

Antyoksydanty *Contracaecum rudolphii* (Nematoda)¹

Antioxidants of *Contracaecum rudolphii* (Nematoda)

Krystyna Żółtowska¹, Marek Farjan¹, Elżbieta Łopieńska-Biernat¹,
Jerzy Rokicki²

¹ Katedra Biochemii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 1A, 10-957 Olsztyn

² Katedra Zoologii Bezkręgowców, Uniwersytet Gdański, ul. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

Adres do korespondencji: Krystyna Żółtowska, Katedra Biochemii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski,
ul. Oczapowskiego 1A, 10-957 Olsztyn; E-mail: k.zoltowska@uwm.edu.pl

ABSTRACT. *Contracaecum rudolphii* is the parasitic nematode of fish-eating birds. In the extracts from female, male and larvae L₃ and L₄ isolated from the alimentary tracts of black cormorants the activity of five antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), glutathione transferase (GST), glutathione reductase (GR), catalase (CAT) and the content of ascorbate and total antioxidative status (TAS) were determined. They can be put in order according to the activity growth: GPX, SOD, GST, CAT and GR. The activity of GPX were very low in the nematodes' extracts (1.23–7.67 μU/mg). CAT had higher activity (0.47–0.72 U/mg). The activity of GR was the highest (50.51–69.88 U/mg). SOD activity in the female was higher by ca. 50% than in the male while GST activity was at similar levels. GR and CAT activities were higher by ca. 30% in the male than in the female nematodes. GST and GPX activity and TAS in larvae L₃ were significantly lower than in the adult nematodes or in L₄ larvae. The activity of GPX, GR and CAT was lower in L₄ larvae than in the adult male (p<0.05). The content of ascorbate was almost the same in all stages of parasite development (0.21–0.38 mg/g). The above results indicate differences in antioxidant systems related to both the sex and the developmental stage of *C. rudolphii*.

Key words: *Contracaecum rudolphii*, Anisakidae, antioxidative enzyme, antioxidative status

Wstęp

Contracaecum rudolphii, nicien należący do rodziny Anisakidae, jest pasożytem żołądkowo-jelitowym o złożonym cyklu rozwojowym [1]. Jego żywicielem ostatecznym są ptaki odżywiające się rybami, głównie kormorany i pelikany. Stadium dyspersyjne (wczesna larwa L₂) jest wolno żyjące, natomiast larwy L₃ pasożytują w skorupiakach planktonowych i bentosowych oraz w rybach słodkowodnych i morskich. W tej postaci pasożyt powoduje straty w hodowli ryb, gdyż zarażone nim osobniki stają się łatwym łupem drapieżników [2]. Intensywne inwazje *C. rudolphii* stanowią także zagrożenie dla kormoranów, szczególnie dla młodych ptaków [3–5]. Badania tego gatunku ograniczone są głów-

nie do występowania i oceny prewalencji, opisu cech morfologicznych, taksonomii i rozwoju [1, 6–12]. Niewiele jest danych na temat biochemii *C. rudolphii*. Dotyczą one składu aminokwasowego [13], metabolizmu węglowodanów [14, 15] i oceny aktywności jego hydrolaz [16]. Brak jest informacji jak nicien ten reaguje na stres oksydacyjny, który pojawia się wraz ze zmianą natlenienia środowiska bytowania oraz w związku z odpowiedzią układu immunologicznego żywiciela. U wielu pasożytów wewnętrznych działają bardzo sprawnie systemy antyoksydacyjne zabezpieczające je przed tzw. „wybuchem tlenowym” komórek fagocytarnych żywiciela [17–20].

