

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 577.328.591.69-7-51

БЕЛКОВЫЙ ПРОФИЛЬ СРЕДЫ ИНКУБАЦИИ И ЭКСТРАКТА ЦЕСТОД ИЗ КИШЕЧНИКОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РЫБ

© 2023 г. Т. В. Фролова^а, *, Г. И. Извекова^а

^аИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: bianka28061981@gmail.com

Поступила в редакцию 23.06.2021 г.

После доработки 21.10.2022 г.

Принята к публикации 29.11.2022 г.

Исследован белковый состав среды инкубации и экстрактов различных видов цестод, обитающих в кишечниках пресноводных рыб. В обеих биологических средах червей обнаружены белки с кажущейся молекулярной массой 10–312.5 кДа. У большинства исследованных червей от 64 до 82% белковых полос в инкубационной среде и экстракте имеют кажущуюся молекулярную массу <50 кДа. Высказано предположение о важности этих белков в жизнедеятельности гельминтов и необходимости дальнейших исследований этой составляющей протеома.

Ключевые слова: рыбы, цестоды, экскреторно-секреторные продукты, белки, электрофорез

DOI: 10.31857/S0320965223030075, **EDN:** PHKCPW

ВВЕДЕНИЕ

В Рыбинском водохранилище ленточные черви (Cestoda) представлены 18 видами, самый многочисленный из 10 родов этого класса – род *Proteocephalus* (Экологические..., 2001). Специфичность к окончательному хозяину у большинства видов *Proteocephalus* считается довольно узкой. Однако некоторые из них специфичны для одного вида окончательного хозяина, другие – встречаются у различных видов рыб (Scholz, 1999). В Рыбинском водохранилище половозрелые цестоды рода *Proteocephalus* обитают в кишечнике ельца *Leuciscus leuciscus* L. (*Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786)), гольца *Barbatula barbatula* L. (*P. sagittus* (Grimm, 1872)), ерша *Gymnocephalus cernuus* L. (*P. cernuae* (Gmelin, 1790)) и синца *Ballerus ballerus* L. (*P. torulosus*). Окончательными хозяевами других видов цестод служат щука *Esox lucius* L., налим *Lota lota* L. и лещ *Abramis brama* L. Так, *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) – часто встречающийся и широко распространенный вид рода *Triaenophorus*. Этот вид цестод отмечен почти во всех водоемах Европы, Сибири и Северной Америки, где обитает его окончательный хозяин – щука (Куперман, 1988). *Eubothrium rugosum* (Batsch, 1786) – специфичный паразит налима, обитающий в его кишечнике. Найден исключительно у налима и распространен соответственно с хозяином, в отдельные годы экстенсивность инвазии налима достигает 100%. *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781) – типичный представитель группы

монозоичных ленточных червей, заканчивающий свое развитие в кишечнике карповых рыб. Его основной окончательный хозяин – лещ.

У рыб, как и у других позвоночных, пищеварительный тракт – один из основных путей паразитарной инфекции. Он служит первым барьером, ограничивающим или предотвращающим проникновение патогенных организмов. Известно, что гельминты экскретируют или секретируют различные вещества в окружающую их среду обитания – в своих хозяев. При этом экскреторно-секреторные продукты трематод, цестод и нематод играют существенную роль в уклонении от иммунного ответа хозяина (Ranganathan, Garg, 2009; Dezfuli et al., 2016). Кроме того, кишечные гельминты влияют на секрецию слизи в кишечнике (Bosi et al., 2015) и продукцию антимикробных пептидов, что, в свою очередь, может сказываться на выживаемости бактерий и их пространственной организации (Dezfuli et al., 2013). Несмотря на успехи в изучении генома и протеома гельминтов, многие аспекты взаимодействия “хозяин – паразит” остаются неясными. По мнению (Bień et al., 2016), для лучшего понимания эволюции ленточных червей и их влияния на организм хозяина необходимы обширные исследования, посвященные этой “низко патогенной и забытой стадии развития” (Bień et al., 2016).

Исследование состава белков гельминтов имеет фундаментальное значение, поскольку лежит в основе молекулярных механизмов взаимоотно-

Таблица 1. Характеристика объектов исследования

Хозяин—паразит	<i>n</i>	Средняя длина тела рыб, см	ИИ, экз.	Навески червей, г
Щука— <i>Triaenophorus nodulosus</i>	8	39.06 ± 3.3	$\frac{1-48}{14.43 \pm 6.2}$	0.75 ± 0.2
Налим— <i>Eubothrium rugosum</i>	6	41.8 ± 0.8	$\frac{6-15}{10.6 \pm 1.6}$	1.85 ± 0.3
Лещ— <i>Caryophyllaeus laticeps</i>	17	35.5 ± 1.1	$\frac{5-65}{21.25 \pm 5.3}$	1.41 ± 0.1
Елец— <i>Proteocephalus torulosus</i>	6	15.88 ± 0.8	$\frac{1-12}{4.67 \pm 1.6}$	0.33 ± 0.12
Голец— <i>P. sagittus</i>	28	7.96 ± 0.1	$\frac{1-35}{7.14 \pm 1.7}$	0.27 ± 0.03
Ерш— <i>P. cernuae</i>	24	7.49 ± 0.4	$\frac{1-15}{3.46 \pm 0.7}$	0.12 ± 0.01
Синец— <i>P. torulosus</i>	8	27.4 ± 0.7	$\frac{1-100}{19.9 \pm 12.3}$	0.74 ± 0.02

