

УДК 577.115:594.124:576.895.122

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ МЕТАЦЕРКАРИЯМИ *HIMASTHLA ELONGATA*

Н. Н. Фокина¹, И. В. Суховская¹, Т. Р. Руоколайнен¹, А. А. Кочнева¹,
И. Н. Бахмет¹, К. Е. Николаев², И. А. Левакин²

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

² Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

Проведено исследование длительного эффекта экспериментального заражения метацеркариями *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (*Himasthliidae*) на некоторые биохимические показатели второго промежуточного хозяина – мидии *Mytilus edulis* (содержание восстановленной формы глутатиона, структурных и запасных липидов, жирных кислот общих липидов, а также активность ферментов глутатион-S-трансферазы, каталазы и пероксидазы). Показано, что паразитарная инвазия оказывает влияние на активность каталазы в жабрах и ноге у мидий, а также на содержание некоторых фосфолипидов и жирных кислот преимущественно в их жабрах, гепатопанкреасе и ноге. В ноге инвазированных мидий пониженная активность каталазы и повышенное содержание лизофосфатидилхолина и сфингомиелина, а также низкий уровень полиненасыщенных жирных кислот (преимущественно докозагексаеновой 22:6n-3 кислоты) отражают главным образом присутствие метацеркарий *H. elongata* в исследуемом органе. В то же время изменения некоторых биохимических показателей в жабрах у инвазированных мидий (прежде всего повышенная активность каталазы, сниженное содержание эфиров холестерина и модификации на уровне жирнокислотного спектра) указывают на наличие стрессового воздействия, оказываемого метацеркариями *H. elongata* на моллюсков. Предполагается, что исследуемые биохимические показатели подвергаются значительному воздействию непосредственно в момент внедрения паразитов в ткани хозяина (в течение первых суток), тогда как длительный эффект нахождения паразита в организме второго промежуточного хозяина (на протяжении года) приводит к стабилизации в системе «паразит – хозяин», в том числе на уровне исследуемых биохимических показателей. Данное предположение требует проведения дополнительных исследований.

Ключевые слова: фосфолипиды; жирные кислоты; восстановленный глутатион; каталаза; глутатион-S-трансфераза; двустворчатые моллюски; трематоды.

N. N. Fokina, I. V. Sukhovskaya, T. R. Ruokolainen, A. A. Kochneva, I. N. Bakhmet, K. E. Nikolaev, I. A. Levakin. ASSESSMENT OF THE LIPID COMPOSITION AND SOME COMPONENTS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN BLUE MUSSELS *MYTILUS EDULIS* EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *HIMASTHLA ELONGATA* METACERCARIAE

The long-term effect of experimental infection with metacercariae of *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (*Himasthliidae*) on some biochemical indices of its second intermediate

host, *Mytilus edulis* (the content of reduced glutathione, structural and storage lipids, fatty acids of total lipids, and the activity of glutathione-S-transferase, catalase and peroxidase) was investigated. It was shown that the parasitic invasion affects catalase activity in mussel gills and foot, as well as alters the content of some phospholipids and fatty acids, mainly in mussel gills, digestive gland and foot. The decreased catalase activity and elevated levels of lysophosphatidylcholine and sphingomyelin, as well as the low content of polyunsaturated fatty acids (primarily docosahexaenoic acid, 22:6n-3) in the foot of infected mussels generally reflect the presence of *H. elongata* metacercariae in this organ. At the same time, changes in several biochemical indices in the gills of infected mussels (essentially higher catalase activity, reduced content of cholesterol esters and modifications in the fatty acid composition) indicate a stress effect caused by *H. elongata* metacercariae. It is assumed that the studied biochemical indices are significantly affected immediately, during penetration of the parasites in the host tissues (within the first day), while the long-term effect of the parasite infection on the second intermediate host (during a year) eventually leads to a stabilization of the host-parasite relationship, including the investigated components of the antioxidant system, as well as the lipid composition. This assumption requires additional research.

Key words: phospholipids; fatty acids; reduced glutathione; glutathione-S-transferase; catalase; bivalves; trematodes.

Введение

Исследования взаимодействий в системе «паразит – хозяин» на примере различных видов трематод и двусторчатых моллюсков проводились начиная с 1960-х годов [Cheng, 1967; Lauckner, 1983; De Montaudouin et al., 2012]. Среди многообразия аспектов во взаимоотношениях «паразит – хозяин» актуальным остается вопрос о влиянии паразитов на биохимический статус хозяина. Достаточно подробно описаны метаболические модификации, вызванные инвазией трематод, у брюхоногих моллюсков [Lunetta, Vernberg, 1971; Thompson, 1983; Fried et al., 1993a, б; Arakelova et al., 2004, 2007; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013; Tyutin, Izvekova, 2013], однако исследования биохимических параметров двусторчатых моллюсков, зараженных трематодами, фактически отсутствуют. Считается, что патогенное воздействие метацеркарий трематод на организм второго промежуточного хозяина минимально [Bower et al., 1994; Laruelle et al., 2002], поскольку в большинстве случаев метацеркарии представляют собой покоящуюся стадию, «ожидающую» попадания в организм окончательного хозяина [Werding, 1969]. При этом известно, что внедрение паразита индуцирует значительные метаболические перестройки в организме хозяина, инициируя формирование активных форм кислорода (АФК) и тем самым вызывая окислительный стресс и активацию антиоксидантной системы (АОС) [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013; Tyutin, Izvekova, 2013]. В связи с этим с помощью биохимических маркеров, в том числе показателей, отражающих работу АОС, а также

состав липидов и их жирных кислот (которые служат основной мишенью для действия АФК), можно оценить влияние паразитарной инвазии на организм промежуточного хозяина [Fried, Bradford, 1984; Fried et al., 1995; Arakelova et al., 2004, 2007; Руднева и др., 2004; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013].

В настоящей работе изучали длительный эффект экспериментального заражения метацеркариями *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (Himasthliidae) на биохимические показатели второго промежуточного хозяина – мидии (*Mytilus edulis*), а именно: содержание структурных и запасных липидов, жирнокислотный спектр общих липидов, работу некоторых компонентов АОС (активность ферментов глутатион-S-трансферазы, каталазы, пероксидазы и содержание восстановленной формы глутатиона). *H. elongata* – типичный представитель паразитофауны мидий, обитающих в литоральной зоне Белого моря [Galaktionov, 2001]. Первым промежуточным хозяином этого вида служат литоральные гастроподы *Littorina* spp., а окончательным – птицы прибрежного комплекса [Werding, 1969].

Материалы и методы

Проведение эксперимента по заражению мидий Mytilus edulis церкариями Himasthla elongata

Для эксперимента были использованы мидии *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758), выращенные на искусственных субстратах марикультуры в районе о. Соностров (Кандалакшский залив, Белое море). Ранее было показано, что

мидии, обитающие в условиях аквакультуры, свободны от инвазии метацеркариями трематод [Kulatchkova, 1985]. В нашей работе анализ случайным образом выбранных 100 экземпляров мидий с искусственных субстратов также показал отсутствие их заражения трематодами. Были отобраны моллюски с длиной раковины $2,5 \pm 0,4$ мм ($N = 30$), для того чтобы исключить влияние размера моллюска на степень заражения паразитами, а также на исследуемые биохимические показатели [Poulin, 2010].

Для получения церкарий *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) использованы моллюски *Littorina littorea* (Linnaeus, 1758), собранные в литоральной зоне Чупинской губы Кандалакшского залива в июле 2013 года. После сбора улитки в пластиковых пакетах были помещены в изотермические условия ($t = 10^\circ\text{C}$) на 24 ч, а затем их размещали индивидуально в 100-мл пластиковые стаканы с морской водой и держали в условиях солнечного освещения на протяжении 1 ч. В дальнейшем стаканы проверяли на наличие церкарий с помощью бинокуляра (МБС-10, Россия). Выявлены 50 особей *L. littorea*, инфицированные редиями *H. elongata*, которые были заняты в дальнейшем эксперименте. Для заражения церкариями *H. elongata* использованы 15 экземпляров мидий *M. edulis*, которых индивидуально помещали в 100-мл стакан с морской водой, после чего добавляли по 40–50 экземпляров церкарий *H. elongata* и выдерживали в течение суток [Nikolaev et al., 2006]. В качестве контрольной группы были выбраны 15 особей незараженных мидий *M. edulis*. Затем зараженную и контрольную группы моллюсков поместили в садки, расположенные на глубине 3 м в Кривозерском заливе Чупинской губы Кандалакшского залива. Срок экспозиции зараженных и контрольных особей составил 1 год.

