

Ленинградский ордена Ленина и ордена Трудового
Красного Знамени государственный университет
им. А.А.Жданова

На правах рукописи

СМИРНОВ Лев Павлович

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПИДНОГО И БЕЛКОВОГО
СОСТАВОВ НЕКОТОРЫХ ЦЕСТОД, ПАРАЗИТИРУЮЩИХ У
ХОЛОДНОКРОВНОГО И ТЕПЛОКРОВНОГО ПОЗВОНОЧНЫХ

03.00.04 - биологическая химия

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ленинград - 1981

Работа выполнена в лаборатории биохимии Института биологии
Карельского филиала АН СССР

Научный руководитель: ст. науч. сотр., к.б.н. В.С. Сидоров

Официальные оппоненты: д.б.н. О.А. Шишова-Касагоцкина
доцент, к.б.н. А.А. Мальберг

Ведущее учреждение: Институт эволюционной физиологии и
биохимии им. И.М. Сеченова

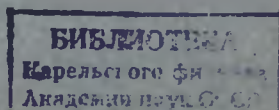
Защита диссертация состоялась 18 марта 1981г.
в 16⁰⁰ час на заседании специализированного совета
К-0.63.57.09 по присуждению ученой степени кандидата биоло-
гических наук в Ленинградском государственном университете
им. А.А. Иданова

Адрес: 199164, Ленинград, Университетская набережная, 7/9,
аудитория

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке университета.

Автореферат разослан 9 февраля 1981г.

Ученый секретарь специализированного совета
Павелович Вячеслав Константинович



Актуальность проблемы. Еще в 1946 г. академик К.И.Скрябин писал о том, что без детализированных знаний биохимических особенностей того или иного гельминта, без понимания протекающих у паразитов физиологических процессов, наука не сможет подобрать ключа к разгадке механизмов действия антгельминтных препаратов и к отысканию новых терапевтических средств, обладающих специфической дегельминтационной эффективностью. Эта проблема остается актуальной и в настоящее время. В постановлении XI Совещания по паразитологическим проблемам (Ленинград, 1974) про-указано на необходимость расширять исследования по биохимии гельминтов на разных фазах их жизненных циклов, "...что важно для сознательного управления их жизненными процессами без нанесения вреда организму хозяина (стр.22)".

Все без исключения живые организмы, в том числе и гельминты, испытывают на себе влияние различных факторов среды обитания, среди которых температура является одним из главных, поэтому изучение вопроса о влиянии температурных условий на жизнедеятельность гельминтов от холоднокровных и теплокровных, позвоночных, представляет несомненный интерес, поскольку адаптация животных к различным температурным режимам является одной из важнейших приспособительных реакций у организмов, обитающих в различных экологических условиях (Шилова-Касаточкина, Леутская, 1979).

Цель работы. Изучение зависимости жирнокислотного и белкового составов цестод *Eubothrium crassum* и *Diphyllobothrium dendriticum*, паразитирующих в холоднокровных и теплокровных хозяевах, от условий обитания, главным образом, от температуры их хозяев.

Основные задачи настоящей работы заключались в следу-

дем: 1. провести качественный и количественный анализ жирных кислот тканевых липидов гельминтов и печени, мышц, внутреннего жира и хитуса хозяев - палии(рыба) и клуши(чайка); 2. исследовать белковый состав *E. stassius* и *D. dendriticus* и некоторых органов их хозяев; 3. выделить лизосомы из указанных гельминтов и выявить различия между ними по жирнокислотному и белковому спектрам.

Научная новизна. Сравнительное изучение жирнокислотного и белкового составов цестоды *E. stassius* от холоднокровного позвоночного, *D. dendriticus* от теплокровного позвоночного, тканей хозяев, выделение лизосом из этих цестод и исследование жирнокислотного и белкового составов их мембран проведено впервые. Полученные результаты свидетельствуют о значительных различиях в составах жирных кислот и белков между паразитами, являющихся следствием большой разницы в температурах внутренних сред их хозяев.

Практическое значение. Сравнительное изучение жирнокислотного и белкового составов гельминтов холоднокровных и теплокровных позвоночных - один из этапов планомерного изучения биохимических особенностей гельминтов, проводимого в лаборатории биохимии Института биологии Карельского филиала АН СССР. Результаты исследований позволяют определить направление поиска ключевых точек в обмене паразита, специфичных только для него. В частности, общий комплекс белков в организме гельминтов удалось разделить на две группы: 1. общие для паразита и хозяина и связанные с механизмами адаптации гельминта к хозяину в его температуре; 2. белки, отличающиеся по молекулярным массам и электрофоретической подвижности от белков хозяина. Именно с белками второй группы связаны специфические для паразита точки обмена. Детальное изучение

белков этой группы даст возможность начать целенаправленный поиск новых химиотерапевтических средств борьбы, действующих только на гельминта и не наносящих вреда хозяину.