Reaktywne formy tlenu (RFT) są wytwarzane przez wszystkie organizmy podczas procesów meta-

¹Badania były finansowane z grantu nr P04C02428 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

bolicznych zachodzących w warunkach tlenowych. Ilość ich nasila się podczas działania czynników stresowych tak abiotycznych (promieniowanie, czynniki klimatyczne), jak i biotycznych [21, 22]. Celem pracy było wykazanie jaka jest i czy się zmienia w rozwoju zdolność *C. rudolphii* do zmiany wolnych rodników. Według naszej oceny są to pierwsze badania z tego zakresu, dotyczące tego gatunku, który jak stwierdzono ma możliwość zamknięcia swojego cyklu rozwojowego również w Polsce [10, 11, 23].

Material i metody

Nicienie *C. rudolphii* izolowano z żołądków kormoranów czarnych (n=39) zestrzelonych w połowie sierpnia 2007 r. na jeziorze Selment Wielki w regionie Pojezierza Mazurskiego. Po oczyszczeniu z tkanek żywiciela, nicienie segregowano na podstawie cech morfologicznych [1, 7, 24] na larwy L₃ i L₄ oraz samce i samice, ważono i do czasu analiz przechowywano w temp. – 80°C.

Nicienie homogenizowano w proporcji 1:10 (w/v) z 0,9% NaCl. W ekstraktach oznaczano za pomocą zestawów firmy Randox (zgodnie z procedurą producenta) aktywność: dysmutazy nadtlenkowej (SOD), peroksydazy glutationowej (GPX), reduktazy glutationowej (GR) i całkowity status antyoksydacyjny (TAS) oraz aktywność transferazy glu-

tationowej (GT) wg Rice-Evans i wsp. [25] i katalazy metodą Aebi [26]. Oznaczano też zawartość kwasu askorbinowego wg Rutkowskiego i wsp. [27]. Aktywności enzymatyczne przeliczano na 1 mg białka. Białko oznaczano metodą Bradforda [28]. Zawartość kwasu askorbinowego i ogólny status antyoksydacyjny przeliczano na 1 g masy ciała. Wyniki analizowano wykorzystując program Statistica 2008, ANOVA, test Tukeya.

Wyniki

W wyciągach z pasożyta wykazano obecność wszystkich badanych enzymów (Tabela 1). Pod względem aktywności można je uszeregować następująco: GR, GST, SOD, CAT, GPX. Aktywność peroksydazy glutationowej była bardzo niska, na granicy wykrywalności. Dość wysoką aktywność miała dysmutaza nadtlenkowa. O dwa rzędy wielkości niż SOD była wyższa aktywność katalazy i transferazy glutationowej. Szczególnie aktywna była u *C. rudolphii* reduktaza glutationowa. SOD u samic była bardziej aktywna niż u samców (p<0,05). Także nieco wyższa u osobników żeńskich była aktywność GPX. Odmienne, u samców aktywności GR i katalazy były istotnie wyższe niż u samic. Larwy pasożyta miały zdecydowanie wyższą aktywność SOD i o ok. 3-krotnie niższą aktywność GPX niż osobniki dorosłe. Obserwowano

Tabela 1. Układy antyoksydacyjne *Contraecaecum rudolphii*
Table 1. Antioxidant systems from *Contraecaecum rudolphii*

Układ antyoksydacyjny	Samice	Stadium		
		Samce	L ₄	L ₃
Enzym	Aktywność			
Dysmutaza nadtlenkowa (SOD mU/mg)	6,35* ± 0,63 ^a	4,81 ± 0,56 ^b	7,74 ± 1,11 ^a	8,25 ± 1,43 ^a
Transferaza glutationowa (GST U/mg)	0,54 ± 0,04 ^a	0,55 ± 0,11 ^a	0,57 ± 0,07 ^a	0,29 ± 0,12 ^b
Reduktaza glutationowa (GR U/mg)	50,51 ± 4,23 ^a	65,53 ± 5,92 ^b	52,23 ± 4,87 ^a	69,88 ± 8,94 ^b
Katalaza (CAT U/mg)	0,57 ± 0,14 ^a	0,72 ± 0,10 ^b	0,59 ± 0,11 ^a	0,48 ± 0,11 ^a
Peroksydaza glutationowa (GPX μU/mg)	7,67 ± 1,75 ^a	6,94 ± 1,32 ^a	1,97 ± 0,21 ^b	1,23 ± 0,19 ^c
Antyoksydant	Stężenie			
Kwas askorbinowy (mg/g tkanki)	0,29 ± 0,08	0,38 ± 0,09	0,28 ± 0,05	0,21 ± 0,07
Całkowity status antyoksydacyjny (TAS mol/g tkanki)	3,38 ± 0,03 ^a	3,68 ± 0,13 ^a	3,33 ± 0,21 ^a	2,41 ± 0,59 ^b