В сентябре 2014 года проводился отбор тканей жабр, краевой части мантии, гепатопанкреаса и ноги у мидий *M. edulis* контрольной группы и зараженных церкариями *H. elongata* на биохимический анализ. При отборе проб проверяли наличие метацеркарий *H. elongata* и проводили подсчет их количества во всех исследуемых тканях при помощи бинокуляра (МБС-10, Россия).

Биохимический анализ

Анализ выполняли на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Анализ активности некоторых ферментов антиоксидантной системы, а также определение концентрации восстановленной формы глутатиона. В день исследования замороженные образцы тканей мидий весом 0,1–0,4 г гомогенизировали с помощью гомогенизатора Digital Disruptor Genie (США) в 50-мМ буферном растворе Трис-НСI (pH 7,5) при 5-кратном разбавлении. Гомогенат центрифугировали при 50 000 g в течение 1 часа при 4°C на центрифуге Beckman Coulter Allegra® 64R (США). Супернатант использовали для определения следующих биохимических показателей: активность глутатион S-трансферазы, каталазы, гваякол-зависимой пероксидазы, а также содержание восстановленной формы глутатиона. Измерения проводили на многофункциональном ридере CLARIOstar BasicUnit (BMG Labtech, Германия).

Активность глутатион S-трансферазы (КФ 2.5.1.18, GST) определяли по скорости связывания восстановленного глутатиона с субстратом 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) [Habig et al., 1974]. Относительную активность фермента в тканях мидий выражали в количестве μM продукта реакции, образовавшихся за минуту, в пересчете на мг белка в ткани (μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6, CAT) определяли спектрофотометрическим методом согласно Beers and Sizer [1952] с модификациями. Относительную активность выражали в μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин.

Активность гваякол-зависимой пероксидазы (КФ 1.11.1.7, P_x) определяли по методу Chance and Maehly [1955] с модификациями. Относительную активность выражали в μM продукта/мг растворимого белка в ткани * мин.

Для определения концентрации восстановленного глутатиона (GSH) растворимые белки исходного гомогената осаждали с помощью 5% трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием при 2500 g в течение 15 мин. Концентрацию восстановленного глутатиона в полученном супернатанте определяли, используя модифицированные методики Cohn, Lyle [1966] и Hissin, Hilf [1976]. Концентрацию глутатиона вычисляли с помощью калибровочного графика, построенного по результатам измерений серии растворов GSH (Sigma-Aldrich, Австрия) с концентрацией от 0,5 до 20 мкг/мл на 0,4 М трис-НСI буфере (pH 8,5) с 5 мМ ЭДТА. Относительную концентрацию

глутатиона выражали в мкг GSH в пересчете на мг белка в ткани.

Концентрацию растворимого белка определяли в супернатанте спектрофотометрически по поглощению пептидной связи при длине волны 220 нм при 26 °С [Noble, Bailey, 2009; Суховская и др., 2010].

Анализ состава общих липидов и их жирных кислот. Липиды исследуемых тканей мидий экстрагировали по методу Folch et al. [1957] в смеси хлороформ/метанол (2:1, по объему). Разделение общих липидов на основные классы (фосфолипиды, холестерин и его эфиры, триацилглицерины) проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием силикагельных пластин Silica gel 60 F254 plates 200×100 мм (Merck, Германия) в системе растворителей: петролейный эфир/серный эфир/уксусная кислота (90:10:1, по объему) при комнатной температуре. Идентификация исследуемых фракций основных классов липидов осуществлялась при помощи стандартов: смесь фосфолипидов (P3817, Supelco, США), холестерин (C8667, Sigma, США), триолеатглицерин (92860, Sigma, США) и пальмитат холестерина (C78607, Aldrich, США). Количественное содержание общих фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина определяли по методу В. С. Сидорова с соавторами [1972], а холестерин – по методу Engelbrecht et al. [1974]. Количественное определение исследуемых фракций общих липидов проводили при 540 нм для фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина, а также при 550 нм для холестерина, используя спектрофотометр СФ-2000 (Россия).

Состав отдельных фракций фосфолипидов (фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин и сфингомиелин) определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии по методу Arduini et al. [1996] на колонке Nucleosil 100–7 (Elsiko, Россия) с подвижной фазой: ацетонитрил/гексан/метанол/фосфорная кислота (918:30:30:17.5, по объему) и УФ-спектрофотометром при длине волны 206 нм на изократическом жидкостном хроматографе «Стайер» («Аквилон», Россия). Идентификацию пиков проводили с использованием аналитических стандартных растворов: смесь фосфолипидов (P3817, Supelco, США), фосфатидилсерин (P7769, Sigma, США) и сфингомиелин (S7004, Sigma, США).

Общие липиды исследуемых тканей мидий подвергали прямому метанолизу с использованием метанола и хлористого ацетила. Получен-

ные смеси метиловых эфиров жирных кислот разделяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Agilent 7890A (США), оборудованном пламенно-ионизационными детекторами, с использованием капиллярных колонок DB-23 (60 м – 0,25 мм) (Agilent Technologies, США) и азота в качестве подвижной фазы. Метиловые эфиры жирных кислот, полученные из общих липидов тканей мидий, идентифицировали путем сравнения с аналитическим стандартом FAME Mix 37 Components (Supelco, США).

Статистическая обработка

Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft Statistica v 7.0. Тест Колмогорова – Смирнова и Лиллиефорса был использован для определения нормальности распределения исследуемых биохимических показателей мидий. Поскольку распределение большинства исследуемых показателей отклоняется от нормального, достоверность различий оценивали непараметрическим критерием Манна – Уитни U ($p < 0,05$). Корреляцию в изменениях между исследуемыми биохимическими показателями и количеством метацеркарий в ноге мидий оценивали с помощью коэффициентов ранговой корреляции Спирмена [Hill, Lewicki, 2007].

Результаты и обсуждение

Несмотря на то что большинство видов *Echinostomatidae*, инфицирующих двустворчатых моллюсков, не являются патогенными [Bower et al., 1994], показано, что заражение моллюсков церкариями приводит к повреждению тканей, снижению скорости фильтрации и бисусообразования, к аккумуляции гемоцитов и фиброзной ткани вокруг инцистировавшихся церкарий [Lauckner, 1983; Wegerberg, 1998; Jensen et al., 1999; Laruelle et al., 2002]. Мы предполагаем, что изучение состава липидов и их жирных кислот, а также компонентов АОС у инвазированных мидий позволит определить степень влияния экспериментального заражения трематодами *H. elongata* на их биохимический статус. Исследование тканей мидий *M. edulis* на наличие паразитов показало, что в результате проведенного экспериментального заражения у всех исследуемых моллюсков метацеркарии *H. elongata* были локализованы в ноге и их количество составляло от 3 до 40 экземпляров.