Апробация работы. Результаты исследований были доложены и обсуждены на III Всесоюзной конференции: "Экологическая физиология рыб" (Киев, 1976), на III Всесоюзной конференции по биохимии мышц (Ленинград, 1978), на IV Всесоюзном биохимическом съезде (Ленинград, 1979).

Структура и объем. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, состоящей из 5 глав, обсуждения результатов, выводов и приложения. Работа изложена на 208 страницах машинописного текста, включающих 29 таблиц, 24 рисунка, библиографию из 75 отечественных и 178 зарубежных названий. В приложение диссертации вошло описание метода тонкослойной хроматографии и результатов изучения суммарных липидов и фосфолипидов исследованных гельминтов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 4 статьи и 6 тезисов докладов.

Объектом исследования служили цестоды *E. crassum* из пилорических придатков лососевых рыб и *D. dendriticum* из тонкого кишечника чаек, а также печень, мышцы, внутренний жир и хвост хозяев - палии (*Salvelinus leuiscini*) и клуши (*Larus fuscus*). Кроме того, жирнокислотный состав был изучен у цестод *Triaxophorus nodulosus* из щуки и плероцеркоиды "D" (личиночная стадия лентецов р. *Diphyllbothrium*) из печени колошки трехиглой, нематоды *Toxascaris leonila* из песцов и скребня *Metacchinorhynchus salmonis* из сигов.

Сбор материала производили в Онежском озере и Масложере (Медвежьегорского района КАССР) в течение 1972 - 1979 г.г.

Фиксация материала проводили кипящим 80%-ным этанолом, со-

держащим 0,001% изохла(2,6-ди-трет-бутил-п-крезола) в качестве антиоксиданта.

Для изучения белкового состава и выделения лизосом использовали только живых гельминтов, которых доставляли в сосудах Драра, не вынимая из кишечника, или привозили живых зараженных животных.

Методы исследований.

Экстракция липидов. Липиды извлекали из фиксированного материала по методу Фолча (Folch et al., 1957) смесью растворителей хлороформ-метанол(2:1 по объему).

Липнокислотный состав исследуемых образцов изучали методом газо-жидкостной хроматографии. Метиловые эфиры жирных кислот, полученные прямой переэтерификацией в метаноле (Цыганов, 1971), разделяли на хроматографе "Пай" (Англия) при 197° в стеклянных колонках длиной 200 см на полярной фазе - 10%-ный полиэтиленгликольадипинат на диатомите С.

Получение белкового экстракта из гельминтов и тканей их хозяев. Навески свежего материала гомогенизировали с равным объемом буферного раствора (трис-НСL, pH 7,2-7,4), затем центрифугировали 1 час при 50 000 г и 30 мин при 150 000 г. Для анализа белковых смесей использовали надосадочную жидкость.

Фракционный состав белковых экстрактов определяли методом гель-хроматографии на стандартной аппаратуре шведских фирм "Фармасия" и "ЛМБ", модифицированным применительно к нашим условиям (Смирнов, 1977; Смирнов, Сидорова, 1978). Молекулярные массы белковых фракций, разделенных на сефадексе G-100, высчитывали с помощью коэффициента K_{av} (Laurent, Killander, 1964), а относительное содержание белка во фракциях по площади под пиком на хроматограммах (Stromer, Müller, 1951).

Диск-электрофорез проводили по Дэвису (Davis, 1964; May-

рер, 1971). Подвижность белковых зон определяли с помощью микроскопа МЭС-1 (Смирнов, Немова, 1977).

Лизосомы из гельминтов, после гомогенизации образцов в забуференном растворе сахарозы (0,25M, pH 7,2-7,4), выделяли дифференциальным центрифугированием по де Дюву (de Duve et al., 1955) и в ступенчатом градиенте плотности сахарозы (100 000 г, 120 мин). Фракцию легких лизосом ($\rho < 1,13$) использовали для получения мембран и изучения их жирнокислотного и белкового составов.

Жирнокислотный состав мембран определяли тем же способом, что и жирные кислоты тотального липидного экстракта.

Белковый состав мембран исследовали с помощью метода электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (Shapiro et al., 1967).

