

УДК 597.554.3 – 69-7 + 577.125

**ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У *LIGULA INTESTINALIS*
(CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA) И ИХ ХОЗЯЕВ —
ABRAMIS BRAMA (L.)**

© Н. И. Силкина, В. Р. Микряков

Проведен сравнительный анализ показателей перекисного окисления липидов в тканях плероцеркоидов *Ligula intestinalis* и их промежуточных хозяев — лещей *Abramis brama* L. по данным уровня общих липидов (ОЛ), содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового диальдегида (МДА) и общей антиокислительной активности (ОАА). Показана зависимость исследованных признаков от размера паразита. Длинноразмерные паразиты отличались от таковых с меньшим размером более высоким уровнем МДА и интенсивностью ОАА. Установлен повышенный уровень МДА и низкие величины ОАА у инвазированных рыб по сравнению с неинвазированными.

Обитающие в полости тела карповых рыб плероцеркоиды *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea), внедрившись в рыбу, в процессе своего развития оказывают супрессивное влияние на структурно-функциональное состояние своих промежуточных хозяев, изменяя показатели их роста, развития и гаметогенеза, вызывают нарушение гомеостатических функций, обеспечивающих индивидуальную целостность организма в онтогенезе (Дубинина, 1966; Arme, Owen, 1970; Пронина, Пронин, 1988; Taylor, Hoole, 1989; Barus, Prokes, 1995; Куперман и др., 1997; Извекова, 1999, 2000; Микряков, Силкина, 1999; Силкина, Жарикова, 2003). Происходящие в организме инвазированных рыб изменения, вызванные плероцеркоидами *L. intestinalis*, связаны с нарушениями ряда жизненно важных функций организма хозяина, в том числе и функций иммунной системы, и его физиолого-биохимического статуса (Микряков, Силкина, 1997, 1999). Негативное воздействие паразитов на рыб выражается в снижении темпов роста, упитанности, массы тела, индекса печени и ее жирности, редукцией гонад, изменением всех видов обмена (пластического, энергетического и генеративного), сдвиге картины крови и др. Инвазия рыб плероцеркоидами сопровождается нарушением липидного обмена, усилением свободнорадикальных и перекисных процессов, дефицитом образования структур антиоксидантной защиты (Гурьянова, 1980; Силкина, Микряков, 1999, 2003 а, б; Силкина, Жарикова, 2003). Вместе с тем многие вопросы в системе *L. intestinalis*—рыба, связанные с изменениями липидного обмена обоих партнеров, следует считать слабо разработанными (Высоцкая, 1973; Сидоров и др., 1989). В доступной литературе отсутствуют сведения об особенностях пе-

рекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (ОАА) как у плероцеркоидов *L. intestinalis*, так и у рыб. Между тем эти сведения представляются весьма важными для понимания механизмов взаимной адаптации обоих партнеров и характера влияния паразитов на организм хозяина в процессе «подготовки» паразитов к обитанию в окончательном хозяине (рыбоядных птицах).

Целью данной работы было изучение особенностей ПОЛ и антиокислительной защиты (АЗ) у плероцеркоидов *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea) разной длины и выяснение влияния паразитов на состояние липидной системы организма их промежуточных хозяев — лещей *Abramis brama* (L.).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили плероцеркоиды *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea) и ткани пораженных и непораженных лигулидами рыб *Abramis brama* (L.) — половозрелых самцов в возрасте 8+. Сбор материала проводили на Рыбинском водохранилище. Определяли длину, ширину и вес плероцеркоидов *L. intestinalis*. Червей условно разделили на 3 группы в соответствии с разной длиной, поскольку, несмотря на морфометрическую разнородность исследованных гельминтов, считается установленным увеличение длины с их ростом (Дубинина, 1966; Taylor, Hoole, 1989; Varus, Prokes, 1995; Извекова, 1999; 2000). Учитывали также и то обстоятельство, что более зрелые особи червей чаще всего и более крупные (длинные). В I группу включили червей размером до 80 мм, во II — от 81 до 200 мм и в III — от 201 до 420 мм. Зараженные рыбы также были разбиты на группы соответственно размерам паразитов, контролем служили непораженные особи. Исследованные лещи подверглись полному биологическому анализу. В работе использованы одновозрастные рыбы, находящиеся в сходном физиологическом состоянии. Липиды из тканей плероцеркоидов и их хозяев (сыворотки крови и печени) экстрагировали по способу Фолча (Folch et al., 1957). ПОЛ и ОАА определяли в гомогенатах тканей лигулид и рыб общепринятыми методами. Интенсивность ПОЛ в тканях оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) — одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация МДА определялась на основе учета количества продуктов перекисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Интенсивность окрашивания определяли спектрофотометрически по изменению максимума поглощения при 532 нм (Андреева и др., 1988). Общую антиокислительную активность биологического материала (ОАА) устанавливали по кинетике окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха в присутствии и отсутствии тканевых экстрактов. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 510 нм (Семенов, Ярош, 1985). Данные обработаны методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных данных «Excel 97» и t-теста Стьюдента с последующей оценкой различий при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что паразиты разных размерных групп, извлеченные из полости тела рыб, отличались как содержанием в их организме общих липидов и продуктов перекисления липидов, так и анти-

