возник вопрос о ее «фоновом» содержании,

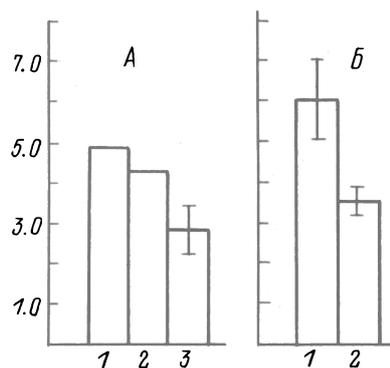


Рис. 3. Содержание глюкозы (А) и интенсивность ее аккумуляции (Б) в различных участках стробилы *E. rugosum*.

По оси абсцисс — отделы стробилы (на А: 1 — передний, 2 — средний, 3 — задний отдел; на Б: 1 — передний, 2 — задний отдел); по оси ординат: на А — содержание глюкозы, мМ; на Б — интенсивность аккумуляции глюкозы, мМ.

т. е. о количестве глюкозы в тканях изученного гельминта при отсутствии ее в инкубационной среде. Основываясь на особенностях водно-солевого обмена у *E. rugosum* (Виноградов и др., 1982), можно предположить, что применяемый метод позволяет выявлять содержание глюкозы главным образом в субтегументальном слое, доступном диффузионным процессам. В специальных наблюдениях был определен градиент содержания глюкозы вдоль стробилы *E. rugosum* (рис. 3, А). Для этого исследуемых особей условно делили на 3 части: 1-я — передний отдел (зона сколекса и шейки), 2-я — средний отдел (следующий за шейным отделом участок длиной 3—5 см), 3-я — задний отдел (длина 6—12 см). В связи с большой длиной заднего отдела его делили на 3 участка по 2—4 см и для характеристики этого отдела использовали среднее значение содержания глюкозы в этих участках. В результате проведенных опытов оказалось, что содержание глюкозы в субтегументальном слое *E. rugosum* заметно снижается от 1 к 3-му отделу (от 4.85 мМ/100 мг сырого веса до 2.82 мМ/100 мг сырого веса гельминта, что составляет 87.3 и 50.8 мг % соответственно). Полученные данные хорошо согласуются со сведениями, известными из литературы. В частности, по результатам специфического глюкозооксидазного метода в тканях гельминтов содержится от 0.01 до 1—2 % глюкозы в пересчете на сухой вес ткани (Сопрунов, 1984). Снижение содержания глюкозы вдоль стробилы *E. rugosum*, видимо, связано с постепенным созреванием половых продуктов от 1-го к 3-му отделу и запасанием резервного гликогена в том же направлении. Данные об относительно высокой концентрации глюкозы, способной экстрагироваться из тканей гельминтов, представляют особый интерес, поскольку свидетельствуют о противогradientном ее накоплении и являются еще одним доказательством активного поступления глюкозы в червя. При концентрации глюкозы в инкубационном растворе более низкой, чем в гельминте, отмеченное поступление ее в цестоду может происходить только активным путем.

Интенсивность аккумуляции глюкозы в различных участках стробилы *E. rugosum*. В связи с морфологической неоднородностью тегумента цестод (Куперман, 1980) и выявленным градиентом содержания глюкозы в стробиле *E. rugosum* возник вопрос о возможном существовании различий в поглощении глюкозы различными участками тела червя. Для этого абсорбция глюкозы была измерена в переднем и в заднем отделах. Результаты опытов представлены на рис. 3, Б. Оказалось, что при инкубации участков тела в 2.5 мМ растворе глюкозы ее концентрация в переднем отделе увеличивается от 4.85 до 10.85 мМ на 100 мг сырого веса гельминта, а интенсивность аккумуляции глюкозы составляет  $6.00 \pm 1.09$  мМ; в заднем отделе — от 2.82 до 6.34 мМ, а интенсивность аккумуляции глюкозы составляет  $3.52 \pm 0.33$  мМ (рис. 3, Б). Следовательно, в переднем отделе стробилы *E. rugosum* транспортные процессы идут более интенсивно, чем в ее заднем отделе. Возможно, это

связано с возрастными изменениями в разных участках стробилы червей: передний отдел более молодой и обменные процессы в нем, в том числе и транспорт нутриентов, протекают интенсивней, чем в окончательно сформировавшемся заднем отделе.