Липиды и их жирные кислоты являются структурными компонентами клеточных мем-

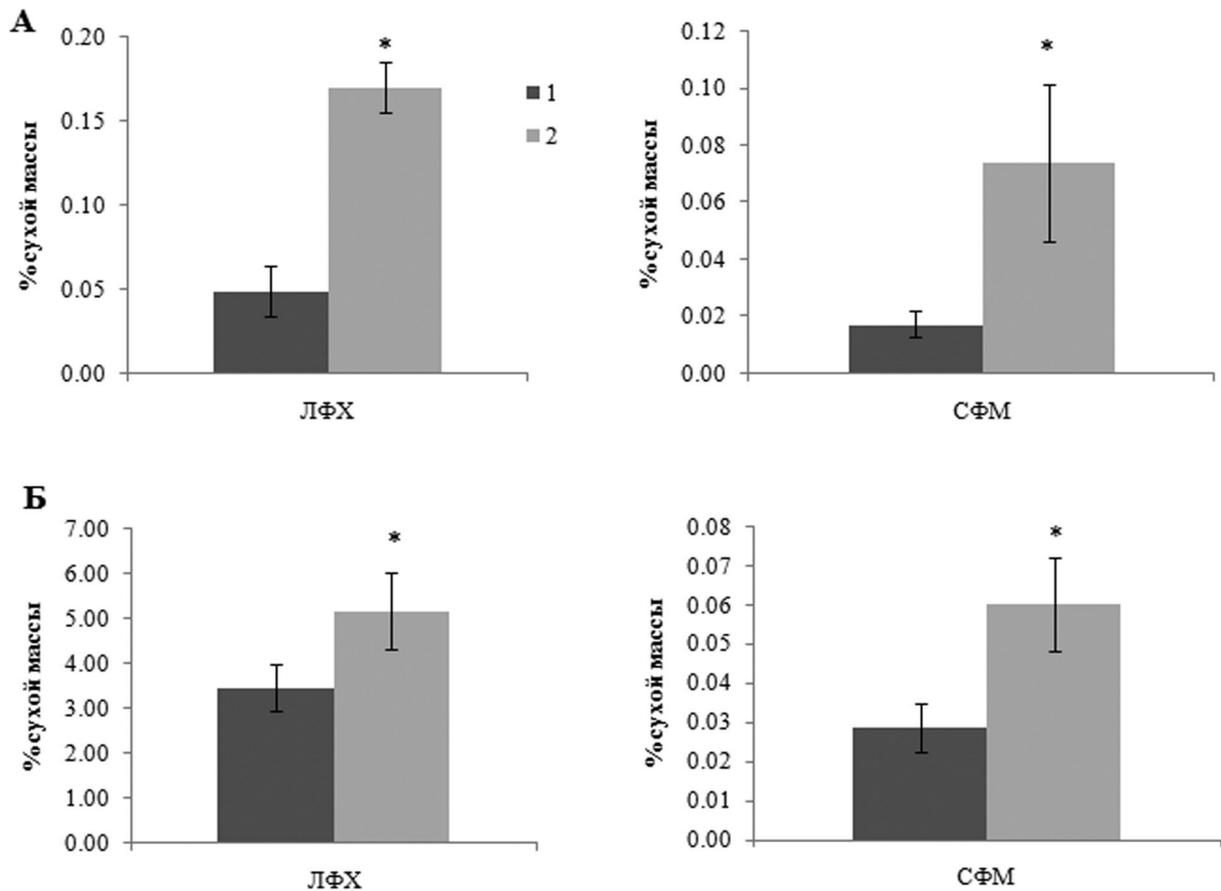


Рис. 1. Содержание лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и сфингомиелина (СФМ) в % сухой массы в ноге (А) и гепатопанкреасе (Б) неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*. Здесь и далее: * – различия достоверны, критерий Манна – Уитни U ($p < 0,05$)

Fig. 1. Content of lysophosphatidylcholine (ЛФХ) and sphingomyelin (СФМ) in % of dry mass in the foot (А) and digestive gland (Б) of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*. Here and hereinafter: * – differences are significant, Mann-Whitney U test ($p < 0,05$)

бран, источниками метаболической энергии, а также предшественниками для синтеза биологически активных веществ, в том числе эйкозаноидов [Vance, Vance, 2002]. Трематоды, как и большинство паразитов, не могут *de novo* синтезировать липиды и полиненасыщенные жирные кислоты, и они получают их из окружающей среды, а затем встраивают в свой метаболизм [Hoskin et al., 1974; Furlong, 1991; Smith, 1994; Ghosh et al., 2005; Kubata et al., 2007; Mondal, Dey, 2013]. В то же время паразиты могут синтезировать эйкозаноиды, необходимые для подавления иммунного ответа хозяина [Belley, Chadee, 1995; Kubata et al., 2007]. Арахидоновая кислота – метаболический предшественник для синтеза эйкозаноидов, находится в составе фосфолипидов, преимущественно фосфатидилхолина и фосфатидилинозитола [Vance, Vance, 2002]. Высвобождение полиненасыщенных жирных кислот, в том числе арахидоновой кислоты, и лизоформ фосфолипидов отмечается в организме хозяина посредством деятель-

ности ферментов фосфолипаз паразитарного происхождения [Kubata et al., 2007]. Так, в настоящей работе показано, что в гепатопанкреасе и ноге инвазированных мидий повышена концентрация лизофосфатидилхолина (ЛФХ, рис. 1). Поскольку были выявлены положительные корреляции между содержанием ЛФХ и количеством метацеркарий в ноге у инвазированных мидий ($r = 0,61$; $p = 0,0086$), отмеченное повышение уровня ЛФХ в ноге служит, вероятно, результатом метаболической активности церкарий, требующих наличия жирных кислот – предшественников для синтеза эйкозаноидов, подавляющих иммунную систему хозяина [Belley, Chadee, 1995; Kubata et al., 2007]. Напротив, в гепатопанкреасе инвазированных мидий корреляций в содержании всех исследуемых фракций фосфолипидов с количеством метацеркарий в ноге выявлено не было. Вероятно, в гепатопанкреасе свободные полиненасыщенные жирные кислоты могут быть необходимы для синтеза эйкозаноидов, обеспечивающих

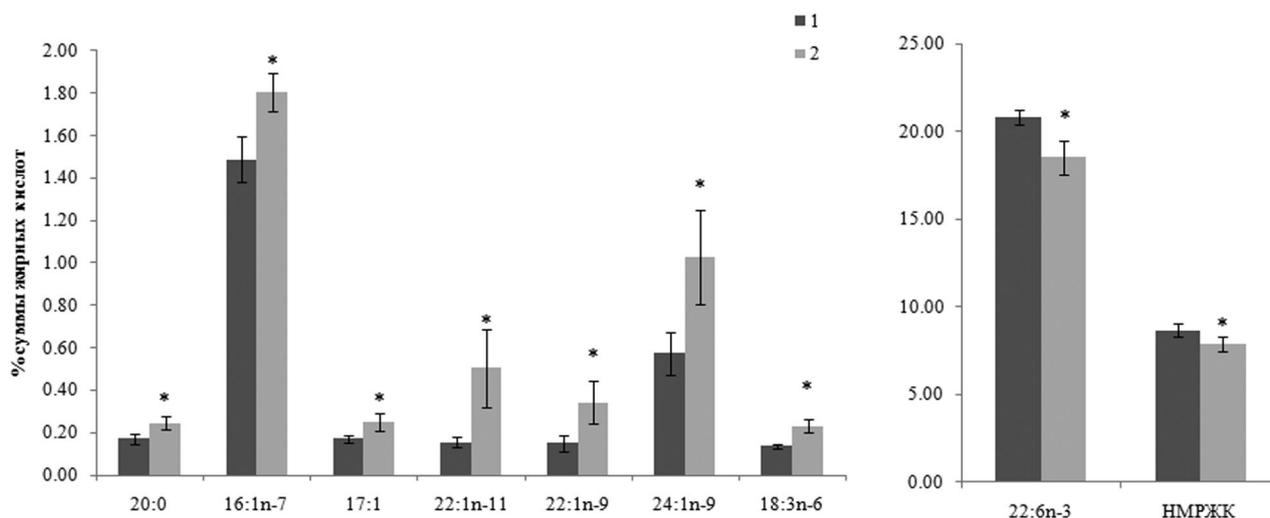


Рис. 2. Жирнокислотный спектр общих липидов (% суммы жирных кислот) ноги неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Fig. 2. Fatty acid composition of total lipids (% of the total fatty acids) of the foot of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

работу собственной иммунной системы. Наряду с повышенным содержанием ЛФХ в ноге и гепатопанкреасе инвазированных мидий отмечено увеличение концентрации сфингомиелина (СФМ, рис. 1). При этом в ноге инвазированных мидий повышение уровня СФМ положительно коррелировало с числом метацеркарий ($r = 0,62$; $p = 0,0076$). Известно, что данный фосфолипид «заменяет» доминирующий фосфолипид клеточных мембран – фосфатидилхолин – в случае его недостаточного содержания в составе клеточных мембран [Vance, Vance, 2002].