окислительной активностью (см. таблицу). В тканях червей небольшой длины содержание общих липидов (ОЛ) составило 870 мг%, тогда как у особей III группы данный показатель находился на уровне 920 мг%. Изменялась также интенсивность накопления продуктов перекисного окисления липидов: у особей II группы количество МДА превышало таковое I группы на 15.5 %, а у червей III группы — в 1.9 раза. С увеличением размера *L. intestinalis* отмечено также возрастание ОАА: у червей II группы — на 3 %, а у III — на 21.9 % по сравнению с особями I группы. Повышенный уровень ОЛ, выявленный у длинноразмерных плероцеркоидов, видимо, обусловлен интенсификацией процессов ПОЛ и ОАА. Накопление липидов в теле плероцеркоидов при увеличении их размеров мы объясняем интенсификацией окислительных процессов в связи с нарастанием массы тела личинок и их созреванием. Установленное нами различие в антиокислительном статусе разновозрастных червей свидетельствует о различной интенсивности потребления кислорода плероцеркоидами на разных этапах их роста и развития. Следует иметь в виду, что для каждого периода роста червя характерно определенное соотношение процессов ПОЛ и АЗ, поскольку окислительные и антиоксидантные системы, являющиеся важными звеньями и составляющими гомеостаза организма, способны хорошо защищать организм от последствий колебания неблагоприятных факторов среды (Владимиров, Арчаков, 1972; Прайор, 1979; Гершанович и др., 1991; Fiho, 1996). Наличие высокого содержания липидов у плероцеркоидов обусловлено необходимостью обеспечения метаболических процессов энергией в процессе их роста.

Сравнение исследуемых признаков у лещей одного возраста, пола, примерно одинакового размера и массы показало существенные отличия показателей липидного обмена у непораженных рыб по сравнению с зараженными *L. intestinalis*, причем отклонения были выражены сильнее у рыб, в организме которых обитали большеразмерные паразиты (см. таблицу).

Содержание ОЛ, МДА и ОАА у плероцеркоидов *L. intestinalis* и неинвазированных и инвазированных лещей ($M \pm m_x$)

Content of CL, MDA and CAA in the *L. intestinalis* plerocercoids and breams infected and noninfected ($M \pm m_x$)

Объекты исследования		Ткань	Показатели			
			ОЛ	МДА	ОАА	
Плероцеркоид		I гр.	Г.	870 ± 35	0.84 ± 0.03	3.97 ± 0.76
		II гр.	Г.	905 ± 30	0.92 ± 0.11*	4.09 ± 0.45
		III гр.	Г.	920 ± 30*	1.61 ± 0.14*	4.84 ± 0.94*
Лещ	Неинвазированный		С. К.	920 ± 35	0.881 ± 0.05	$(2.62 \pm 0.04) \times 10^{-3}$
			П.	1465 ± 20	7.325 ± 0.845	
	Инвазированный	I гр.	С. К.	915 ± 40	1.172 ± 0.04**	$(1.89 \pm 0.07) \times 10^{-3**}$
			П.	1570 ± 35**	9.843 ± 0.231**	
	»	II гр.	С. К.	1000 ± 45	1.401 ± 0.05**	$(1.97 \pm 0.11) \times 10^{-3**}$
			П.	1690 ± 30**	11.903 ± 0.745**	
»	III гр.	С. К.	1155 ± 35**	1.436 ± 0.07**	$(2.34 \pm 0.08) \times 10^{-3**}$	
		П.	1695 ± 25**	12.911 ± 0.851**		

Примечание. М — среднее арифметическое, m_x — ошибка среднего. МДА — содержание малонового диальдегида, нмоль/г; ОАА — общая антиокислительная активность, $л \cdot мл^{-1} \cdot мин^{-1}$; ОЛ — общие липиды, мг%. Г. — гомогенат плероцеркоида; П. — печень леща; С. К. — сыворотка крови леща. * — достоверно относительно червей I группы; ** — достоверно относительно незараженных рыб.