Статистическую обработку полученных результатов выполняли общепринятым способом (Кокунин, 1975).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

I. Жирные кислоты гельминтов и их хозяев

Сравнительное изучение жирнокислотных составов паразитов рыб и теплокровных позвоночных (табл. I) показало, что количественное распределение жирных кислот у гельминтов рыб по многим показателям отличается от такового паразитов птиц и млекопитающих. Так, иодные числа, определенные по содержанию ненасыщенных жирных кислот, у "рыбных" гельминтов колебались от 210 до 240, а у дифиллоботриумов (из чаек) и токсаскарид (из песцов) составили 180 и 140 соответственно. Содержание пента- и гексаеновых кислот у гельминтов рыб достигало 31-36%, в то время как у гельминтов теплокровных не превысило 20%. В липидах паразитов холоднокровных обнаружено от 37 до 39% кислот семейства линоленовой кислоты (18:3 ω 3), что при-

Таблица I

Жирные кислоты гельминтов от холоднокровных и теплокровных хозяев (в % от общей суммы кислот)

Жирные кислоты	От холоднокровных хозяев			От теплокровных хозяев	
	E. crassum	T. nodulosus	M. salmonis	T. leonina	D. dendriticum
Насыщенные	24,1 ± 1,8	28,0 ± 0,9	19,6 ± 1,6	26,3 ± 1,1	30,2 ± 2,3
Моноеновые	18,5 ± 0,6	20,3 ± 0,8	27,2 ± 2,2	41,8 ± 0,7	24,4 ± 1,4
Диеновые	3,8 ± 0,2	2,7 ± 0,1	6,3 ± 0,4	9,5 ± 0,8	9,3 ± 0,2
Триеновые	3,8 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	2,9 ± 0,5	2,2 ± 0,1
Тетраеновые	13,2 ± 0,6	10,9 ± 0,5	13,5 ± 1,9	7,3 ± 0,6	16,8 ± 0,5
Пента- и гексаеновые	36,2 ± 1,2	36,0 ± 1,1	31,4 ± 2,0	12,2 ± 0,5	18,9 ± 0,7
Σω3	38,9 ± 1,5	37,4 ± 1,3	37,8 ± 3,4	15,7 ± 1,0	19,5 ± 0,9
Σω6	10,8 ± 0,5	13,2 ± 0,5	14,7 ± 0,9	14,8 ± 1,3	21,7 ± 0,6
Σω3/Σω6	3,6	2,8	2,6	1,1	0,9
Иодные числа*	230,0	222,6	207,7	140,4	184,2

* - вычислены по относительному содержанию ненасыщенных жирных кислот

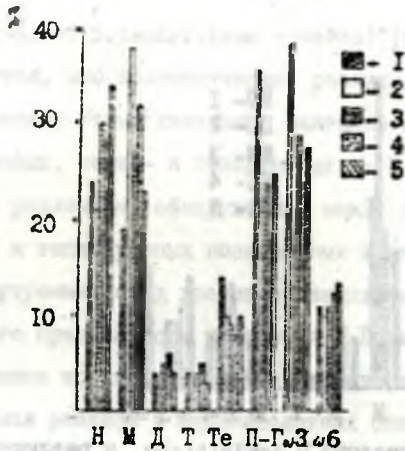


Рис. 1. Жирные кислоты *E. stassardi* и различных органов палии (в % от общего содержания жирных кислот)

1 - гельминт, 2 - печень, 3 - мышцы, 4 - внутренний жир, 5 - химус, Н - насыщенные, М - моноеновые, Д - диеновые, Т - триеновые, Те - тетраеновые, П-Г - пента- и гексаеновые, ω3 и ω6 - кислоты с двойной связью в 3 и 6 положениях, считая от метильного конца жирной кислоты.

близительно в 2 раза превышает уровень этих кислот в липидах гельминтов (чаек и песцов. Это согласуется с закономерностью, показанной для зоопланктонных организмов (Акулин и др., 1975) и выражающейся в том, что в липидах эктотермных животных, обитающих в более холодных условиях, кислоты семейства линоленовой кислоты (ω3) преобладают над кислотами линолевого ряда (18:2 ω6). Поэтому отношение суммы кислот ω3 семейства к сумме кислот ω6 семейства у гельминтов рыб в 2,4 - 4 раза превышало такое у *D. dendriticum* и *T. leonina*.

Если сравнить жирнокислотные спектры систем "паразит-холоднокровный хозяин (*E. stassardi* - палия)" и "паразит-тепло-

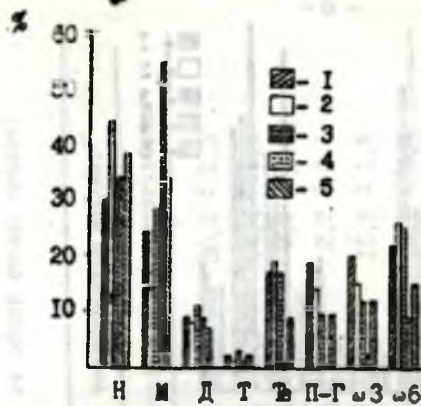


Рис. 2. Жирные кислоты *D.dendriticum* и различных органов
клуши (в % от общего содержания жирных кислот)

1 - гельминт, 2 - печень, 3 - мышцы, 4 - внутренний жир,
5 - хитин. Буквенные сокращения те же, что и на рис. 1.