Примечание. ИИ — интенсивность инвазии. Над чертой — min—max, под чертой — среднее значение и его ошибка; *n* — число исследованных рыб, экз.

шений в системе “хозяин — паразит”. Несмотря на развитие технологий геномики, транскриптомики и протеомики и их применение при исследовании паразитических червей (Кочнева и др., 2018), данные о белковом составе последних, полученные с помощью электрофореза, остаются по-прежнему актуальными, поскольку дают представление о наиболее существенных для их жизнедеятельности белках и могут служить основой для их дальнейшего изучения.

Цель работы — сравнить белковый профиль среды инкубации и экстракта цестод из кишечника различных видов рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Объектами исследований послужили взрослые особи цестод, обитающие в кишечнике различных видов пресноводных костистых рыб (табл. 1).

Приготовление препаратов. Вскрытие извлеченных из рыб кишечника и дальнейшее приготовление препаратов осуществляли на ледяной бане. Извлеченных из кишечника хозяина цестод три раза тщательно промывали в растворе Рингера для холоднокровных животных, pH 7.5 (6 г NaCl; 0.14 г KCl; 0.5 мл 10% CaCl₂; 0.54 г Na₂HPO₄; 0.02 г KH₂PO₄; 0.16 г MgSO₄ в 1 л дистиллированной воды) с целью удаления ферментов хозяина, адсорбированных на их поверхности. Затем червей инкубировали в 2 мл раствора Рингера в течение 24 ч при температуре 7°C с целью получения секреторных/экскреторных продуктов цестод. Темпера-

тура, при которой проходила инкубация, должна была замедлить нежелательное развитие микробиоты и, таким образом, позволить избежать применения антибиотиков, используемых для той же цели (Pakchotan et al., 2016). В течение всего времени инкубации черви оставались живыми. После инкубации червей гомогенизировали с помощью стеклянного гомогенизатора фирмы Sartorius AG (Göttingen, Germany) и гомогенат разводили раствором Рингера в соотношении масса-объем 1 : 4. Гомогенаты червей центрифугировали при 5000 g в течение 5 мин при 4°C, для дальнейших исследований использовали супернатант (экстракт червей). Среда инкубации и экстракты замораживали и хранили ≤140 сут при –20°C (Solovyev, Gisbert, 2016) для дальнейшего анализа белкового состава среды инкубации и экстракта червей.

Электрофорез в полиакриламидном геле. Анализ белкового состава среды инкубации и экстракта червей проводили с помощью SDS-PAGE — электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле (12.5%) в присутствии 10%-ного раствора додецилсульфата натрия (SDS) в восстанавливающих условиях (Laemmli, 1970). Электрофорез проводили в вертикальной камере VE-20 (Helicon) со стеклами 20 × 20 см, толщиной геля 1 мм. Проба, введенная в лунку, состояла из 25 мкл образца (среды инкубации или экстракта червя) и 5 мкл содержащего SDS и 2-меркаптоэтанол буфера.

Электрофорез проводили при постоянном токе 15 мА на гель в течение 3.5 ч при 4°C. Затем гели промывали дистиллированной водой, фикси-

Таблица 2. Относительное количество белка (%) в общих полосах при анализе белкового состава среды инкубации (СИ) и экстракта (Э) цестод

кДа	<i>Triaenophorus nodulosus</i>	<i>Eubothrium rugosum</i>		<i>Caryophyllaeus laticeps</i>		<i>Proteocephalus torulosus</i> (елец)		<i>Proteocephalus torulosus</i> (синец)		<i>Proteocephalus cernuae</i> (ерш)		<i>Proteocephalus sagittus</i> (голец)
	Э	СИ	Э	СИ	Э	СИ	Э	СИ	Э	СИ	Э	Э
47	—	—	—	2.0	2.5	—	—	—	—	—	—	—
40	16.0	—	—	0.6	13.1	—	—	—	—	—	—	—
35	—	—	—	—	—	1.8	6.1	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	12.5	7.5	—	—	—	—	—
31	8.14	—	—	—	—	5.3	6.2	—	—	—	—	—
30	—	9.5	5.2	—	—	11.7	7.7	—	—	2.8	6.1	9.2
29	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.8
28	—	—	—	—	—	3.6	0.1	4.3	7.6	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—	—	3.4	0.6	—	—	—
26	—	—	—	—	—	—	—	3.7	3.0	—	—	2.1
21	0.34	—	—	—	—	—	—	6.5	1.9	—	—	—
19	—	—	—	46.0	3.3	—	—	—	—	—	—	—
12	18.65	—	—	—	—	2.90	0.6	—	—	—	—	—
Доля полос <50 кДа (%)	44	82	67	64	78	81	64	74	64	71	70	79
Всего полос	15	27	28	17	28	22	23	27	26	23	36	20
Число общих полос (в пределах одного вида)	—	1		3		6		4		1		—

