

УДК 576.895.121 : 597.587.9

**ВЛИЯНИЕ ПАЗАРИТАРНОЙ ИНВАЗИИ НА АКТИВНОСТЬ
НЕКОТОРЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ
И МЫШЦ ХОЗЯИНА ЧЕРНОМОРСКОГО КАЛКАНА
PSETTA MAXIMA MAEOTICA**

© И. И. Руднева, А. И. Солонченко, Е. Б. Мельникова

Исследовали влияние кишечного паразита цестоды *Botriocephalus gregarius* на антиоксидантную систему печени и мышц хозяина — черноморского калкана. Установлено достоверное увеличение активности супероксиддисмутазы (СОД) в исследуемых тканях, изменения активности каталазы и пероксидазы. Отмечена высокая корреляция ($r \geq 0.6$) между количеством паразитов и активностью СОД и пероксидазы. Обсуждается возможность использования активности антиоксидантных ферментов в качестве биомаркеров для оценки паразитарной инвазии рыб.

Калкан, повсеместно обитающий в Черном море, имеет большое промысловое значение. Запас этого вида варьирует и в значительной степени зависит от объема вылова, уровня загрязнения, ряда биотических и абиотических факторов (Овен и др., 2001). Одной из причин, существенно влияющих на состояние рыб и их количество, является паразитарная инвазия. Отмечено, что наиболее типичный паразит калкана — цестода *Botriocephalus gregarius* поражает рыб на 80—100 % с интенсивностью инвазии от 2 до 80 экз. (Rudneva, Solonchenko, 1996; Руднева, Солонченко, 1998). В среднем у калкана массой 2.5—5.5 кг может содержаться от 0.5 до 11 г паразитов. Сколексы червя скученно прикрепляются на ограниченном участке передней трети кишечника рыб, отдельные особи могут достигать середины кишечника. В местах прикрепления цестод наблюдаются изъязвления слизистой кишечника, которые могут вызывать у рыб воспаление и другие поражения тканей.

Совершенно очевидно, что инвазия в значительной степени ухудшает состояние рыб, сокращает репродукцию и ослабляет защитные функции. Известно, что одной из универсальных защитных систем организма является антиоксидантная, представленная ферментами, витаминами, каротиноидами, SH-содержащими соединениями (Di Giulio et al., 1989; Winston, 1991; Winston, Di Giulio, 1991). Она предохраняет организмы от токсических продуктов свободнорадикальных реакций, активизация которых наблюдается при действии на организм неблагоприятных факторов среды и развитии патологических процессов (Владимиров, Арчаков, 1972). Вместе с тем в литературе практически отсутствуют данные о влиянии паразитов на состояние антиоксидантной системы органов и тканей хозяина. В то же время изуче-

ние этих параметров позволяет оценить состояние рыб в популяции, а также решить ряд проблем, связанных с эволюцией молекулярных защитных систем и развитием отношений паразит-хозяин на молекулярном уровне.

Цель настоящей работы — изучение влияния инвазии цестод *B. gregarius* на состояние защитной антиоксидантной системы тканей черноморского калкана.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом служили печень и мышцы черноморского калкана *Psetta maxima maeotica* массой 3—5 кг. Рыбы были отловлены в весенне-летний период 1994—1996 гг. в районе Севастополя. Проводили сравнительный анализ тканей зараженных паразитами ($n = 12$) и незараженных ($n = 10$) рыб.

Ткани рыб гомогенизировали в 0.85 %-ном растворе хлорида натрия, центрифугировали при 10 000 g 10 мин на холоде. Супернатант использовали для определения активности ферментов.

Активность каталазы определяли с помощью реакции разложения перекиси водорода (Асатиани, 1969). Активность супероксиддисмутазы (СОД) анализировали спектрофотометрическим методом в системе НСТ-ФМС-НАДН (Nishikimi et al., 1972). Активность пероксидазы определяли бензидиновым методом (Литвин, 1981), глутатионредуктазы — по реакции деградации НАДН (Переслугина, 1989).

Содержание белка в супернатантах определяли по методу Лоури (Lowry et al., 1951). Статистическую обработку результатов проводили по Лакину (1973).