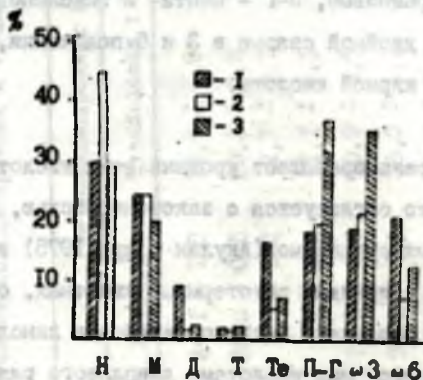


Рис. 3. Жирные кислоты плероцеркоида "D", *D.dendriticum*
и печени клошши (в % от общего содержания жирных
кислот)

1 - плероцеркоид "D", 2 - *D.dendriticum*, 3 - печень клошши.
Буквенные сокращения те же, что и на рис. 1.

кровный хозяин (*D.dendriticum* - чайка)" (рис. I и 2), то обнаруживается, что количественные различия в жирнокислотных спектрах между этими системами наиболее существенны по уровню насыщенных, пента- и гексаеновых, $\omega 3$ кислот, т.е. соответствуют различиям, обнаруженным между гельминтами холоднокровных и теплокровных позвоночных и определяются температурами внутренних сред хозяев исследованных паразитов. Однако из этого правила есть исключения. В системе "плероцеркоид "D" - колюшка трехглаз (холоднокровная система)" обнаружена значительная разница в жирнокислотных спектрах паразита и печени колюшки, в которой паразит локализован (рис.3). Как видно из диаграммы, жирнокислотный состав плероцеркоида проявлял двойственный характер. По уровню насыщенных, моноеновых, пента- и гексаеновых и $\omega 3$ кислот личинка сходна со взрослой формой *D.dendriticum*, а по содержанию ди-, тетраеновых и $\omega 6$ кислот - с печенью колюшки.

2. Белки гельминтов и их хозяев.

Цитоплазматические белковые экстракты *E.scaevum* при пропускании через колонку с сефадексом Г-100 разделились на 6 фракций, белки печени палии - на 6, мышц - на 5. В экстрактах из *D.dendriticum* и печени клуши выявлено 7 фракций, в мышцах чайки - 5. Профили хроматограмм гельминтов проявили наибольшее сходство с хроматограммами печени хозяев и наименьшее - мышц. Белковый состав паразитов по молекулярным массам фракций проявлял тенденцию к сходству с таковым печени и мышц хозяев (с печенью хозяина - I, II, V, VI фракции у *E.scaevum*, I, IV, V и VIII - у *D.dendriticum*; с мышцами - I, III, IV фракции у зуботриумов, I, III, VII - у лентецов). Необходимо отметить, что самые низкомолекулярные фракции VII и VIII, характерные для дифиллоботриумов и пече-