Примечание. “—” — отсутствие общих белковых полос с данной молекулярной массой.

ровали в 5%-ном растворе ТХУ (трихлоруксусной кислоты) перед окрашиванием 0.11%-ным кумаси бриллиантовым синим (BBS G-250) в растворе, содержащем 25% этанола и 5% уксусной кислоты. Обесцвечивание проводили тем же раствором без красителя. Ориентировочную молекулярную массу разделенных белков определяли с использованием маркеров PageRuler™ Wide Range Unstained Protein Ladder (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 70, 100, 150 и 250 кДа; Thermo Scientific). Молекулярные массы белков рассчитывали с использованием программы ImageJ 1.46g (Национальный институт здравоохранения, Бетесда, Мэриленд, США) и приводили в кДа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ белкового состава среды инкубации и экстракта исследованных червей показал наличие белковых полос с кажущимися молекулярными массами от 10 до 312.5 кДа. У разных видов цестод на электрофореграммах обнаружено от 15 до 36 белковых полос (табл. 2). Полосы с кажущимися молекулярными массами >300 кДа отмечены

только в среде инкубации *Caryophyllaeus laticeps* из кишечника леща (рис. 1) и в экстракте *Proteocephalus torulosus* из кишечника синца (рис. 2). Общие полосы в среде инкубации паразитов и их экстракте обнаружены при молекулярной массе <50 кДа. По одной общей полосе выявлено у *Eubothrium rugosum* и *Proteocephalus cernuae*. У *P. torulosus* из кишечника ельца обнаружено шесть общих полос в среде инкубации и экстракте червей. У четырех видов червей есть полосы с молекулярной массой 30 кДа (табл. 2). Кроме того, и в инкубационной среде, и в экстракте всех исследованных червей наибольшее число белковых полос имеют кажущуюся молекулярную массу <50 кДа (рис. 1–4). Доля полос с такой кажущейся молекулярной массой у большинства видов цестод колеблется от 64 до 82% (табл. 2), исключение — электрофореграмма экстракта *Triaenophorus nodulosus*, в которой полосы с такой молекулярной массой не превышают 44% всех белковых полос. Большая доля низкомолекулярных белков свидетельствует об их значении в жизнедеятельности червей и необходимости сосредоточения дальнейших усилий на исследовании этой составляющей протеома.

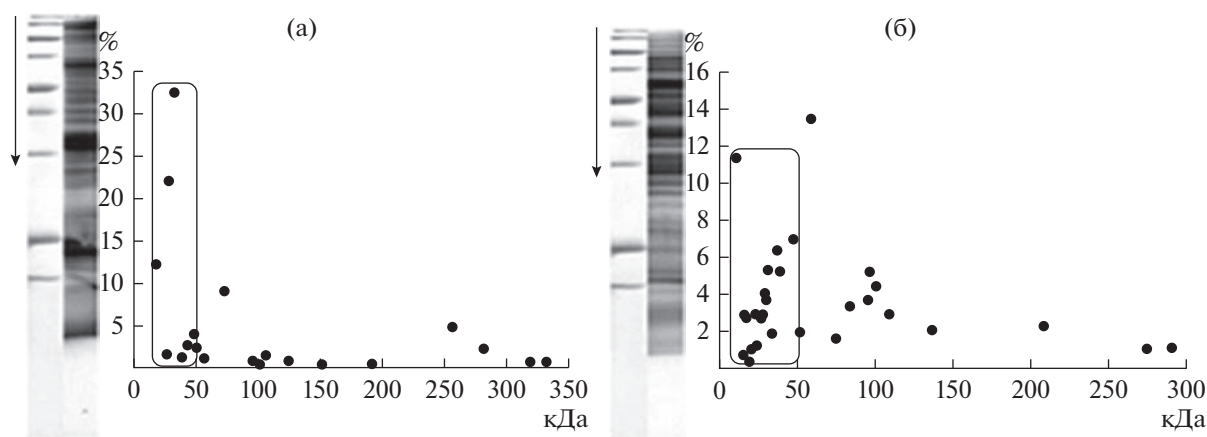


Рис. 1. Электрофореграмма и относительная ширина белковых полос (%) среды инкубации (а) и экстракта (б) цестоды *Caryophyllaeus laticeps* из кишечника леща. Здесь и на рис. 2–4: на электрофореграмме первая полоса – маркеры молекулярных масс (250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20 и 15 кДа), стрелкой указано направление электрофореза; на графике по горизонтали – кажущаяся молекулярная масса, кДа, в рамках – полосы с кажущейся молекулярной массой < 50 кДа.