В жирнокислотном спектре гепатопанкреаса инвазированных мидий достоверных отличий, связанных с воздействием метацеркарий *H. elongata*, отмечено не было, за исключением разнонаправленных изменений в составе некоторых минорных мононенасыщенных жирных кислот (14:1, 18:1n-5 и 22:1n-7), суммарный процент которых не превышал 1% от суммы всех жирных кислот в составе общих липидов. Наряду с этим в ноге у инвазированных мидий отмечалось повышение концентрации насыщенной 20:0 кислоты, мононенасыщенных жирных кислот (17:1, 22:1n-11, 22:1n-9 и 24:1n-9), гамма-линоленовой кислоты 18:3n-6, а также снижение содержания докозагексаеновой кислоты (22:6n-3) и метилэноненасыщенных жирных кислот (рис. 2). В то же время содержание следующих жирных кислот в составе общих липидов ноги инвазированных мидий коррелировало с количеством метацеркарий *H. elongata*: 20:0 ($r = 0,60$; $p = 0,02$), 24:0 ($r = 0,69$; $p = 0,005$), 18:1n-11 ($r = 0,61$; $p = 0,01$),

24:1n-9 ($r = 0,71$; $p = 0,0039$), 18:3n-6 ($r = 0,63$; $p = 0,01$) и 22:6n-3 ($r = -0,78$; $p = 0,0015$). Мы предполагаем, что данный жирнокислотный спектр ноги у инвазированных мидий обусловлен преимущественно составом жирных кислот метацеркарий *H. elongata*. Известно, что редии *Echinostoma trivolvis* содержат повышенные концентрации мононенасыщенных жирных кислот, а также гамма-линоленовой кислоты, по сравнению со взрослой формой паразита [Fried et al., 1993a]. Вместе с тем пониженное содержание докозагексаеновой кислоты и метилэноненасыщенных жирных кислот (рис. 2) в ноге инвазированных мидий указывает на отсутствие данных жирных кислот в составе липидов метацеркарий [Lunetta, Vernberg, 1971; Fried et al., 1993a, b; Mondal, Dey, 2013].

Необходимо отметить, что корреляции состава некоторых фосфолипидов и жирных кислот в зависимости от количества метацеркарий были обнаружены только в ноге. В остальных исследуемых органах инвазированных мидий корреляций между изменениями в составе липидов и их жирных кислот и количеством метацеркарий в ноге выявлено не было. В жабрах инвазированных мидий (рис. 3) отмечены следовые количества эфиров холестерина, а также повышенное содержание 20:0 кислоты, мононенасыщенной жирной кислоты (20:1n-7) и некоторых n-3 полиненасыщенных жирных кислот (18:4 и 20:3). При этом пониженное содержание вакценовой 18:1n-7 кислоты в жабрах инвазированных мидий, вероятно, указывает на дополнительный синтез продукта ее элонгации – 20:1n-7 кислоты [Bergé, Barnathan, 2005].

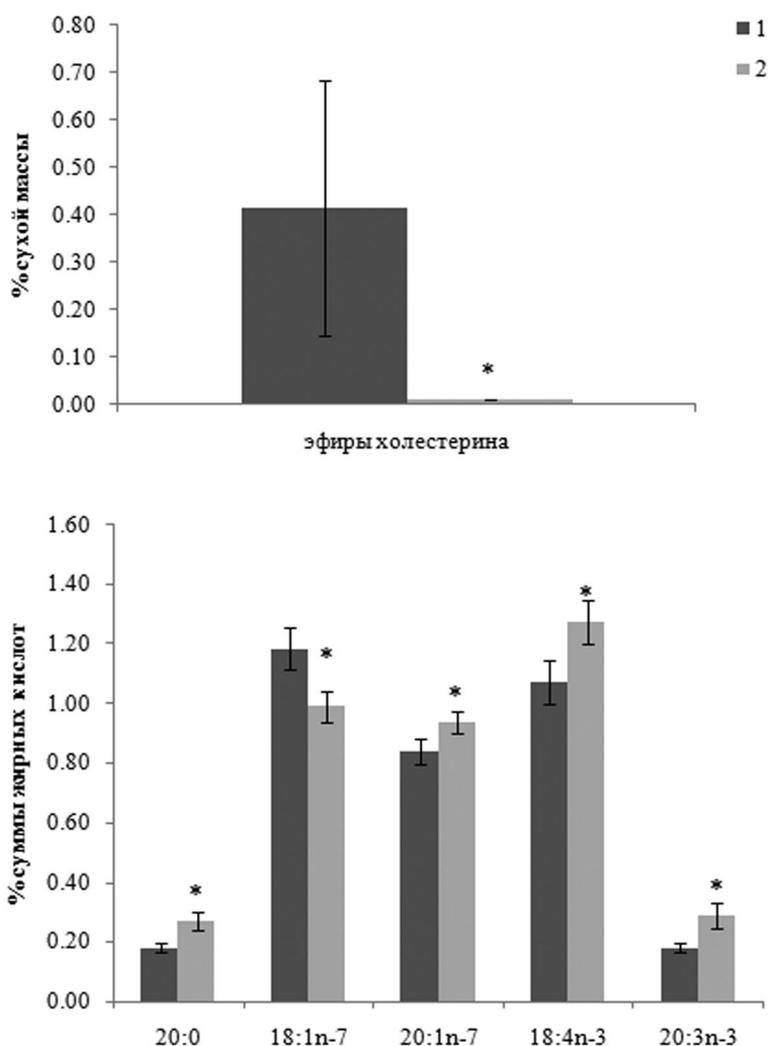


Рис. 3. Содержание эфиров холестерина (% сухой массы) и некоторых жирных кислот (% суммы жирных кислот) в жабрах неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Fig. 3. Content of cholesterol esters (% of dry mass) and some fatty acids (% of the total fatty acids) in the gills of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

В краевой части мантии инвазированных мидий было отмечено снижение в содержании минорных мононенасыщенных жирных кислот (14:1 и 22:1n-9) и полиненасыщенной 22:5n-6 кислоты, содержание которых не превышало 1 % от суммы жирных кислот.

Одной из универсальных реакций на действие негативных факторов, в том числе влияние паразитарной инвазии, является развитие окислительного стресса и, как следствие, активация компонентов антиоксидантной защиты [Руднева и др., 2004; Mahmoud, Rizk, 2004; Vorontsova et al., 2010; Żbikowska, 2011; Gornowicz et al., 2013]. Так, у брюхоногих моллюсков, инфицированных трематодами, показана активация таких ферментов АОС, как Pх, супероксиддисмутазы (SOD), а также GST [Goodall et al.,

2004; Zelck et al., 2005; Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013]. Однако данная ответная реакция наблюдалась у улиток непосредственно после инвазии или по истечении нескольких дней (до 22 дней) [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013]. В настоящей работе, изучив длительное воздействие экспериментальной паразитарной инвазии на мидий, мы не обнаружили достоверных различий в активности таких компонентов АОС, как GST и Pх, во всех исследуемых органах (табл.). Вероятно, данные ферменты АОС участвуют в развитии первичного защитного механизма, направленного на подавление окислительного стресса, вызванного инвазией паразита в ткани [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013], тогда как длительный эффект нахождения паразита в организме

Активность глутатион-S-трансферазы (GST, $\mu\text{M}/\text{мин}/\text{мг}$ белка), гваякол-зависимой пероксидазы (Px, μM перекиси/ мг белка * мин), каталазы (CAT, μM перекиси/ мг белка * мин), а также содержание восстановленной формы глутатиона (GSH, $\mu\text{g}/\text{мг}$ белка) в исследуемых органах неинвазированных (1) и инвазированных (2) мидий *Mytilus edulis*

Activity of glutathione-S-transferase (GST, $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ of protein), guaiacol-depended peroxidase (Px, μM of peroxide/ mg of protein * min), catalase (CAT, μM of peroxide/ mg of protein * min), as well as the content of reduced glutathione (GSH, $\mu\text{g}/\text{mg}$ of protein) in the studied organs of the uninfected (1) and infected (2) mussels *Mytilus edulis*

Показатель Index	Исследуемый орган Studied organ							
	Жабры Gills		Гепатопанкреас Digestive gland		Нога Foot		Край мантии Edge of mantle	
	1	2	1	2	1	2	1	2
GST	35,8 ± 7,1	26,8 ± 5,2	8,0 ± 0,6	8,2 ± 0,7	12,0 ± 1,7	9,7 ± 1,4	11,2 ± 2,3	12,7 ± 3,3
Px	0,04 ± 0,01	0,034 ± 0,01	0,32 ± 0,08	0,31 ± 0,04	не определяли no research			
GSH	2,95 ± 1,49	2,99 ± 1,86	0,27 ± 0,06	0,21 ± 0,03	0,42 ± 0,07	0,57 ± 0,13	0,36 ± 0,16	0,33 ± 0,08
CAT	0,08 ± 0,03	0,12 ± 0,04*	11,7 ± 2,4	15,1 ± 3,2	4,038 ± 1,1	1,83 ± 0,87*	4,7 ± 1,1	4,81 ± 0,86

хозяина приводит к стабилизации в системе «паразит – хозяин» и отсутствию ответной реакции на уровне GST и Px.