В заключение важно отметить, что паразитизм в значительной степени определяется пищевыми отношениями, включающими поступление органических растворенных веществ из организма хозяина в тело паразита. В связи с этим структуры и механизмы, участвующие в абсорбции пищевых веществ паразитами, должны иметь первостепенное значение в указанных процессах (Pappas, Read, 1975). Полученные нами данные свидетельствуют о существовании системы активного транспорта у цестоды *E. rugosum*, обитающей в кишечнике налима. Причем интенсивность этой системы сопоставима, а в ряде случаев более эффективна, чем у некоторых видов рыб (Кузьмина и др., 1986). Кроме того, показано, что кинетические характеристики ее непостоянны и зависят от температуры, что хорошо согласуется с данными по влиянию температуры на кинетические параметры карбогидраз рыб, в частности налима. У изученной цестоды также обнаружено существование градиента содержания глюкозы и интенсивности ее аккумуляции вдоль стробилы, которое может свидетельствовать о существовании функциональной неравномерности в пищеварительных процессах червя.

#### Л и т е р а т у р а

- Виноградов Г. А., Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Морфофизиологические особенности водно-солевого обмена у некоторых псевдофиллидных цестод. — Паразитология, 1982, т. 16, вып. 3, с. 188—193.
- Кузьмина В. В. Температурные адаптации ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пресноводных костистых рыб. — Журн. общ. биол., 1985, т. 46, № 6, с. 824—838.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Влияние температуры на кинетические характеристики карбогидраз, осуществляющих мембранное пищеварение у рыб. — Вопр. ихтиол., 1983, т. 23, вып. 1, с. 135—146.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л., Извекова Г. И. Особенности транспорта углеводов в кишечнике рыб. — В кн.: Мембранное пищеварение и всасывание. Рига, 1986, с. 72—74.
- Куперман Б. И. Ультраструктура покровов цестод и ее значение для систематики. — Паразитол. сб. ЗИН АН СССР, 1980, т. 29, с. 84—95.
- Сопрунов Ф. Ф. Успехи в изучении углеводного обмена гельминтов. — Тр. ГЕЛАН СССР, 1984, т. 32, с. 121—154.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз. — В кн.: Исследования пищеварительного аппарата у человека (обзор современных методов). Л., Наука, 1969, с. 192—196.
- Fisher F. M., Read C. P. Transport of sugars in the tapeworm *Calliobothrium verticillatum*. — Biol. Bull., 1971, vol. 140, p. 46—62.
- Lumsden R. D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminths. — Exp. Parasitol., 1975, vol. 37, N 2, p. 267—339.
- Pappas P. W., Read C. P. Membrane transport in helminth parasites: a review. — Exp. Parasitol., 1975, vol. 37, N 3, p. 469—530.
- Phifer K. O. Permeation and membrane transport in animal parasites: the absorption of glucose by *Hymenolepis diminuta*. — J. of Parasitol., 1960, vol. 46, p. 51—62.
- Read C. P., Rothman A. H., Simmons J. E. Studies on membrane transport with special reference to parasite-host integration. — Annals of the New York Acad. of Science, 1963, vol. 113, p. 154—205.
- Smith J. D. Changes in the digestive — absorptive surface of cestodes during larval adult differentiation. — Symp. Brit. Soc. Parasitol., 1972, vol. 10, p. 41—70.

CHARACTERISTICS OF GLUCOSE TRANSPORT IN THE CESTODE EUBOTHRIUM RUGOSUM  
(PSEUDOPHYLLIDEA, AMPHICOTYLIDAE)

G. I. Izvekova

S U M M A R Y

Data were obtained proving the presence of the system of glucose active transport in *E. rugosum*. Transport kinetic characteristics were estimated and their dependence on the incubation temperature was shown. Heterogeneity of strobila with respect to transport processes was found.

---