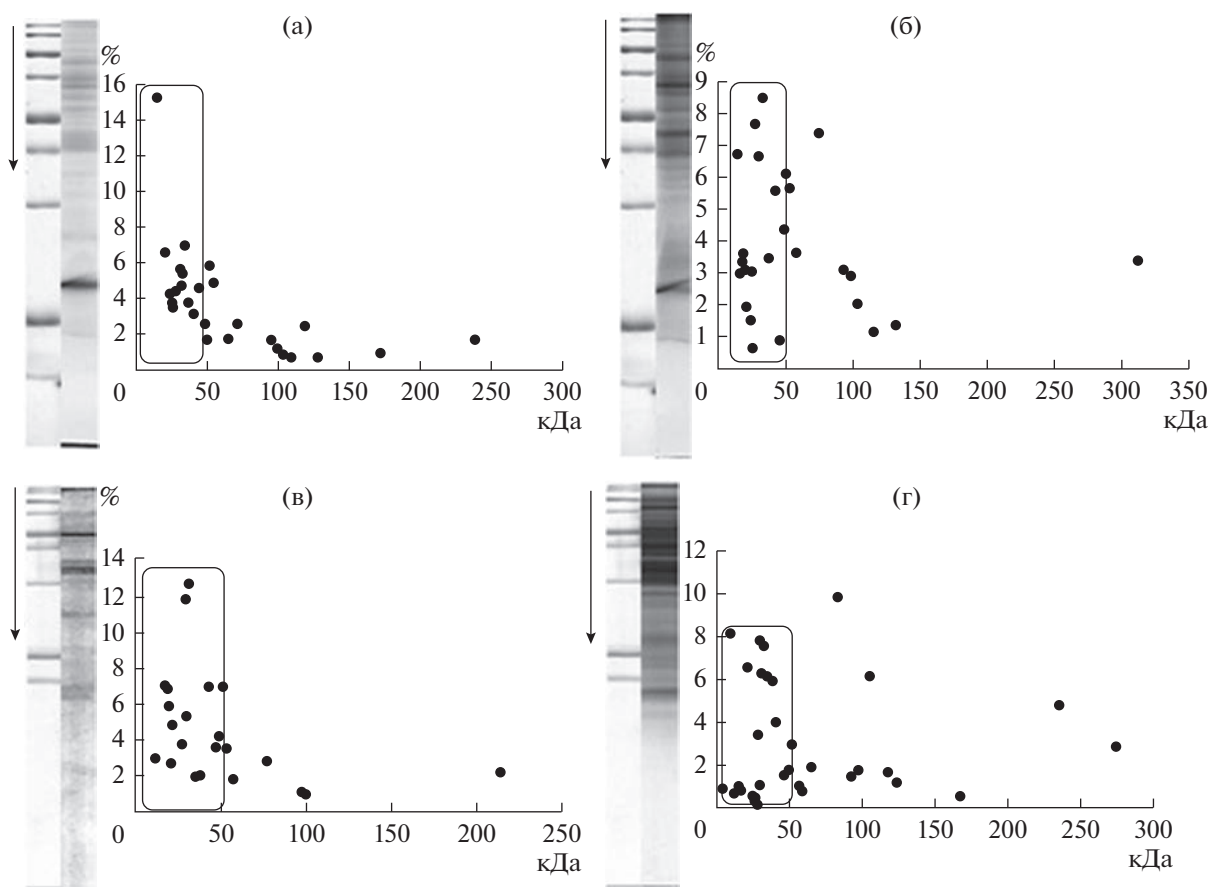


Рис. 2. Электрофореграмма и относительная ширина белковых полос (%) среды инкубации (а, в) и экстракта (б, г) цестод *Proteocephalus torulosus* из кишечника синца (а, б) и ельца (в, г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение различных сторон жизнедеятельности цестод, обитающих в кишечнике рыб, при-

влекает внимание исследователей, поскольку некоторые цестоды паразитируют в пищеварительном тракте ценных промысловых видов рыб. Ранее нами установлено, что заражение исследо-