Objaśnienia (explanations): * x ± SD (średnia arytmetyczna ± odchylenie standardowe), (mean ± standard deviation); Jednakowe litery oznaczają brak różnic istotnych między średnimi przy poziomie p<0,05 (the same letters indicate no significant differences between means at p<0,05)

większe różnice w aktywności enzymów antyoksydacyjnych między osobnikami dorosłymi (żeńskimi i męskimi) a larwami L₃ niż larwami L₄. Ta sama zależność dotyczy całkowitego stężenia związków antyoksydacyjnych (Tabela 1). Status antyoksydacyjny larw L₃ był istotnie niższy niż pozostałych postaci pasożyta. Również zawartość askorbinianu była u nich niższa, ale różnice w tym przypadku nie były jednak statystycznie istotne.

Dyskusja

Wszystkie organizmy eukariotyczne wyposażone są w silne bariery antyoksydacyjne. W ich skład wchodzi enzymy antyoksydacyjne oraz związki tworzące układy oksydo-redukcyjne o charakterze nieenzymatycznym [22]. Głównymi enzymami antyoksydacyjnymi są: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa, reduktaza glutationowa oraz transferaza glutationowa. Mniej specyficzne w działaniu są niskocząsteczkowe związki antyoksydacyjne, jak na przykład: glutation, kwas askorbinowy, tokoferole, karotenoidy [21]. U pasożytniczych nicieni występują wszystkie klasy antyoksydantów, zabezpieczających biologiczne makrocząsteczki przed uszkodzeniami powodowanymi przez reaktywne formy tlenu jak: utlenianie białek, peroksydacja lipidów, depolimeryzacja węglowodanów oraz modyfikacje i degradacja łańcuchów kwasów nukleinowych [20, 29].

Zdaniem Henkle-Dührsen i Kampkötter [20] enzymy antyoksydacyjne są szczególnie ważne dla pasożytów wywołujących chroniczne infekcje i poprzez to długookresowo narażonych na RFT, generowane przez komórki obronne żywiciela. Z drugiej strony, tak jak u innych organizmów eukariotycznych, pasożyty muszą usuwać wolne rodniki pochodzenia endogennego i naprawiać uszkodzenia przez nie powodowane [19, 30].

Spośród enzymów antyoksydacyjnych helminatów najlepiej poznano rodzinę dysmutaz ponadtlenkowych, które katalizują reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru [22]. Enzym ten występuje u wszystkich przebadanych pod tym względem nicieni [18, 29, 31–36]. Uważa się, że najważniejszymi zmiataczami H₂O₂, powstałego w wyniku działania SOD, są u pasożytniczych nicieni enzymy zaliczane do stosunkowo niedawno poznanej rodziny peroksyredoksyn [37]. Natomiast obecność i aktywność głównych enzymów usuwających u większości eukariotów H₂O₂ – katalazy i peroksydazy glutationowej u wielu nicieni