Уровень ОЛ в сыворотке крови лещей, имеющих червей I и II групп, достоверно не отличался от такового интактных, тогда как у рыб с червями III группы содержание липидов было больше на 25.5 %. В печени лещей с небольшим червем (80 мм) липидов накапливалось больше, чем у интактных на 7.2 %, а в печени рыб с червем из II или III групп — на 15.6 %.

Зараженные паразитами рыбы достоверно отличались от неинвазированных более высоким накоплением МДА в сыворотке крови и печени. У рыб, имеющих червей I группы, концентрация МДА в сыворотке крови составляла 1.172 нмоль/г, у хозяев II группы — 1.401, у лещей с крупным плероцеркоидом — 1.436, тогда как в контроле — 0.881 нмоль/г. В печени рыб уровень МДА составил соответственно 9.843, 11.903 и 12.911 против 7.325 нмоль/г в контроле. Повышенный уровень содержания продуктов перекисления липидов (МДА), выявленный в тканях рыб, имеющих более крупных паразитов, свидетельствует об интенсификации процессов ПОЛ, вызванных ростом червя и усилением силы стрессирующего влияния паразитов на хозяев.

Наблюдаемые в крови и печени пораженных рыб более интенсивные перекисные процессы по сравнению с незараженными коррелировали с пониженной антиокислительной активностью тканей пораженных рыб. ОАА в сыворотке крови незараженных рыб составила 2.62×10^{-3} л·мл⁻¹·мин⁻¹; у пораженных мелкими червями — 1.89×10^{-3} , тогда как у лещей, обладающих червем II и III группы, этот показатель составил соответственно 1.97×10^{-3} и 2.34×10^{-3} л·мл⁻¹·мин⁻¹. Рост червя в теле хозяина сопровождался в организме рыб повышением ОАА. Выявленная пониженная антиокислительная активность у зараженных рыб по сравнению с интактными свидетельствует о том, что под влиянием паразита содержание антиоксидантов у рыб снижается.

Перекисное окисление липидов, присущее любому биологическому организму, является одним из важных сторон липидного обмена. Биологический смысл ПОЛ заключается в том, что, с одной стороны, — это нормальный процесс биологического окисления перекисного типа, протекающий параллельно свободному окислению, сопряженному с фосфорилированием, с другой стороны, отражает накопление промежуточных метаболитов и физиологически активных интермедиаторов в процессе образования свободных радикалов, альдегидов, кетонов, пероксидов, гидропероксидов, диеновых конъюгатов, а с третьей стороны, свидетельствует об ответной защитной реакции организма на физиолого-биохимическом уровне на действие стрессорных неспецифичных для организма факторов и о характере течения общего адаптационного синдрома по Селье (Владимиров, Арчаков, 1972; Прайор, 1979; Winston, 1991; Fiho, 1996; Грубинко, Леус, 2001). Образование перекисных группировок происходит преимущественно в биологических мембранах эндоплазматического ретикулула, митохондриях и ядрах и является активным метаболическим и регуляторным фактором. Развитие ПОЛ катализируется в основном разными формами активного кислорода: супероксидным и гидроксильным радикалами, синглетным кислородом, пероксидами. При нормальных условиях ПОЛ осуществляется на определенном стационарном для каждого живого организма уровне благодаря системе антиоксидантной защиты (АЗ), обеспечивающей детоксикацию продуктов перекисления липидов. При воздействии экстремальных факторов (стрессорных и других неспецифичных для организма) равновесие в системе ПОЛ—ОАА смещается в сторону усиления ПОЛ.