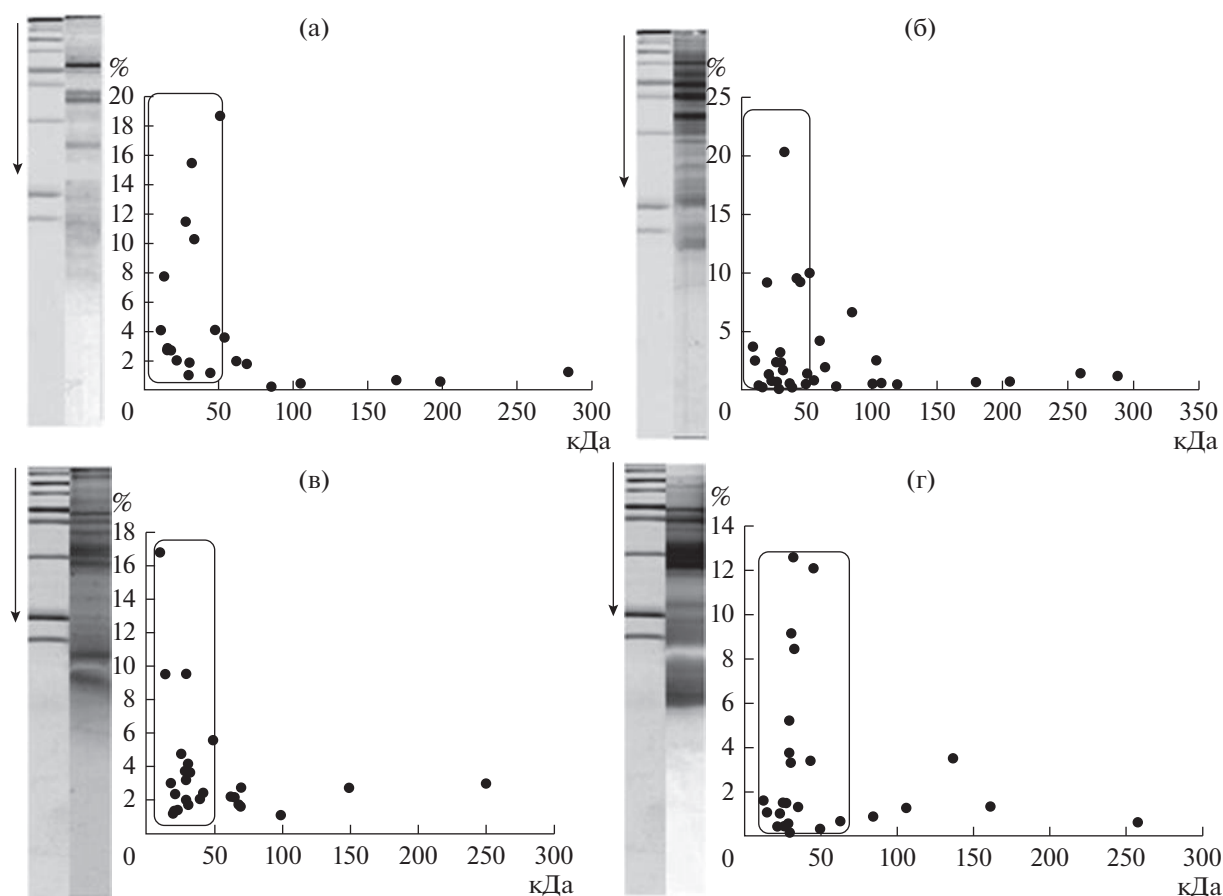


Рис. 3. Электрофореграмма и относительная ширина белковых полос (%) среды инкубации (а, в) и экстракта (б, г) цестод *Proteocephalus cernuae* из кишечника ерша (а, б) и цестод *Eubothrium rugosum* из кишечника налима (в, г).

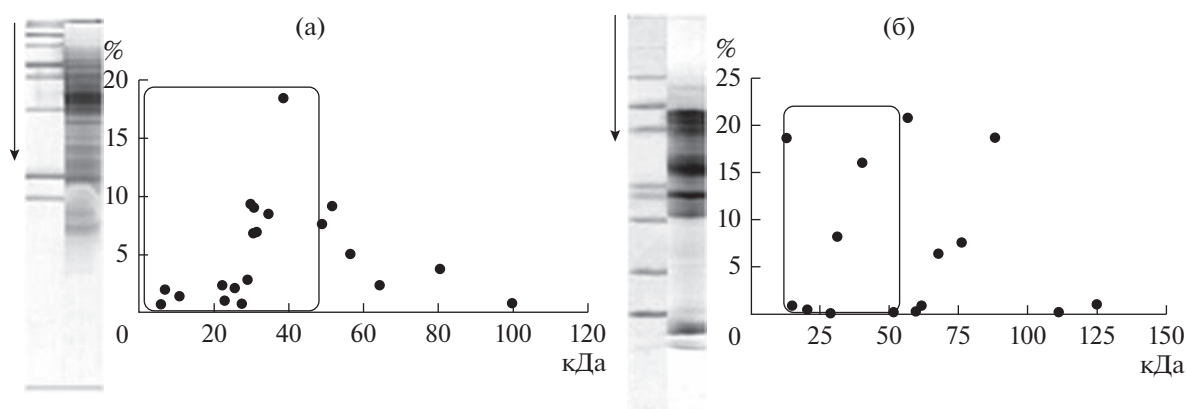


Рис. 4. Электрофореграмма и относительная ширина белковых полос (%) экстракта цестод *Proteocephalus sagittus* из кишечника гольца (а) и *Triaenophorus nodulosus* из кишечника щуки (б).