В ноге инвазированных мидий была отмечена пониженная активность каталазы по сравнению с «контрольной» группой, что, вероятно, связано с наличием в данном органе метацеркарий *H. elongata*, изменяющих активность данного фермента. При этом повышенный уровень восстановленного глутатиона (GSH, $p = 0,06$) в ноге у инвазированных мидий (табл.) является, по-видимому, адаптивной реакцией на нахождение в данном органе паразита. Известно, что GSH одним из первых компонентов АОС реагирует на изменения, происходящие в клетке [Britten, Green, 1989], вступая в реакции с глутатион-зависимыми ферментами, в том числе GST. Вероятно, относительно стабильный уровень GSH во всех исследуемых тканях инвазированных мидий указывает на отсутствие у них окислительных процессов спустя год после заражения.

В жабрах двустворчатых моллюсков, которые, как известно, выполняют барьерную функцию и первыми реагируют на изменения во внешней среде [Смирнов и др., 2017], обнаружен высокий уровень активности GST и концентрации GSH по сравнению с другими исследованными органами. При этом активность пероксидазы в жабрах исследуемых мидий была на порядок ниже, чем в гепатопанкреасе. Известно, что GST играет важную роль в биотрансформации ксенобиотиков [Nare et al., 1990; Milhon et al., 1997], а также участвует в антиоксидантной защите, проявляя при этом пероксидазную активность, и предотвращает окисление ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов мембран [Prohaska, Ganther, 1977].

Активность каталазы в жабрах инвазированных мидий в 2,2 раза выше по сравнению с контрольными образцами (табл.). Известно, что каталаза играет важную роль в разложении перекиси водорода, предупреждая процессы перекисного окисления мембранных липидов [Regoli, Giuliani, 2014]. У моллюсков повышение активности каталазы отмечалось в ответ на действие факторов различной природы, вызывающих окислительный стресс [Geret et al., 2002; Vlahogianni et al., 2007; Maria, Bebianno, 2011]. По-видимому, полученные нами результаты указывают на наличие окислительного стресса в жабрах инвазированных мидий.

Заключение

Таким образом, исследование длительного воздействия экспериментального заражения метацеркариями *H. elongata* на некоторые биохимические показатели мидий *M. edulis* показало, что паразитарная инвазия оказывает влияние на активность каталазы в жабрах и ноге, а также на содержание некоторых фосфолипидов и жирных кислот преимущественно в жабрах, гепатопанкреасе и ноге. Выявленные схожие изменения на уровне фосфолипидов мембран (главным образом лизофосфатидилхолина и сфингомиелина) в гепатопанкреасе и ноге инвазированных мидий обусловлены, по-видимому, разными явлениями: в ноге они отражают потребности паразита, тогда как в гепатопанкреасе – ответную реакцию хозяина на внедрение паразита. Оценка компонентов антиоксидантной системы у мидий, инвазированных метацеркариями *H. elongata*, показала, что жабры наиболее чувствительны к паразитарной инвазии. Повышенная активность каталазы в жабрах

указывает на наличие стрессового воздействия, оказываемого метацеркариями *H. elongata* на мидий. При этом изменения на уровне эфиров холестерина и жирнокислотного спектра жабр инвазированных мидий свидетельствуют об ответной реакции на уровне липидного состава. В ноге инвазированных мидий обнаруженные изменения на уровне активности каталазы, а также липидного и жирнокислотного состава связаны главным образом с наличием метацеркарий *H. elongata* в исследуемом органе. Поскольку считается, что наибольший стресс испытывает организм хозяина в момент внедрения паразита в его ткани [Vorontsova et al., 2010; Gornowicz et al., 2013], мы предполагаем, что именно на этом этапе происходит активация компонентов антиоксидантной системы и значительные модификации в спектре липидов и жирных кислот. Дальнейшее изучение ответной реакции исследуемых компонентов антиоксидантной системы, а также липидного состава различных тканей мидий в зависимости от сроков экспериментального заражения метацеркариями *H. elongata*, преимущественно в течение первых дней после заражения, позволит подтвердить или опровергнуть высказанное предположение об участии исследуемых биохимических показателей хозяина в ответной реакции на внедрение паразита в его ткани.

Авторы благодарят сотрудников Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН за возможность проводить исследования на биостанции.

Работа выполнена при финансовой поддержке федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0050 (№ АААА-А17-117031710039-3)), а также гранта РФФИ № 16-04-00820_а.

Литература

Руднева И. И., Солонченко А. И., Мельникова Е. Б. Влияние паразитарной инвазии на активность некоторых антиоксидантных ферментов печени и мышц хозяина черноморского калкана *Psetta maxima maotica* // Паразитология. 2004. Т. 38, № 6. С. 557–561.

Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. Липиды рыб. 1. Методы анализа // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Вып. 1. Экология. Паразитофауна. Биохимия. Петрозаводск: Карел. фил. АН СССР, 1972. С. 150–163.

Смирнов Л. П., Суховская И. В., Борвинская Е. В., Кочнева А. А. Некоторые биохимические показатели биотрансформации ксенобиотиков в тканях жемчужницы европейской *Margaritifera margaritifera* // Изв. РАН. Сер. биол. 2017. № 1. С. 30–34. doi: 10.7868/S0002332917010143

Суховская И. В., Борвинская Е. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н. Сравнительный анализ методов определения концентрации белка – спектрофотометрии в диапазоне 200–220 нм Бредфорд // Труды КарНЦ РАН. 2010. № 2. С. 68–71.

Arakelova E. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A., Shukolyukova E. P. Changes of phospholipid fatty acid composition in the digestive gland of the mollusc *Littorina saxatilis*, caused by trematode larvae // J. Evol. Biochem. Physiol. 2007. Vol. 43, no. 4. P. 388–397. doi: 10.1134/S0022093007030035

Arakelova K. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A. Physiology and lipid metabolism of *Littorina saxatilis* infected with trematodes // Dis. Aqua. Org. 2004. Vol. 60, no. 3. P. 223–231. doi: 10.3354/dao060223

Arduini A., Peschechera A., Dottori S., Sciarroli A. F., Serafini F., Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Res. 1996. Vol. 37. P. 684–689.

Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // Biol. Chem. 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–40.

Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: From pathogenesis to immunomodulation? // Parasitol. Today. 1995. Vol. 11, no. 9. P. 327–334. doi: 10.1016/0169-4758(95)80185-5

Bergé J. P., Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects // In: Y. Le Gal, R. Ulber, eds. Marine biotechnology I. Berlin Heidelberg: Springer. 2005. P. 49–125. doi: 10.1007/b135782

Bower S. M., McGladdery S. F., Price I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish // Ann. Rev. Fish Dis. 1994. Vol. 4. P. 1–199. doi: 10.1016/0959-8030(94)90028-0

Britten R. A., Green J. A. Changes in glutathione metabolism following exposure to alkylating-agents in human ovarian tumor-biopsies // Br. J. Cancer. Houndmills, Basingstoke, Hampshire, England RG21 6XS: Stockton Press. 1989. Vol. 60, no. 3. P. 497–497.