Из приведенных выше материалов следует, что инвазия плероцеркоидами *L. intestinalis* вызывает существенные изменения обменных процессов в организме хозяина, приводя к усилению перекисного окисления липидов. Направленность изменения показателей перекисного окисления липидов у леща, вызываемые заражением *L. intestinalis*, сходно при паразитировании червей разной длины, но можно предполагать, что крупные паразиты оказывают на организм хозяина более патогенное воздействие. Изменения в системе липидного метаболизма и окислительного гомеостаза, происходящие в организме рыб, пораженных *L. intestinalis* и обусловленные активацией свободнорадикальных и перекисных реакций, приводят к серьезным нарушениям в жизнедеятельности организма хозяина (Силкина, Жарикова, 2003; Силкина, Микряков, 2003 а, б). Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, показавших изменение липидного обмена в организме рыб, пораженных другими видами паразитов, а также при токсических воздействиях разной природы и других стрессирующих факторах биотической и абиотической природы (Гурьянова, 1980; Bennet et al., 1990; Fiho, 1996; Грубинко, Леус, 2001; Микряков и др., 2001). Выявленные различия липидных показателей у пораженных гельминтами рыб отражают нарушения липидного обмена, сопровождающегося усилением свободнорадикальных и перекисных процессов, снижением содержания структур антиоксидантной защиты. Подобные изменения являются характерными для рыб, подвергающихся воздействию стресс-факторов разной природы (Микряков и др., 2001).

Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует, что с ростом гельминта в его организме происходит изменение зоны равновесия окислительного гомеостаза. У крупных паразитов по сравнению с более короткими отмечается достоверное изменение исследованных показателей. Благодаря высокой перекисеобразовательной способности паразита, а также его эффективной антиокислительной защите обеспечиваются благоприятные условия для питания, роста и развития лигулид. В то же время сравнение полученных нами результатов с литературными показывает, что паразит воздействует на организм хозяина, оказывая значительное стрессирующее влияние на липидный обмен хозяина. Инвазия *L. intestinalis* вызывает у рыб существенные изменения ПОЛ и ОАА в исследованных тканях, коррелируя с характером жизненного цикла паразита, с его ростом в теле рыб. Под влиянием паразита отмечается интенсификация перекисеобразовательных процессов и снижение образования структур антиоксидантной защиты. Негативное воздействие плероцеркоида на организм рыбы проявляется в сдвиге интенсивности обмена липидов, а также в поддержании равновесного состояния окислительно-восстановительных процессов, связанных с реализацией защитной функции липидов, что может иметь место при ответе организма на дефицит антиоксидантов. Описанные выше изменения оказывают отрицательное влияние на жизненно важные функции тканей хозяина и его организм в целом.

Список литературы

- Андрева Л. И., Кожемякин Н. А., Кишкун А. А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1988. № 11. С. 41–43.
- Владимиров Ю. А., Арчаков А. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.