ванных видов рыб цестодами сказывается на активности протеолитических ферментов кишечника их хозяев (Frolova, Izvekova, 2022). Одной из причин влияния червей на активность этих ферментов могут быть экскреторно-секреторные продукты цестод, которые ингибируют актив-

ность протеиназ хозяев (Извекова и др., 2018; Izvekova et al., 2017; Frolova et al., 2019). При этом известно, что большое количество ингибиторов протеиназ имеют белковое происхождение (Rawlings et al., 2004), а большинство изученных и охарактеризованных белковых ингибиторов отно-

сятся к группе ингибиторов сериновых протеиназ. Среди этих ингибиторов выделяют малые серин-протеазные ингибиторы — смапины, которые имеют в составе <100 аминокислотных остатков (Molehin et al., 2012).

Опираясь на эти данные, можно с большой долей уверенности предположить, что обнаруженные в составе инкубационной среды и экстрактов исследованных цестод белки могут быть ответственны за их ингибирующую способность по отношению к протеиназам хозяев — рыб. Это в большей мере касается белков с низкой кажущейся молекулярной массой, обнаруженных и в среде инкубации, и в экстрактах червей. Установлено, что наибольшее число белковых полос в инкубационной среде и экстракте всех исследованных червей имеют кажущуюся молекулярную массу ниже 50 кДа. Совокупность накопленных данных свидетельствует, что за ингибиторную способность по отношению к протеиназам у цестод, обитающих в кишечнике рыб, очевидно, ответственны низкомолекулярные белки (Bień et al., 2016; Frolova et al., 2019). В то же время, поскольку у исследованных цестод состав экскреторно-секреторных белков различается по количеству и кажущейся молекулярной массе полученных на электрофореграммах полос, то, по-видимому, у этих червей за ингибиторную способность по отношению к протеиназам хозяев ответственны различные белки. Поскольку ингибирующая способность у исследованных цестод обнаружена и в среде инкубации, и в экстракте червей (Извекова и др., 2018; Izvekova et al., 2017; Frolova et al., 2019), можно предположить, что эта способность червей определяется белками с одинаковыми молекулярными массами, обнаруженными в обоих случаях.

В том же диапазоне, что и для исследованных нами червей идентифицировано 39 белков в составе экскреторно-секреторных продуктов у цестоды *Hymenolepis diminuta* Rudolphi, 1819 из кишечника крысы. Установлено, что число белковых полос на электрофореграммах, полученных после инкубации червей 5 и 18 ч не различалось, ориентировочная масса полос колебалась от 15 до 250 кДа, а наибольшая оптическая плотность полос отмечена между 25 и 70 кДа (Bień et al., 2016). Большой интерес, по нашему мнению, представляют белки, обнаруживаемые в среде инкубации червей, поскольку они могут вступать во взаимодействие с хозяином.

Наличие белковых полос с высокими кажущимися молекулярными массами в экстрактах червей вполне закономерно. Частично полосы с высокими кажущимися молекулярными массами в среде инкубации могут быть связаны с обновлением щеточной каймы тегумента червей. Известно, что цестода *H. diminuta* при инкубации *in vitro*

выделяет в окружающую среду различные продукты, в том числе значительное количество белка (Barrett, Precious, 1995). Кроме того, некоторое количество этого белка появляется в результате обновления наружной поверхности тегумента червей (Oaks et al., 1977). Известно, что на этапе разделения белковых смесей методом одно- и двумерного электрофореза можно выделить только белки с достаточно высокой концентрацией, имеющие, вероятнее всего, большое значение для функционирования организма (Кочнева и др., 2018). По-видимому, полосы с высокими кажущимися молекулярными массами могут быть представлены, в основном, белками цитоскелета и мышечными белками. Это согласуется с данными ряда авторов, показавших, что в секретах гельминтов преобладают протеолитические ферменты, белки метаболизма глюкозы и пластического обмена, структурно-мышечные и регуляторные белки и белки антиоксидантной защиты (Кочнева и др., 2018).

Еще одной важной составляющей экскреторно-секреторных продуктов могут быть антимикробные пептиды — природные антибиотики, вырабатываемые всеми живыми организмами. У многоклеточных животных они действуют как факторы защиты хозяина, устраняя микробные патогены. Хотя многие антимикробные пептиды имеют общие структурные характеристики, например, размер от 10 до 100 аминокислот и положительный заряд, большинство из них специфичны для определенных таксонов и даже видов (Smith et al., 2010; Tassanakajon et al., 2015; Bruno et al., 2019). Антимикробные пептиды описаны для различных таксонов всего животного мира, но наиболее часто их выявляли у рыб и моллюсков, что отражает интерес к экономически важным животным (Smith et al., 2010).