Chance B., Maehly A. C. Assay of catalase and peroxidases // Methods Enzymol. 1955. Vol. 2. P. 764–775.

Cheng T. C. Marine molluscs as hosts for symbioses, with a review of known parasites of commercially important species // Advances in Marine Biology. 1967. Vol. 5. P. 1–424.

Cohn V. H., Lyle J. A. Fluorometric assay for glutathione // Anal. Biochem. 1966. Vol. 14. P. 434–440.

De Montaudouin X., Bazairi H., Culloty S. Effect of trematode parasites on cockle *Cerastoderma edule* growth and condition index: a transplant experiment // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2012. Vol. 471. P. 111–121. doi: 10.3354/meps10033

Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol. Determination in serum. A rapid direction method // South Afr. Med. J. 1974. Vol. 48(7). P. 250–256.

Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497–509.

Fried B., Bradford J. D. Histochemical and thin-layer chromatographic analyses of neutral lipids in various host sites infected with *Leucochloridiomorpha constantiae* (Trematoda) // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1984. Vol. 78, no. 1. P. 175–177.

Fried B., Lewis Jr. P. D., Beers K. Thin-layer chromatographic and histochemical analyses of neutral lipids in the intramolluscan stages of *Leucochloridium variae* (Digenea, Leucochloridiidae) and the snail host, *Succinea ovalis* // *J. Parasitol.* 1995. P. 112–114. doi: 10.2307/3284019

Fried B., Rao K. S., Sherma J., Huffman J. E. Fatty acid composition of *Echinostoma trivolvis* (Trematoda) rediae and adults and of the digestive gland-gonad complex of *Helisoma trivolvis* (Gastropoda) infected with the intramolluscan stages of this echinostome // *Parasitol. Res.* 1993a. Vol. 79(6). P. 471–474. doi: 10.1007/BF00931585

Fried B., Sherma J., Rao K. S., Ackman R. G. Fatty acid composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) experimentally infected with the intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1993b. Vol. 104(3). P. 595–598. doi: 10.1016/0305-0491(93)90287-F

Furlong S. T. Unique roles for lipids in *Schistosoma mansoni* // *Parasitol. Today.* 1991. Vol. 7, no. 2. P. 59–62. doi: 10.1016/0169-4758(91)90192-Q

Galaktionov K. V. Parasites of common animals and animals of market value // *White Sea, ecology and environment.* Derzsavets, St. Petersburg. 2001. P. 95–110.

Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates* // *Mar. Environ. Res.* 2002. Vol. 54(3–5). P. 413–417. doi: 10.1016/S0141-1136(02)00164-2

Ghosh D., Dey C., Misra K. K. Host-parasite relationship: fatty acid compositions of a trematode, *Paramphistomum cervi* and common Indian goat, *Capra hircus* // *J. Parasitic Disease.* 2005. Vol. 29. P. 119–123.

Goodall C. P., Bender R. C., Broderick E. J., Bayne C. J. Constitutive differences in Cu/Zn superoxide dismutase mRNA levels and activity in hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) that are either susceptible or resistant to *Schistosoma mansoni* (Trematoda) // *Mol. Biochem. Parasitol.* 2004. Vol. 137, no. 2. P. 321–328.

Gornowicz D., Dmochowska K., Żbikowska E., Żółtowska K. Total antioxidative status and the activity of peroxidase and superoxide dismutase in the haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (L.) naturally infected with digenean trematodes // *J. Mollus. Stud.* 2013. Vol. 79(3). P. 225–229. doi: 10.1093/mollus/eyt019

Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.

Hill T., Lewicki P. Statistics: methods and applications // *A comprehensive reference for science, industry, and data mining.* StatSoft Inc. 2007. 719 p.

Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74(1). P. 214–226.

Hoskin G. P., Cheng T. C., Shapiro I. L. Fatty acid compositions of three lipid classes of *Himasthla quissetensis* rediae before and after starvation // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1974. Vol. 47, no. 4. P. 821–830.

Jensen K. T., Castro N. F., Bachelet G. Infectivity of *Himasthla* spp. (Trematoda) in cockle (*Cerastoderma edule*) spat // *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 1999. Vol. 79, no. 2. P. 265–271.

Kubata B. K., Duszenko M., Martin K. S., Urade Y. Molecular basis for prostaglandin production in hosts and parasites // *Trends Parasitol.* 2007. Vol. 23(7). P. 325–331. doi: 10.1016/j.pt.2007.05.005

Kulatchkova V. G. Parasites of blue mussels – the aquaculture object in the White Sea // *Investigation of the blue mussel of the White Sea.* L.: Zoological Institute, 1985. P. 88–97.

Laruelle F., Molloy D. P., Roitman V. A. Histological analysis of trematodes in *Dreissena polymorpha*: their location, pathogenicity, and distinguishing morphological characteristics // *J. Parasitol.* 2002. Vol. 88, no. 5. P. 856–863. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[0856:HAOTID]2.0.CO;2

Lauckner G. Diseases of mollusca: Bivalvia // In: Kinne O. (Ed.). *Diseases of Marine Animals.* Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Federal Republic of Germany. 1983. P. 477–962.

Lunetta J. E., Vernberg W. B. Fatty acid composition of parasitized and nonparasitized tissue of the mud-flat snail, *Nassarius obsoletus* (Say) // *Exp. Parasitol.* 1971. Vol. 30, no. 2. P. 244–248.

Mahmoud A. H., Rizk M. Z. Free Radical Scavengers in Susceptible/Resistant *Biomphalaria alexandrina* Snails before and after Infection // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004. Vol. 138. P. 523–530. doi: 10.1016/j.cca.2004.08.012

Maria V. L., Bebianno M. J. Antioxidant and lipid peroxidation responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to mixtures of benzo (a) pyrene and copper // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2011. Vol. 154(1). P. 56–63. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.004

Milhon J. L., Thiboldeaux R. L., Glowack K., Tracy J. W. *Schistosoma japonicum* GSH S-transferase Sj26 is not the molecular target of praziquantel action // *Exp. Parasitol.* 1997. Vol. 87(3). P. 268–274. doi: 10.1006/expr.1997.4231

Mondal J., Dey C. Lipid and fatty acid compositions of a trematode, *Isoparorchis hypselobagri* Billet, 1898 (Digenea: Isoparorchidae) infecting swim bladder of *Wallago attu* in the district North 24-Parganas of West Bengal // *J. Parasit. Dis.* 2013. Vol. 39, no. 1. P. 67–72. doi: 10.1007/s12639-013-0283-8

Nare B., Smith J. M., Prichard R. K. *Schistosoma mansoni*: levels of antioxidants and resistance to oxidants increase during development // *Exp. Parasitol.* 1990. Vol. 70(4). P. 389–97. doi: 10.1016/0014-4894(90)90122-S

Nikolaev K. E., Sukhotin A. A., Galaktionov K. V. Infection patterns in White Sea blue mussels *Mytilus edulis* of different age and size with metacercariae of *Himasthla elongata* (Echinostomatidae) and *Cercaria parvicaudata* (Rencolidae) // *Dis. Aqua Org.* 2006. Vol. 71, no. 1. P. 51–58. doi: 10.3354/dao071051

Noble J. E., Bailey M. J. A. Quantitation of Protein // *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95.

Poulin R. The selection of experimental doses and their importance for parasite success in metacercarial infection studies // *Parasitol.* 2010. Vol. 137, no. 5. P. 889–898. doi: 10.1017/S0031182009991624

Prohaska J. R., Ganther H. E. Glutathione peroxidase activity of glutathione-s-transferases purified from rat liver // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977. Vol. 76(2). P. 437–45.

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms // *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–17. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Smith J. D. *Animal parasitology.* Cambridge University Press, Cambridge. 1994.

Thompson S. N. Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species // *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1983. Vol. 74, no. 2. P. 183–211.

Tyutin A. V., Izvekova G. I. Infection of mollusks and fish by the trematode *Apophallus muehlingi* (Jagerskiold, 1898) and its interrelations with intermediate hosts // *Inland Water Biology.* 2013. Vol. 6, no. 1. P. 52–56. doi: 10.1134/S1995082912030157

Vance D. E., Vance J. E., eds. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* 4th ed. th ed. Amsterdam: Elsevier, 2002. 610 p.

Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M. J., Valavanidis A. Integrated use of biomarkers (superoxide

dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece // *Mar. Pollut. Bull.* 2007. Vol. 54(9). P. 1361–71. doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.05.018

Vorontsova Y. A., Yurlova N. I., Vodyanitskaya S. N., Glupov V. V. Activity of detoxifying and antioxidant enzymes in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda: Pulmonata) during invasion by Trematode Cercariae // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2010. Vol. 46(1). P. 28–34. doi: 10.1134/S0022093010010032

Wegeberg A. M. Digene trematoder (Echinostomatidae) infectionsokologi og effekt pa Cerastoderma edule. University of Aarhus. 1998.

Werdning B. Morphologie, Entwicklung und Ökologie digener Trematoden-Larven der Strandschnecke *Littorina littorea* // *Marine Biology.* 1969. Vol. 3, no. 4. P. 306–333.

Zbikowska E. One snail – three Digenea species, different strategies in host-parasite interaction // *Animal Biology.* 2011. Vol. 61, no. 1. P. 1–19. doi: 10.1163/157075511X554383

Zelck U. E., Janje B., Schneider O. Superoxide dismutase expression and H₂O₂ production by hemocytes of the trematode intermediate host *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) // *Dev. Comp. Immunol.* 2005. Vol. 29, no. 4. P. 305–314. doi: 10.1016/j.dci.2004.09.002

Поступила в редакцию 09.11.2017

References

Rudneva I. I., Solonchenko A. I., Mel'nikova E. B. Vliyaniye parazitarnoi invazii na aktivnost' nekotorykh antioksidantnykh fermentov pecheni i myshts khozyaina chernomorskogo kalkana *Psetta maxima maeotica* [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*]. *Parazitol.* [Parasitol.]. 2004. Vol. 38, no. 6. P. 557–561.

Sidorov V. S., Lizenko E. I., Bolgova O. M., Nefedova Z. A. Lipidy ryb. 1. Metody analiza [Lipids of fish. 1. Methods of analysis]. *Lososevye (Salmonidae) Karelii. Vyp. 1. Ekol. Parazitofauna. Biokhim.* [Salmonidae of Karelia. Iss. 1. Ecol. Parasitofauna. Biochem.]. Petrozavodsk: Karel. f. AN SSSR, 1972. P. 150–163.

Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Kochneva A. A. Nekotorye biokhimicheskie pokazateli biotransformatsii ksenobiotikov v tkanyakh zhemchuzhnitsy evropeiskoi *Margaritifera margaritifera* [Some biochemical parameters of the transformation of xenobiotics in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*]. *Izv. RAN. Ser. Biol.* [Biol. Bull.]. 2017. No. 1. P. 30–34.

Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Smirnov L. P., Nemova N. N. Sravnitel'nyi analiz metodov opredeleniya kontsentratsii belka – spektrofotometrii v diapazone 200–220 nm Bredford [Comparative analysis of the methods for determination of protein concentration – spectrophotometry in the 200–220 nm range and the Bradford protein assay]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2010. No. 2. P. 68–71.

Arakelova E. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A., Shukolyukova E. P. Changes of phospholipid fatty acid composition in the digestive gland of the mollusc *Littorina saxatilis*, caused by trematode larvae. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 43, no. 4. P. 388–397. doi: 10.1134/S0022093007030035

Arakelova K. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A. Physiology and lipid metabolism of *Littorina saxatilis* infected with trematodes. *Dis. Aqua. Org.* 2004. Vol. 60, no. 3. P. 223–231. doi: 10.3354/dao060223

Arduini A., Peschechera A., Dottori S., Sciarroni A. F., Serafini F., Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies. *J. Lipid. Res.* 1996. Vol. 37. P. 684–689.

Beers R. F., Sizer I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biol. Chem.* 1952. Vol. 195, no. 1. P. 133–140.

Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: From pathogenesis to immunomodulation? *Parasitol. Today.* 1995. Vol. 11, no. 9. P. 327–334. doi: 10.1016/0169-4758(95)80185-5

Bergé J. P., Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. In: *Yves Le Gal, Roland Ulber*, eds. *Marine biotechnology I.* Berlin Heidelberg: Springer. 2005. P. 49–125. doi: 10.1007/b135782

- Bower S. M., McGladdery S. F., Price I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. *Ann. Rev. Fish Dis.* 1994. Vol. 4. P. 1–199. doi: 10.1016/0959-8030(94)90028-0
- Britten R. A., Green J. A. Changes in glutathione metabolism following exposure to alkylating-agents in human ovarian tumor-biopsies. *Br. J. Cancer.* Houndmills, Basingstoke, Hampshire, England RG216XS: Stockton Press. 1989. Vol. 60, no. 3. P. 497–497.
- Chance B., Maehly A. C. Assay of catalase and peroxidases. *Methods Enzymol.* 1955. Vol. 2. P. 764–775.
- Cheng T. C. Marine molluscs as hosts for symbioses, with a review of known parasites of commercially important species. *Advances in Marine Biology.* 1967. Vol. 5. P. 1–424.
- Cohn V. H., Lyle J. A Fluorometric assay for glutathione. *Anal. Biochem.* 1966. Vol. 14. P. 434–440.
- De Montaudouin X., Bazairi H., Culloty S. Effect of trematode parasites on cockle *Cerastoderma edule* growth and condition index: a transplant experiment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2012. Vol. 471. P. 111–121. doi: 10.3354/meps10033
- Engelbrecht F. M., Mari F., Anderson J. T. Cholesterol. Determination in serum. A rapid direction method. *South Afr. Med. J.* 1974. Vol. 48(7). P. 250–256.
- Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. P. 497–509.
- Fried B., Bradford J. D. Histochemical and thin-layer chromatographic analyses of neutral lipids in various host sites infected with *Leucochloridiomorpha constans* (Trematoda). *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1984. Vol. 78, no. 1. P. 175–177.
- Fried B., Lewis Jr. P. D., Beers K. Thin-layer chromatographic and histochemical analyses of neutral lipids in the intramolluscan stages of *Leucochloridium variae* (Digenea, Leucochloridiidae) and the snail host, *Succinea ovalis*. *J. Parasitol.* 1995. P. 112–114. doi: 10.2307/3284019
- Fried B., Rao K. S., Sherma J., Huffman J. E. (a) Fatty acid composition of *Echinostoma trivolvis* (Trematoda) rediae and adults and of the digestive gland-gonad complex of *Helisoma trivolvis* (Gastropoda) infected with the intramolluscan stages of this echinostome. *Parasitol. Res.* 1993. Vol. 79(6). P. 471–474. doi: 10.1007/BF00931585
- Fried B., Sherma J., Rao K. S., Ackman R. G. Fatty acid composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) experimentally infected with the intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda). *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1993. Vol. 104(3). P. 595–598. doi: 10.1016/0305-0491(93)90287-F
- Furlong S. T. Unique roles for lipids in *Schistosoma mansoni*. *Parasitol. Today.* 1991. Vol. 7, no. 2. P. 59–62. doi: 10.1016/0169-4758(91)90192-Q
- Galaktionov K. V. Parasites of common animals and animals of market value. *White Sea, Ecology and Environment.* Derzsvet, St. Petersburg. 2001. P. 95–110.
- Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M. J. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Mar. Environ. Res.* 2002. Vol. 54(3–5). P. 413–417. doi: 10.1016/S0141-1136(02)00164-2
- Ghosh D., Dey C., Misra K. K. Host-parasite relationship: fatty acid compositions of a trematode, *Paraphistomum cervi* and common Indian goat, *Capra hircus*. *J. Parasit. Dis.* 2005. Vol. 29. P. 119–123.
- Goodall C. P., Bender R. C., Broderick E. J., Bayne C. J. Constitutive differences in Cu/Zn superoxide dismutase mRNA levels and activity in hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) that are either susceptible or resistant to *Schistosoma mansoni* (Trematoda). *Mol. Biochem. Parasitol.* 2004. Vol. 137, no. 2. P. 321–328.
- Gornowicz D., Dmochowska K., Żbikowska E., Żółtowska K. Total antioxidative status and the activity of peroxidase and superoxide dismutase in the haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (L.) naturally infected with digenean trematodes. *J. Mollus. Stud.* 2013. Vol. 79(3). P. 225–229. doi: 10.1093/mollus/eyt019
- Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. P. 7130–7139.
- Hill T., Lewicki P. Statistics: Methods and Applications. *A comprehensive reference for science, industry, and data mining:* StatSoft Inc. 2007. 719 p.
- Hissin P. J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 74(1). P. 214–226.
- Hoskin G. P., Cheng T. C., Shapiro I. L. Fatty acid compositions of three lipid classes of *Himasthla quissetensis* rediae before and after starvation. *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1974. Vol. 47, no. 4. P. 821–830.
- Jensen K. T., Castro N. F., Bachelet G. Infectivity of *Himasthla* spp. (Trematoda) in cockle (*Cerastoderma edule*) spat. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 1999. Vol. 79, no. 2. P. 265–271.
- Kubata B. K., Duszenko M., Martin K. S., Urade Y. Molecular basis for prostaglandin production in hosts and parasites. *Trends Parasitol.* 2007. Vol. 23(7). P. 325–331. doi: 10.1016/j.pt.2007.05.005
- Kulatchkova V. G. Parasites of blue mussels – the aquaculture object in the White Sea. *Investigation of the blue mussel of the White Sea.* Leningrad: Zoological Institute, 1985. P. 88–97.
- Laruelle F., Molloy D. P., Roitman V. A. Histological analysis of trematodes in *Dreissena polymorpha*: their location, pathogenicity, and distinguishing morphological characteristics. *J. Parasitol.* 2002. Vol. 88, no. 5. P. 856–863. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[0856:HAOTID]2.0.CO;2
- Lauckner G. Diseases of mollusca: Bivalvia. In: Kinne O. (Ed.). *Diseases of Marine Animals.* Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Federal Republic of Germany. 1983. P. 477–962.
- Lunetta J. E., Vernberg W. B. Fatty acid composition of parasitized and nonparasitized tissue of the mud-flat snail, *Nassarius obsoletus* (Say). *Exp. Parasitol.* 1971. Vol. 30, no. 2. P. 244–248.
- Mahmoud A. H., Rizk M. Z. Free Radical Scavengers in Susceptible/Resistant *Biomphalaria alexandrina* Snails before and after Infection. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004. Vol. 138. P. 523–530. doi: 10.1016/j.cca.2004.08.012