nie jest kwestionowana [20]. U *C. rudolphii* wykazano aktywność wszystkich badanych enzymów antyoksydacyjnych (Tabela 1). Szczególnie wysoka była aktywność reduktazy glutationowej. Enzym ten ogrywa zasadniczą rolę w metabolizmie glutationu, redukuje disulfid tego związku do formy czynnej (GSH), biorącej udział w procesach redukcji i w detoksykacji szkodliwych metabolitów, a także ksenobiotyków [22]. Tę ostatnią reakcję katalizuje wysoce aktywna u *C. rudolphii* transferaza glutationowa. Enzym ten jest również aktywny u filarii [18]. Sugeruje się, że GST może, wykazując słabą aktywność peroksydazową w stosunku do nadtlenu wodoru, kompensować brak funkcjonalnej u niektórych helmintów peroksydazy glutationowej [18]. Podobnie może być u *C. rudolphii*. Nie można wykluczyć, że mierzona przez nas bardzo niska aktywność peroksydazy glutationowej wynika z takiej „pobocznej” działalności wysoce aktywnej transferazy glutationowej tego nicienia. Zagadnienie to wymaga dalszych badań.

W odróżnieniu od innych helmintów u *C. rudolphii* aktywność innego enzymu, ważnego w rozkładzie nadtlenu wodoru – katalazy była stosunkowo wysoka. Co prawda katalaza *C. rudolphii* nie jest aż tak aktywna jak enzym z *Ascaris suum* [20], ale jej aktywność była 100-krotnie wyższa od SOD (Tabela 1). Wydaje się więc, że enzym ten jest głównym zmiataczem nadtlenu wodoru u *C. rudolphii* i jest w stanie rozłożyć większość tworzonych m.in. przez SOD nicienia H₂O₂. Jego wysoka aktywność może również kompensować bardzo niską aktywność peroksydazy glutationowej.

Spodziewano się, mając na uwadze wyższe tempo przemian metabolicznych u samic nicieni, wyraźnych różnic związanych z płcią w aktywności enzymów antyoksydacyjnych i w wysokości ogólnego statusu antyoksydantów u *C. rudolphii*. Różnice zgodne z oczekiwaniami odnotowano jedynie w przypadku SOD, która była istotnie bardziej aktywna u samic. Natomiast nie jest jasne dlaczego aktywności reduktazy glutationowej i katalazy były wyższe u osobników męskich niż żeńskich. Pozostałe wskaźniki nie różniły się istotnie u przedstawicieli obu płci.

Larwy *Trichostrongylus colubriformis*, *Haemonchus contortus* i *Ostertagia circumcincta* wykazywały 8–10-razy wyższą aktywność SOD niż dorosłe nicienie i tylko u larw inwazyjnych tych pasożytów występowały antyoksydanty nieenzymatyczne [29]. W naszych badaniach podobnie, u larw *C. rudolphii* aktywność SOD była wyższa niż u osobników doro-

ślach, ale jedynie w przypadku samców i larw inwazyjnych (L₃) różnice były istotne. Całkowita zdolność antyoksydacyjna była u *C. rudolphii* wielokrotnie wyższa niż u nicieni badanych przez Hadasia i Stankiewicza [29]. Można przypuszczać, że powyższe różnice wynikać mogą ze stopnia natlenienia środowiska wysokiego w przypadku wolno żyjących L₃ nicieni żołądkowych ssaków a znacznie niższego (mięśnie ryb) w przypadku larw inwazyjne *C. rudolphii*. Innym wytłumaczeniem mogą być odmienne strategie usuwania RFT. Wydaje się, że nieenzymatyczne antyoksydanty odgrywają u *C. rudolphii* większą rolę niż u nicieni jelitowych ssaków, gdyż obecne są u wszystkich postaci tego pasożyta.