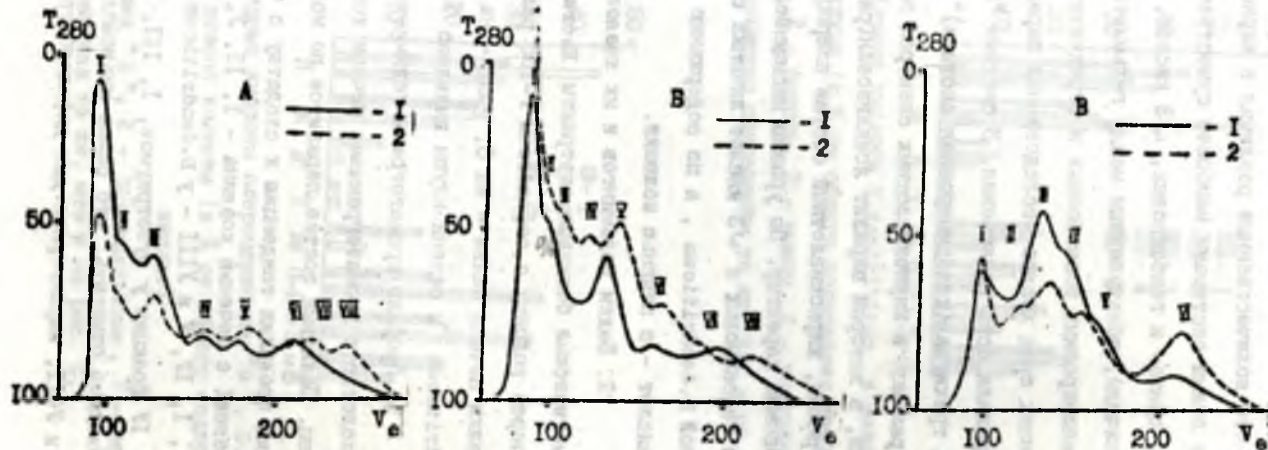


Рис. 4. Хроматограммы белков *E. crassus*, *D. dendriticum*, печени и мышц палии и клуши
 А - хроматограммы белков гельминтов: I - *E. crassus*, 2 - *D. dendriticum*; Б - печени: I - палии,
 2 - клуши; В - мышц: I - палии, 2 - клуши; T_{280} - пропускание в % при 280 нм; v_e - объемы выхода
 фракций (в мл).

Таблица 2

Молекулярные массы белковых фракций цестод *E. scabra*, *D. dendriticum*, печени и мышц палии и клуши
($M \pm m \times 10^3$)

Вид гельминта и:		I*	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
ткани хозяина :									
<u>ХОЛОДНОКРОВНАЯ СИСТЕМА</u>									
<i>E. scabra</i>	и к клетке		91,8±1,0	72,3±2,5	53,6±0,6	38,5±1,5	25,1±1,3	---	---
Печень палии			96,0±3,7	64,4±0,7	---	45,1±0,5	27,5±0,5	---	---
Мышцы палии			---	69,8±0,8	59,4±1,2	46,0±0,9	---	21,3±0,6	---
<u>ТЕПЛОКРОВНАЯ СИСТЕМА</u>									
<i>D. dendriticum</i>	и к клетке		95,9±1,3	71,7±1,0	51,6±1,5	38,1±1,6	---	19,6±1,8	13,7±1,2
Печень клуши			---	80,4±1,0	57,6±0,7	42,2±0,7	25,7±0,8	16,8±0,8	10,1±0,4
Мышцы клуши			---	77,6±1,0	60,3±1,0	46,8±0,8	---	19,5±0,5	---

* - нумерация фракций соответствует таковой на рис. 4.

ни птицы ("теплокровная" система "паразит-хозяин"), совершенно отсутствуют у зуботриид и в печени рыбы ("холоднокровная" система "паразит-хозяин") (рис. 4, табл. 2).

Для сравнительного диск-электрофоретического анализа использовали экстракты из гельминтов и печени хозяев. Белки *B. stassum* разделялись на 20 фракций, печени палии - на 22. Из них 13 зон были сходны по электрофоретической подвижности. Коэффициент совпадения белковых полос (отношение числа полос с одинаковой подвижностью к общему числу выявленных белковых зон на электрофореграмме) у зуботриумов составил 0,65, а в экстрактах из печени - 0,59. Десять полос, имевших одинаковую подвижность, были сходны по интенсивности окрашивания, хотя ширина полос была одинаковой не для всех фракций.

Белковый экстракт из *D. dendriticum* разделялся на 27 фракций, печени клуши - на 26. Электрофореграммы белков лентецов и печени птицы характеризовались меньшим сходством, чем у зуботриид и палии. Коэффициент совпадения зон у *D. dendriticum* и печени клуши составил 0,44 и 0,46 соответственно. Тем не менее, если сравнить коэффициенты сходства между гельминтами и их хозяевами, между самими гельминтами и между гельминтами и позвоночными, не являющимися их хозяевами (табл. 3), то хорошо видно, что наибольшее сходство гельминт проявляет именно со своим хозяином.

Сходство между гельминтами и хозяевами обнаруживается и в характере распределения белковых зон по длине геля: на электрофореграммах белков лентецов и печени клуши большее число полос сконцентрировано в анодной части геля (I4 и I0), чем у зуботриид и палии (6 и 7).

3. Лизосомы гельминтов.

А.А.Покровский и В.А.Тутельян (1976) указывали, что при

Таблица 3

Коэффициенты совпадения полос у гельминтов и их хозяев

	:палия	:клуба	: E.crassum	: D.dendriticum
E.crassum	0,65	0,60	1,00	0,50
D.dendriticum	0,41	0,44	0,37	1,00

анализе химического состава мембран лизосом необходимо учитывать соотношение фракций первичных и вторичных лизосом, так как только первичные лизосомы, по современным представлениям, имеют единый источник происхождения - мембраны аппарата Гольджи. При изучении жирнокислотного и белкового составов мембран лизосом цветод была использована фракция, имевшая плавающую плотность менее 1,13, которая, как считается, характерна именно для первичных лизосом.