Maria V. L., Bebianno M. J. Antioxidant and lipid peroxidation responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to mixtures of benzo (a) pyrene and copper. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2011. Vol. 154(1). P. 56–63. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.004

Milhon J. L., Thiboldeaux R. L., Glowac K., Tracy J. W. Schistosoma japonicum GSH S-transferase Sj26 is not the molecular target of praziquantel action. *Exp. Parasitol.* 1997. Vol. 87(3). P. 268–74. doi: 10.1006/expr.1997.4231

Mondal J., Dey C. Lipid and fatty acid compositions of a trematode, *Isoparorchis hypselobagri* Billet, 1898 (Digenea: Isoparorchidae) infecting swim bladder of Wallago attu in the district North 24-Parganas of West Bengal. *J. Parasit. Dis.* 2015. Vol. 39, no. 1. P. 67–72. doi: 10.1007/s12639-013-0283-8

Nare B., Smith J. M., Prichard R. K. Schistosoma mansoni: levels of antioxidants and resistance to oxidants increase during development. *Exp. Parasitol.* 1990. Vol. 70(4). P. 389–397. doi: 10.1016/0014-4894(90)90122-S

Nikolaev K. E., Sukhotin A. A., Galaktionov K. V. Infection patterns in White Sea blue mussels *Mytilus edulis* of different age and size with metacercariae of Himasthla elongata (Echinostomatidae) and Cercaria parvicaudata (Renicolidae). *Dis. Aqua. Org.* 2006. Vol. 71, no. 1. P. 51–58. doi: 10.3354/dao071051

Noble J. E., Bailey M. J. A. Quantitation of Protein. *Methods Enzymol.* 2009. Vol. 463. P. 73–95.

Poulin R. The selection of experimental doses and their importance to parasite success in metacercarial infection studies. *Parasitol.* 2010. Vol. 137, no. 5. P. 889–898. doi: 10.1017/S0031182009991624

Prohaska J. R., Ganther H. E. Glutathione peroxidase activity of glutathione-s-transferases purified from rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1976. Vol. 76(2). P. 437–45.

Regoli F., Giuliani M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Mar. Environ. Res.* 2014. Vol. 93. P. 106–17. doi: 10.1016/j.marenvres.2013.07.006

Smith J. D. Animal parasitology. Cambridge University Press, Cambridge. 1994.

Thompson S. N. Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species. *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem.* 1983. Vol. 74, no. 2. P. 183–211.

Tyutin A. V., Izvekova G. I. Infection of mollusks and fish by the trematode Apophallus muehlingi (Jagerskiold, 1898) and its interrelations with intermediate hosts. *Inland Water Biology.* 2013. Vol. 6, no. 1. P. 52–56. doi: 10.1134/S1995082912030157

Vance D. E., Vance J. E., eds. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. Amsterdam: Elsevier, 2002. 610 p.

Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M. J., Valavanidis A. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Mar. Pollut. Bull.* 2007. Vol. 54(9). P. 1361–1371. doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.05.018

Vorontsova Y. A., Yurlova N. I., Vodyanitskaya S. N., Glupov V. V. Activity of detoxifying and antioxidant enzymes in the pond snail Lymnaea stagnalis (Gastropoda: Pulmonata) during invasion by Trematode Cercariae. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2010. Vol. 46(1). P. 28–34. doi: 10.1134/S0022093010010032

Wegeberg A. M. Digene trematodes (Echinostomatidae) infectionsokologi og effekt pa Cerastoderma edule. *University of Aarhus.* 1998.

Werding B. Morphologie, Entwicklung und Ökologie digener Trematoden-Larven der Strandschnecke Littorina littorea. *Mar. Biol.* 1969. Vol. 3, no. 4. P. 306–333.

Żbikowska E. One snail-three Digenea species, different strategies in host-parasite interaction *Animal Biology.* 2011. Vol. 61, no. 1. P. 1–19. doi: 10.1163/157075511X554383

Zelck U. E., Janje B., Schneider O. Superoxide dismutase expression and H₂O₂ production by hemocytes of the trematode intermediate host Lymnaea stagnalis (Gastropoda). *Dev. Comp. Immunol.* 2005. Vol. 29, no. 4. P. 305–314. doi: 10.1016/j.dci.2004.09.002

Received November 09, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фокина Наталья Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр РАН» ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: fokinann@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Суховская Ирина Викторовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр РАН» ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

CONTRIBUTORS:

Fokina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: fokinann@gmail.com
tel.: (8142) 769810

Sukhovskaya, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sukhovskaya@inbox.ru
tel.: (8142) 769810

Руоколайнен Татьяна Рудольфовна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: truok@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Кочнева Альбина Александровна

аспирант
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: kochnevaalbina@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Бахмет Игорь Николаевич

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН, Федеральный
исследовательский центр «Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: igor.bakhmet@gmail.com
тел.: (8142) 769810

Николаев Кирилл Евгеньевич

научный сотрудник, к. б. н.
Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, Россия, 199034
эл. почта: kirill.nicolaev@gmail.com
тел.: (812) 3280311

Левакин Иван Андреевич

научный сотрудник, к. б. н.
Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, Россия, 199034
эл. почта: levakin2@gmail.com
тел.: (812) 3280311

Ruokolainen, Tatiana

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: truok@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769810

Kochneva, Albina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: kochnevaalbina@gmail.com
tel.: (8142) 769810

Bakhmet, Igor

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: igor.bakhmet@gmail.com
tel.: (8142) 769810

Nikolaev, Kirill

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences
1 Universitetskaya Nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: kirill.nicolaev@gmail.com
tel.: (812) 3280311

Levakin, Ivan

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences
1 Universitetskaya Nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: levakin2@gmail.com
tel.: (812) 3280311