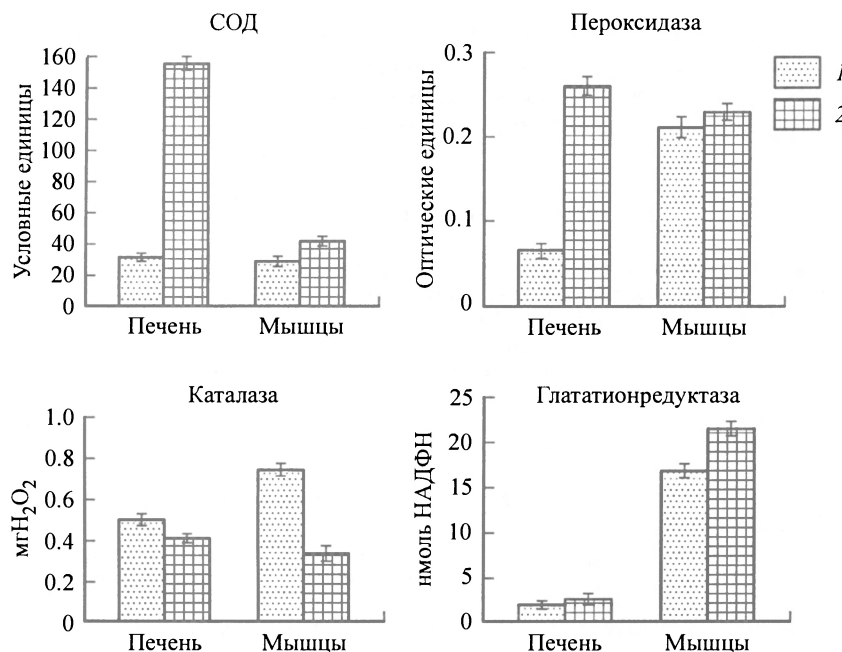
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований позволили установить определенные различия в активности ферментов тканей калкана, инвазированного цестодами (см. рисунок). Активность СОД в 1.5 раза выше в мышцах зараженных рыб по сравнению с незараженными ($p < 0.01$). Активность пероксидазы и глутатионредуктазы у инвазированных и неинвазированных рыб достоверно не различаются, а активность каталазы достоверно ($p < 0.01$) снижена почти в 2 раза.

Активность исследуемых ферментов в печени также претерпевает определенные изменения. У инвазированных рыб активность СОД более чем в 5 раз превосходит этот показатель у неинвазированных рыб ($p < 0.01$). Активность пероксидазы также достоверно выше ($p < 0.01$) в печени зараженных цестодами рыб. Активности каталазы и глутатионредуктазы достоверно не различаются.

Установлена высокая корреляция между числом паразитов в рыбе и активностью ферментов СОД и пероксидазы в печени ($r \geq 0.6$). Корреляция между уровнем паразитарной инвазии и активностью исследованных антиоксидантных ферментов в мышцах зараженных рыб не отмечена.

Таким образом, результаты исследований позволили обнаружить определенное влияние паразитарной инвазии на активность защитной ферментной антиоксидантной системы тканей калкана. В частности, отмечено достоверное повышение активности СОД и пероксидазы в печени инвазированных рыб. Известно, что печень является ключевым органом, где про-



Активность антиоксидантных ферментов (на мг, белка/мин) в печени и мышцах черноморского калкана.

1 — неинвазированные, 2 — инвазированные.

Activity of the antioxidant enzymes (per mg of protein/min) in the liver and muscles of the Black Sea flounder.

исходит детоксикация эндо- и экзотоксинов. Кроме этого, *B. gregarius* является кишечным паразитом, и в первую очередь ткани пищеварительной системы, включая печень, в наибольшей степени чувствительны к присутствию паразитов. Это подтверждается не только усилением активности антиоксидантных ферментов, но и высокой корреляцией ($r \geq 0.6$) между числом паразитов и исследуемыми биохимическими параметрами печени хозяина. Совершенно очевидно, что паразиты и их метаболиты являются мощными факторами, активизирующими антиоксидантную систему хозяина. Внедрение их в стенку кишечника вызывает воспалительный процесс, что стимулирует активность антиоксидантной системы и, прежде всего, СОИ (Hassan, 1984). Кроме того, индукция антиоксидантной системы в случае паразитарной инвазии является неспецифической ответной реакцией рыб на действие неблагоприятных факторов, что было продемонстрировано другими авторами и нами ранее (Hageman et al., 1992; Adams et al., 1994; Rudneva, 1998). Следует отметить также, что возрастание активности ферментов больше выражено в печени инвазированных рыб, чем в мышцах. Однако общая интоксикация хозяина под влиянием паразитов отразилась на всем организме, включая мышцы, что также привело к повышению уровня активности СОД — ключевого фермента антиоксидантной защиты. На основании всего сказанного можно заключить, что антиоксидантные ферменты весьма чувствительны к паразитарной инвазии и могут служить не только биомаркерами для оценки действия на рыб неблагоприятных химических и физических факторов, но и биологических. Учитывая высокую степень биологического загрязнения Черного моря, включая патогенных