Широкое распространение антимикробных пептидов позволило обнаружить врожденные защитные системы многоклеточных организмов, обеспечивающие сосуществование с микроорганизмами. Большинство животных для защиты от микроорганизмов в значительной степени полагаются на антимикробные пептиды. По мнению некоторых авторов, у каждого вида есть уникальная, специфическая коллекция этих соединений, настроенных для защиты от возможной встречи с микроорганизмами (Zaslhoff, 2002). Например, одна из наиболее распространенных групп антимикробных пептидов у рыб — писцидины, семейство линейных амфипатических пептидов, обладающих мощным антимикробным действием широкого спектра против вирусов, бактерий, грибов и паразитов (Dezfuli et al., 2013). Высказано предположение, что писцидины присутствуют у многих эволюционно развитых костистых рыб, они широко распространены и служат важным компонентом защиты многих рыб от болезней (Silphad-

uang et al., 2006). Возможно, что часть белковых полос с низкими кажущимися молекулярными массами, обнаруженная у исследованных нами цестод, представлена антимикробными пептидами, характеристика которых для цестод в доступной литературе отсутствует.

Знание структуры и функции белков, продуцируемых и выделяемых гельминтами, как и взаимодействий паразит–хозяин, происходящих с их помощью, может помочь в разработке мер борьбы с паразитарными инвазиями и вызываемыми гельминтами болезнями. Взаимодействие паразит–хозяин – сложный процесс, включающий молекулы, продуцируемые обоими партнерами. Возможности гельминтов вторгаться, мигрировать и выживать внутри хозяина способствует ряд их экскреторно-секреторных белков (Franchini et al., 2015; Huang et al., 2019). Некоторые из этих белков могут стать мишенями при разработке вакцин или лекарств против гельминтных инвазий (Bień et al., 2016).

Выводы. В среде инкубации и экстрактах всех исследованных видов цестод обнаружены белки с кажущейся молекулярной массой от 10 до 312.5 кДа. Значительная доля белковых полос и в инкубационной среде, и в экстракте червей имеет кажущуюся молекулярную массу <50 кДа, что свидетельствует о важности этих белков в жизнедеятельности гельминтов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии внутренних вод РАН (тема № 121051100100-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Извекова Г.И., Фролова Т.И., Жохов А.Е. 2018. Активность протеиназ активность протеиназ в кишечнике ерша *Gymnocephalus cernuus* (L.) (Pisces) в зависимости от размера населяющих его цестод *Proteocephalus cernuae* (Gmelin) // Биология внутр. вод. № 1. С. 88.
<https://doi.org/10.7868/S0320965218010114>
- Кочнева А.А., Борвинская Е.В., Бедулина Д.С. и др. 2018. Протеомные исследования особенностей жизнедеятельности паразитических червей // Паразитология. Т. 52. № 3. С. 177.
- Куперман Б.И. 1988. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука.
- Экологические проблемы Верхней Волги: Коллективная монография. 2001. Ярославль: Изд-во Ярослав. гос.-техн. ун-та.
- Barrett J., Precious W.Y. 1995. Application of metabolic control analysis to the pathways of carbohydrate breakdown in *Hymenolepis diminuta* // Int. J. Parasitol. V. 25. № 4. P. 431.
[https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)00144-D](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)00144-D)
- Bień J., Sałamatin R., Sulima A. et al. 2016. Mass spectrometry analysis of the excretory-secretory (E-S) products of the model cestode *Hymenolepis diminuta* reveals their immunogenic properties and the presence of new E-S proteins in cestodes // Acta Parasitologica. № 61(2). P. 429.
<https://doi.org/10.1515/ap-2016-0058>
- Bosi G., Shinn A.P., Giari L., Dezfili B.S. 2015. Enteric neuromodulators and mucus discharge in a fish infected with the intestinal helminth *Pomphorhynchus laevis* // Parasites & Vectors. V. 8. P. 359.
<https://doi.org/10.1186/s13071-015-0970-7>
- Bruno R., Maresca M., Canaan S. et al. 2019. Worms' Antimicrobial Peptides // Marine Drugs. № 17(9). P. 512.
<https://doi.org/10.3390/md17090512>
- Dezfili B.S., Bosi G., DePasquale J.A. et al. 2016. Fish innate immunity against intestinal helminthes // Fish and Shellfish Immunol. V. 50. P. 274.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.02.002>
- Dezfili B.S., Lui A., Giari L. et al. 2013. Piscidins in the intestine of European perch, *Perca fluviatilis*, naturally infected with an enteric worm // Fish and Shellfish Immunol. V. 35. P. 1539.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.08.023>
- Franchini G.R., Pórfido J.L., Shimabukuro M.I. et al. 2015. The unusual lipid binding proteins of parasitic helminthes and their potential roles in parasitism and as therapeutic targets // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. V. 93. P. 31.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.08.003>
- Frolova T.V., Izvekov E.I., Solovyev M.M., Izvekova G.I. 2019. Activity of proteolytic enzymes in the intestine of bream *Abramis brama* infected with cestodes *Caryophyllaeus laticeps* (Cestoda, Caryophyllidae) // Comp. Biochem. and Physiol. Part B. V. 235. P. 38.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2019.05.009>
- Huang S.-Y., Yue D.-M., Hou J.-L. et al. 2019. Proteomic analysis of *Fasciola gigantica* excretory and secretory products (FgESPs) interacting with buffalo serum of different infection periods by shotgun LC-MS/MS // Parasitol. Res. V. 118. P. 453.
<https://doi.org/10.1007/s00436-018-6169-z>
- Izvekova G.I., Frolova T.V., Izvekov E.I. 2017. Adsorption and inactivation of proteolytic enzymes by *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) // Helminthologia. V. 54(1). P. 3.
<https://doi.org/10.1515/helm-2017-0001>
- Frolova T.V., Izvekova G.I. 2022. A Comparative Analysis of the Effect of Intestinal Cestodes in Different Fish Species on Proteolytic Enzyme Activity // J. Evol. Biochem. Physiol. V. 58. №. 3. P. 644.
<https://doi.org/10.1134/S0022093022030024>
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // Nature. V. 4(227). № 5259. P. 680.
- Molehin A.J., Gobert G.N., McManus D.P. 2012. Serine protease inhibitors of parasitic helminthes // Parasitology. V. 139. № 6. P. 681.
<https://doi.org/10.1017/S0031182011002435>
- Oaks J., Knowles W., Cain G. 1977. Simple method of obtaining an enriched fraction of tegumental brush border from *Hymenolepis diminuta* // J. Parasitol. V. 63. № 3. P. 476.
<https://doi.org/10.2307/3280005>
- Pakchotanon P., Molee P., Nuamtanong S. et al. 2016. Molecular characterization of serine protease inhibitor iso-