Анализ жирнокислотных составов мембран лизосом E.crassum и D.dendriticum показал существенные количественные различия между ними по группам кислот (табл.4), косвенным образом характеризующим температурные условия обитания гельминтов (насыщенные, моноеновые, пента- и гексаеновые, $\omega 3$ кислоты). В частности, для мембран лизосом зуботриид (от холоднокровного хозяина) отмечена большая ненасыщенность жирнокислотного спектра по сравнению с дифиллоботриумами (от теплокровного хозяина).

Белки мембран лизосом исследованных гельминтов разделялись на 23 фракции. Из них 18 фракций имели сходные молекулярные массы у обоих видов паразитов. Белки с молекулярными массами 166 000, 152 000, 93 000 и 32 000 дальтон специфичны для мембран лизосом зуботриумов, а белки с молекулярными массами 107 000, 84 000, 56 000, 46 000 и 9 600 дальтон -

Таблица 4

Распределение жирных кислот в мембранах первичных лизосом *E.crassum* и *D.dendriticum* (в % от общей суммы жирных кислот)

Жирные кислоты	: <i>E.crassum</i>	: <i>D.dendriticum</i>
Насыщенные	26,6 ± 1,8	35,6 ± 2,3
Моноеновые	16,7 ± 0,9	35,5 ± 2,2
Диеновые	3,6 ± 0,2	5,9 ± 0,3
Триеновые	3,0 ± 0,3	2,6 ± 0,3
Тетраеновые	12,0 ± 0,4	7,6 ± 0,6
Пента- и гексаеновые	38,4 ± 1,4	13,1 ± 1,1
$\Sigma \omega 3$	42,3 ± 1,5	17,7 ± 2,0
$\Sigma \omega 6$	13,9 ± 0,7	11,3 ± 0,5
$\Sigma \omega 3 / \Sigma \omega 6$	3,0	1,6
Исходные числа [*]	220,1	131,4

^{*} - вычислены по относительному содержанию ненасыщенных жирных кислот

для мембран лизосом ленточцев.

Обсуждение результатов.

Установлено, что с изменением температуры меняется ненасыщенность жирнокислотных радикалов липидов эктостермных животных, причем понижение температуры увеличивает ненасыщенность жирнокислотного состава. Эта закономерность выявлена у самых разнообразных организмов - от сине-зеленых водорослей (Нолсон et al., 1964) до рыб (Шатуновский, 1970; Помазанская и др., 1975, 1979; Крепс, 1979; Lewis, 1962 и др.). Характерна она и для гельминтов. Различия по степени ненасыщенности липидов, по уровню насыщенных, моноеновых, пента- и гексаеновых, $\omega 3$ и $\omega 6$ кислот, обнаруженные между гельминтами холоднокровных

и теплокровных позвоночных, отражают специфику жирнокислотных составов паразитов, обусловленную, главным образом, термическим режимом внутренних сред хозяев. Пищевой фактор играет меньшую роль в формировании жирнокислотного статуса гельминтов, так как цестоды имеют механизмы контроля состава жирных кислот (Buteau et al., 1969; Castro, Fairbairn, 1969), связанные с избирательным поглощением их из химуса (Lumsden, Harrington, 1967) или удлинением углеводородных цепей жирных кислот, начиная с $C_{16}:0$ (Beames, Fischer, 1964; Jacobsen, Fairbairn, 1967 и др.), поэтому жирнокислотные спектры гельминтов не идентичны таковым химуса их хозяев. Результаты сравнительного изучения пула жирных кислот у *E. stassii*, *D. dendriticum* и в различных органах и химусе палии и клуши подтверждают эти выводы.

Исследование жирнокислотного состава плероцеркоида "D" показало, что по количественному распределению жирных кислот личинка сходна как с печенью колюшки, так и со взрослой формой *D. dendriticum*, паразитирующей в чайке. Такая двойственность связана, вероятно, с участием в цикле развития лентецов экто- и эндотермных хозяев. Переход плероцеркоида из условий с низкой температурой (рыба - $10-12^{\circ}$) в условия с высокой температурой (птица - 40°), где плероцеркоид вырастает до взрослой формы, осуществляется в считанные минуты. Поэтому его жирнокислотный состав должен проявлять двойственный характер: обеспечивать нормальную жизнедеятельность в рыбе и быть генетически predeterminedным ("преадаптированным") к жизни в теплокровном хозяине.