микробов, вирусов и паразитов, крайне негативно влияющих на здоровье рыб и небезопасных для человека, исследованные параметры позволяют оценить состояние промысловых рыб и могут быть использованы в качестве индикаторов влияния на них биологического загрязнения.

Список литературы

- Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. М.: Наука, 1969. 611 с.
- Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 343 с.
- Литвин Ф. Ф. Физико-химические методы в биологии. М., 1981. С. 86—87.
- Овен Л. С., Шевченко Н. Ф., Битюкова Ю. Е., Болтачев А. Р., Пантлеева О. В. Размерно-возрастной состав и репродуктивная биология черноморского калкана *Psetta maxima maeotica* // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41, № 5. С. 631—636.
- Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. № 12. С. 57—59.
- Руднева И. И., Солонченко А. И. Активность некоторых антиоксидантных ферментов цестоды *Bothriocephalus gregarius* в зависимости от ее физиологического состояния // Экол. моря. 1998. Вып. 47. С. 54—56.
- Adams S. M., Brawn A. M., Goede R. W. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field // Trans. Amer. Fish. Soc. 1994. Vol. 122. P. 63—71.
- Di Giulio R. T., Washburn P. C., Wenning R. J., Winston G. W., Jewell C. S. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress // Environ. Toxicol. and Chem. 1989. Vol. 8. P. 1103—1123.
- Hageman J. J., Bast A., Vermeulen N. P. E. Monitoring of oxidative free radical damage in vivo: analytical aspects // Cheem. Biol. Interactions. 1992. Vol. 82. P. 243—293.
- Hassan H. H. Superoxide dismutase: an antioxidant defense enzyme. Free Radical in Molecular Biology, Aging and Disease / Ed. by D. Armstrong et al. N. Y.: Raven Press, 1984. P. 77—85.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 266—275.
- Nishikimi M., Rao N. A., Yagik K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972. Vol. 46. P. 849—854.
- Rudneva I. I., Solonchenko A. I. The influence of cestode *Bothriocephalus gregarius* upon the activity of some antioxidant liver enzymes in Black Sea turbot // 8th Intern. Symp. of the Biology of the Turbellaria: Program and Abstr. (Brisbane, Australia, 1996, Aug. 18—23). Brisbane, 1996. P. 105.
- Rudneva I. I. The biochemical effects of toxicants in developing eggs and larvae of Black Sea fish species // Mar. Environ. Res. 1998. Vol. 46, N 1—5. P. 499—500.
- Winston G. W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Comp. Biochem. Physiol. 1991. Vol. 100 (C). P. 173—176.
- Winston G. W., Di Giulio R. T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // Aquatic Toxicology. 1991. Vol. 19. P. 137—161.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
Севастополь

Поступила 19.1.2004

THE INFLUENCE OF THE PARASITE INVASION
ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN THE LIVER
AND MUSCLES OF A HOST, THE BLACK SEA FLOUNDER
PSETTA MAXIMA MAEOTICA

I. I. Rudneva, A. I. Solonchenko, E. B. Melnikova

Key words: parasite invasion, Cestoda, *Botriocephalus gregarius*, *Psetta maxima maeotica*, antioxidant enzyme.

SUMMARY

The influence of the intestine cestode *Botriocephalus gregarius* on the antioxidant enzyme system in the liver and muscle of its host, the Black Sea flounder *Psetta maxima maeotica*, was studied. The significant increase of superoxiddismutase activity in examined tissues and changes of catalase and peroxidase activities were detected. High correlation ($r \geq 0.6$) between enzyme activities and the parasite number was noted. The possibility to use antioxidant enzyme activity as biomarkers of the parasite invasion in fish is discussed.