- Высоцкая Р. У. Углеводный, липидный и аминокислотный состав некоторых гельминтов пресноводных рыб: Автореф. дис. канд. биол. наук. Петрозаводск, 1973. 18 с.
- Гершанович А. Д., Лапин В. И., Шатуновский М. И. Особенности обмена липидов у рыб // Успехи соврем. биол. 1991. Т. 3, вып. 2. С. 207—219.
- Грубинко В. В., Леус Ю. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) // Гидробиол. журн. 2001 Т. 37, № 1. С. 64—78.
- Гурьянова С. Д. Липидный состав отдельных тканей налима при заражении их гельминтами // Биохимия пресноводных рыб Карелии. Петрозаводск: Наука, 1980. С. 36—40.
- Дубинина М. Н. Ремнецы фауны СССР. М.; Л.: Наука, 1966. 261 с.
- Извекова Г. И. Некоторые аспекты паразито-хозяйинных отношений в системе *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea)—лещ // Изв. РАН. Сер. Биол. 1999. № 3. С. 1—6.
- Извекова Г. И. *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda, Pseudophyllidea): некоторые аспекты углеводного обмена плероцеркоидов // Биол. внутр. вод. 2000. № 2. С. 101—106.
- Куперман Б. И., Жохов А. Е., Извекова Г. И., Таликина М. Г. Динамика зараженности лигулидами лещей волжских водохранилищ и паразитохозяйинные отношения при лигулезе // Биол. внутр. вод. 1997. № 2. С. 41—49.
- Микряков В. Р., Балабанова Л. В., Заботкина Е. А., Лапирова Т. Б., Попов А. В., Силкина Н. И. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001. 126 с.
- Микряков В. Р., Силкина Н. И. Иммуно-физиологическое состояние леща Рыбинского водохранилища при лигулезе // Итоги научно-практических работ в ихтиопатологии. Информ. бюл. МИК. М., 1997. С. 79—80.
- Микряков В. Р., Силкина Н. И. Оценка последствий заражения леща плероцеркоидом *Ligula intestinalis* на иммунофизиологическое состояние хозяина // Итоги развития и современные проблемы гельминтологии в России. М.: Наука, 1999. С. 27.
- Прайор У. Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах // Свободные радикалы в биологии. М.: Наука, 1979. Т. 1. С. 13—67.
- Пронина С. В., Пронин Н. М. Взаимоотношения в системах гельминты—рыбы. М.: Наука, 1988. 176 с.
- Семенов В. Л., Ярош А. М. Метод определения антиокислительной активности биологического материала // Укр. биохим. журн. 1985. Т. 57, № 3. С. 50—52.
- Сидоров В. С., Высоцкая Р. У., Смирнов Л. П., Гурьянов С. Д. Сравнительная биохимия гельминтов рыб: аминокислоты, белки, липиды. Л.: Наука, 1989. 151 с.
- Силкина Н. И., Жарикова А. Н. Влияние *Ligula intestinalis* на характер липидного обмена крови хозяина *Abramis brama* // Паразитология. Т. 37, вып. 3. 2003. С. 201—206.
- Силкина Н. И., Микряков В. Р. Особенности состава липидов *Ligula intestinalis* и некоторых тканей ее хозяина *Abramis brama* (L.) // Итоги развития и современные проблемы гельминтологии в России. М.: Наука, 1999. С. 32.
- Силкина Н. И., Микряков В. Р. Некоторые иммуно-физиологические аспекты взаимоотношений в системе паразит—хозяин на примере *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea)—лещ *Abramis brama* (L.) // Паразиты рыб: современные аспекты изучения. Тез. докл. конф., посвящ. памяти Б. И. Купермана. Борок, 2003 а. С. 49.
- Силкина Н. И., Микряков В. Р. Влияние *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea) на некоторые показатели липидного обмена у промежуточного хозяина *Abramis brama* (L.) // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов. Тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. Борок, 2003 б. С. 116—117.
- Arme S., Owen R. W. Observations on a tissue response within the body cavity of fish infected with plerocercoid of *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda) // Journ. Fish Biol. 1970. Vol. 2. P. 35—37.
- Barus V., Prokes M. Parasite load of *Ligula intestinalis* plerocercoids in adult bream, *Abramis brama* // Acta Univ. Carolinae Biol. 1995. Vol. 39. P. 127—134.
- Bennet E. M., Behm C. A., Bryant C. The role of the host in the regulation of end-product formation in two strains of the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* // Intern. Journ. Parasitol. 1990. Vol. 20, N 7. P. 841—848.
- Fiho W. D. Fish antioxidant defences — A comparative approach // Braz. Journ. Med. Biol. Res. 1996. Vol. 29, N 12. P. 1735—1742.

- Folch J., Lees M., Stanley G. N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues // Journ. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, N 3. P. 497—509.
- Taylor M., Hoole D. *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda: Pseudophyllidea) plerocercoid induced changes in the spleen and pronephros of roach, *Rutilus rutilus* (L.) and gudgeon, *Gobio gobio* (L.) // Journ. Fish Biol. 1989. Vol. 34, N 4. P. 538—596.
- Winston G. W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Compar. biochem. Physiol. 1991. Vol. 100, N 1—2. P. 173—176.

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Поступила 10 XI 2004
Борок, Ярославская обл.

PECULIARITIES OF LIPID PEROXIDATION INDICES
IN *LIGULA INTESTINALIS* (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA) AND
ITS HOST — *ABRAMIS BRAMA* (L.)

N. I. Silkina, V. R. Mikryakov

Key words: *Ligula intestinalis*, plerocercoids, fish hosts, peroxide lipid, antioxidant.

SUMMARY

A comparative analysis of indices of peroxidation lipids in tissues of *Ligula intestinalis* plerocercoids and in the intermediate fish host, the bream *Abramis brama*, was performed for the content of common lipids (CL), malonate di-aldehyde (MDA), which is a product of lipid peroxidation (POL), and common antioxidant activity (CAA). The dependence of indices upon size of parasites is recovered. The long-sized parasites had higher rate of MDA and intense CAA. The higher rate of MDA and low one of CAA was observed in the infected fishers comparing to the healthy ones.