Что касается белковых спектров, то при биохимической адаптации паразита к хозяину антигенная структура белков паразита становится сходной с таковой хозяина (Damian, 1964; Со-

прунсов и др., 1969; Сидоров и др., 1972). Это позволяет гелминтам инвазировать различные органы хозяев, не стимулируя адекватный уровень иммунного ответа. Между белковыми спектрами цестоды *E. stassum* и тканей палии обнаружено больше сходства по молекулярным массам и по электрофоретической подвижности, чем между *D. dendriticum* и тканями клуши, что, вероятно, связано с возрастом этих систем "паразит-хозяин". Зуботрииды являются одними из наиболее древних представителей отряда Pseudophyllidea и в своей эволюции сопряжены с предками первых костистых рыб (Протасова, 1977), а система "лентец-чайка" эволюционно более молода, поэтому биохимическая адаптация дифиллоботриумов к хозяину менее глубока, чем у зуботриид и палии. Сравнительный анализ экстрактов *E. stassum* и *D. dendriticum* показал, что при высокой степени сходства по молекулярным массам, существуют различия, такие как отсутствие в экстрактах из зуботриид низкомолекулярных фракций 19 500 и 13 700 дальтон. Эти же различия выявлены между белковыми экстрактами из печени палии и клуши. Они согласуются с закономерностью (Благовещенский, 1966; Шульман, Куликова, 1966; Груздев и др., 1972), состоящей в том, что по мере эволюционного усложнения организмов возрастает доля низкомолекулярных белков. Однако вполне вероятно, что появление в системе "лентец-чайка" низкомолекулярных фракций, отсутствующих в системе "зуботриум-палия" можно связать и с высокой температурой тела птицы и адаптацией к ней гелминта, поскольку столь существенные различия обнаружены между паразитами, являющимися представителями одного отряда. Вероятность такого факта подтверждают данные приведенные в монографии В.Я. Александрова (1975).

Выявленная с помощью диск-электрофореза более высокая

концентрация быстро мигрирующих компонентов в анодной части геля у дифиллоботриумов(14) по сравнению с зуботриумами(6), возможно, так же как увеличение доли низкомолекулярных белков, связана с адаптацией дифиллоботриид к высокой температуре своих хозяев. При сравнении систем "паразит-хозяин" (табл.5) видно, что для "тепнокровной" системы "дифиллоботриум-чайка" характерно большее число быстро мигрирующих компонентов, чем для "холоднокровной" системы "зуботриум-палия". На эффект подобного рода обращали внимание Болдуин и Хочачка (Baldwin, Hochachka, 1970), обнаружившие, что при акклимации форели к теплу, в мозгу рыбы появлялся изофермент ацетилхолинэстеразы с высокой электрофоретической подвижностью.

Адаптация гельминтов к хозяевам обнаруживается на всех уровнях организации паразита, включая клеточный и субклеточный уровни. Сравнение жирнокислотных спектров мембран первичных лизосом *E. crassum* и *D. dendriticum* показало, что количественные соотношения между кислотами коррелируют с температурами сред обитания. Если содержание жирных кислот в тотальном экстракте и мембранах лизосом у зуботриумов очень близки, то у лентецов жирнокислотный состав мембран более насыщен, чем тотальный экстракт, т.е. соответствует температуре хозяев. Увеличение доли ненасыщенных жирных кислот в тотальном липидном экстракте лентецов по сравнению с мембранными липидами, видимо, связано с преимущественным накоплением их в яйцах гельминта, вырабатываемых в колоссальных количествах и "преадаптированных" к развитию в условиях с более низкими температурами.

Таблица 5

Относительная электрофоретическая подвижность обидх белковых зон "холоднокровной" и "теплокровной" систем "паразит-хозяин"

холоднокровная зуботриум - палия	:	теплокровная дифиллоботриум - клуша
---		0,07 - 0,08
0,10 - 0,11		---
0,16 - 0,17		0,16 - 0,17
0,20 - 0,21		---
0,23		---
0,26 - 0,27		---
0,30		---
0,35		0,33
0,39 - 0,40		---
---		0,42 - 0,43
---		0,48
---		0,51 - 0,52
0,52 - 0,53		---
---		0,55
0,58		---
---		0,60
0,62 - 0,63		---
---		0,64 - 0,65
---		0,67 - 0,68
0,68 - 0,69		---
---		0,73
---		0,75

Выводы.

I. Жирнокислотный состав *E. stegnum*, печени, мышц, внутреннего жира и химуса палии по степени ненасыщенности и по соотношению между жирными кислотами отличался от такового *D. dendriticum*, органов и тканей клуши, что связано, главным

образом, с большими температурными различиями внутренних сред рыбы (палия) и птицы (клуша). Этот вывод подтверждается также сравнением жирнокислотных составов гельминтов холоднокровных позвоночных (*E. scabum*, *T. nodulosus*, *M. salmonis*) с таковыми гельминтов теплокровных позвоночных (*D. dendriticum*, *T. leopina*). Обнаружено сходство в количественных наборах жирных кислот у гельминтов холоднокровных между собой и их существенное отличие по насыщенным, моноеновым, пента- и гексаеновым, $\omega 3$ и $\omega 6$ кислотам от жирнокислотных спектров гельминтов теплокровных позвоночных.