- form 3, SmSPI, from *Schistosoma mansoni* // Parasitol. Res. V. 115. № 8. P. 2981.
<https://doi.org/10.1007/s00436-016-5053-y>
- Ranganathan S., Garg G. 2009. Secretome: clues into pathogen infection and clinical applications // Genome Medicine. V. 1. P. 113.
<https://doi.org/10.1186/gm113>
- Rawlings N.D., Tolle D.P., Barrett A.J. 2004. Evolutionary families of peptidase inhibitors // Biochem. J. V. 378. P. 705.
<https://doi.org/10.1042/BJ20031825>
- Scholz T. 1999. Life cycles of species of Proteocephalus, parasites of fishes in the Palearctic Region: a review // J. Helminthol. V. 73. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X99000013>
- Silphaduang U., Colorni A., Noga E.J. 2006. Evidence for widespread distribution of piscidin antimicrobial peptides in teleost fish // Diseases of aquatic organisms. V. 72(3). P. 241.
<https://doi.org/10.3354/dao072241>
- Smith V.J., Desbois A.P., Dyrynda E.A. 2010. Conventional and unconventional antimicrobials from fish, marine invertebrates and micro-algae // Marine Drugs. V. 8. P. 1213.
<https://doi.org/10.3390/md8041213>
- Solovyev M.M., Gisbert E. 2016. Influence of time, storage temperature and freeze/thaw cycles on the activity of digestive enzymes from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // Fish Physiol. and Biochem. V. 42. P. 1383.
<https://doi.org/10.1007/s10695-016-0226-2>
- Tassanakajon A., Somboonwiwat K., Amparyup P. 2015. Sequence diversity and evolution of antimicrobial peptides in invertebrates // Devel. and Comp. Immunol. V. 48. P. 324.
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.05.020>
- Zaslhoff M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms // Nature. V. 415(6870). P. 389.
<https://doi.org/10.1038/415389a>

Protein Profile of the Incubation Medium and Cestode Extract from the Intestines of Various Fish Species

T. V. Frolova¹, * and G. I. Izvekova¹

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: bianka28061981@gmail.com

The protein composition of the incubation medium and extracts of various types of cestodes inhabiting the intestines of freshwater fish was investigated. Proteins with apparent molecular weights from 10 to 312.5 kDa were found in both biological media of worms. In most of the investigated worms, 64 to 82% of the protein bands in the incubation medium and the extract have an apparent molecular weight below 50 kDa. An assumption was made about the importance of these proteins in the vital activity of helminths and the need to concentrate further efforts on the study of this particular component of the proteome.

Keywords: fish, cestodes, excretory-secretory products, proteins, electrophoresis