2. По количественному распределению жирных кислот в липидах плероцеркоид "D", личиночная форма лентецов, проявил сходство, с одной стороны, с жирнокислотным спектром печени колюшки трехиглой (органа локализации плероцеркоида), а с другой, со взрослой формой *D. dendriticum*, что свидетельствует о "преадаптации" жирнокислотного состава плероцеркоида к температуре будущего хозяина (птицы), в котором личинка превращается во взрослую форму.

3. Фракционный белковый состав гельминтов, определяемый методом гель-хроматографии, был больше сходен с таковым печени хозяев, чем мышц. У *D. dendriticum* и в печени клуши найдены две низкомолекулярные фракции, отсутствовавшие у *E. scabum* и в печени палии, что может свидетельствовать об увеличении доли низкомолекулярных белков в организме в зависимости от температуры внутренней среды.

4. Количество белковых компонентов, выявленных методом диск-электрофореза, в цитоплазматических экстрактах из зуботриид и печени палии, имеющих одинаковую электрофоретическую подвижность, превышало таковое в экстрактах из лентецов и печени клуши, что, вероятно, связано с тем, что система "зубот-

риум-палия" эволюционно старше системы "дифиллоботриум-клуша". Число быстро мигрирующих компонентов в "холоднокровной" системе "зуботриум-палия" было меньше, чем в "теплокровной" системе "дифиллоботриум-клуша", что, вероятно, является отражением существенных различий в температурных режимах систем.

5. Жирнокислотный состав мембран лизосом зуботриумов и дифиллоботриумов соответствовал температурам, свойственным их хозяевам. Количественное распределение жирных кислот в мембранах *D.dendriticum* в большей степени отвечало температуре клуши по сравнению с содержанием кислот в тотальном липидном экстракте, что подтверждает мысль о "преадаптации" жирнокислотного состава последующих стадий у лентецов, цикл развития которых связан со сменой позвоночных, резко различающихся по температурам внутренних сред, к термическому режиму будущего хозяина.

6. В мембранах лизосом *E.crassum* и *D.dendriticum* с помощью метода электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия выявлено по 23 белковых компонента, из которых 18 зон имели сходные молекулярные массы, остальные 5 зон были индивидуальны для каждого из исследованных видов гельминтов.

Основные материалы диссертации изложены в следующих работах:

1. Смирнов Л.П. Разделение белков различных органов рыб методом хроматографии в декстрановых гелях типа "Сефадекс". - В кн.: IX сессия Ученого совета по проблеме "Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского севера", посвященная 250-летию Академии Наук СССР, Петрозаводск, 1974, с.151-153.

2. Смирнов Л.П., Немова Н.Н. К вопросу о методах изуче-

ния белкового состава печени некоторых рыб Карелии.- В кн.: Экологическая физиология рыб, ч. I. Киев, 1976, с. II4.

3. Смирнов Л.П. Гель-хроматография белков печени и мышц некоторых позвоночных животных.- В кн.: Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск, 1977, с. 92-99.

4. Смирнов Л.П., Сидоров В.С. Сравнительное изучение белковых составов цестоды *Eubothrium crassum* и некоторых органов ее хозяина - палии (*Salvelinus lepechini* Smelin) методом гель-хроматографии.- В кн.: Экологическая биохимия животных. Петрозаводск, 1978, с. 53-60.

5. Смирнов Л.П. Изучение водорастворимых белков мышечной ткани некоторых позвоночных животных методами гель-хроматографии и диск-электрофореза.- В кн.: III Всесоюзная конференция по биохимии мышц. Ленинград, 1978, с. 163.

6. Смирнов Л.П., Богдан В.В. Гель-хроматография белков печени некоторых рыб, птиц и млекопитающих.- В кн.: Эволюционная биохимия и происхождение жизни. Ереван, 1978, с. 95.

7. Смирнов Л.П., Сидоров В.С. Жирнокислотный состав цестод *Eubothrium crassum* и *Diphyllobothrium dendriticum*. - Паразитология, 1979, т. 13, №5, с. 522-529.

8. Сидоров В.С., Смирнов Л.П., Богдан В.В. Жирнокислотный состав некоторых органов палии и щуки.- В кн.: Экологическая физиология и биохимия рыб. Астрахань, 1979, с. 233-234.

9. Сидоров В.С., Смирнов Л.П. Изучение жирнокислотного состава некоторых гельминтов.- В кн.: IV Всесоюзный биохимический съезд, т. I. Ленинград, 1979, с. 85-86.

10. Сидоров В.С., Смирнов Л.П. Жирнокислотный состав некоторых гельминтов холоднокровных и теплокровных позвоночных.- Ж. эвол. биохимии и физиологии, 1980, т. 16, №6, с. 551-555.

Филип