Zastanawiające jest to, że całkowita zdolność antyoksydacyjna u larw inwazyjnych *C. rudolphii* była znamienne niższa niż u larw L₄ i u dorosłych nicieni. Stadium to charakteryzowało się też znamienne niższą aktywnością transferazy glutationowej, peroksydazy glutationowej oraz katalazy. Jest to zastanawiające, gdyż jak wykazano w badaniach nad modelowymi nicieniami *Caenorhabditis elegans* przeżywalność oraz długość życia zależy od poziomu i sprawności układów antyoksydacyjnych, która się obniża wraz z wiekiem [34, 38]. Znaczenie układów antyoksydacyjnych dla przeżycia pasożytniczych nicieni potwierdziły też badania nad mechanizmem działania niektórych antyhelmintyków [33]. Obserwowane różnice, badanych parametrów bariery antyoksydacyjnej u larw stadium L₃ i u starszych postaci rozwojowych *C. rudolphii*, wynikać mogą z odmiennych środowisk bytowania tych form. Larwy L₃ rozwijają się w rybach – żywicielach pośrednich tego gatunku. Być może są to dla larw warunki mniej stresowe niż panujące w żołądku kormoranów (stres termiczny, hipoksja, niskie pH), gdzie szybko osiągają stadium L₄, mające zdecydowanie wyższe niż one zdolności do zmiatania wolnych rodników. Potwierdzenie tej sugestii wymaga jednak dalszych badań.

Literatura

- [1] Moravec F. 1994. Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Kluwer Academic Publication, Praha.
- [2] Yang T.B., Liao X.H., Zeng, B.P. 2000. Population ecology of *Contracaecum rudolphii* in the host *Gymnocypris przewalskii przewalskii* in the Qinghai Lake. *Acta Hydrobiologica Sinica* 24: 213–218.
- [3] Torres P., Ortega J., Schlatter R. 2005. Nematode parasites of the digestive tract in Neotropical cormorant chicks (*Phalacrocorax brasilianus*) from the River Cruces Ramsar site in southern Chile. *Parasitology Research* 97: 103–107.
- [4] Kuiken T., Leighton F.A., Wobeser G., Wagner B. 1999. Causes of morbidity and mortality and their effect on reproductive success in double-crested cormorants from Saskatchewan. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 332–346.
- [5] Dezfuli B.S., Volponi S., Beltrami, I., Poulin R. 2002. Intra- and interspecific density-dependence effects on growth in helminth parasites of the cormorant, *Phalacrocorax carbo sinensis*. *Parasitology* 124: 537–544.
- [6] Okulewicz A. 1989. Nicienie przewodu pokarmowego u *Gavia stellata* i *Gavia arctica* (Gaviidae). *Wiadomości Parazytologiczne* 35: 35–42.
- [7] Bartlett C.M. 1996. Morphogenesis of *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Ascaridoidea), a parasite of fish-eating birds, in its copepod precursor and fish intermediate hosts. *Parasite* 4: 367–376.
- [8] Kanarek G., Rokicki J. 2005. The status of studies on the helminth fauna of the great cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*) in northern Poland. *Wiadomości Parazytologiczne* 51: 165.
- [9] Li A.X., D'Amelio S., Paggi L., He F., Gasser R.B., Lun Z.R., Abollo E., Turchetto M., Zhu X.Q. 2005. Genetic evidence for the existence of sibling species within *Contracaecum rudolphii* (Hartwig, 1964) and the validity of *Contracaecum septentrionale* (Kreis, 1955). *Parasitology Research* 96: 361–366.
- [10] Dziekońska-Rynko J., Rokicki J. 2007. Life cycle of the nematode *Contracaecum rudolphii* Hartwig, 1964 (sensu lato) from northern Poland under laboratory conditions. *Helminthologia* 43: 95–102.
- [11] Szostakowska B., Fagerholm H.P. 2007. Molecular identification of two strains of third-stage larvae of *Contracaecum rudolphii* sensu lato (Nematoda: Anisakidae) from fish in Poland. *Journal of Parasitology*, 93: 961–964.
- [12] Zhu X.Q., D'Amelio S., Grasser R.B., Yang T.B., Paggi L., He F., Lin R.Q., Song H.Q., Ai L., Li A.X. 2007. Practical PCR tools for the detection of *Contracaecum rudolphii* A and *Contracaecum rudolphii* B (Ascaridoidea: Anisakidae) using genetic markers in nuclear ribosomal DNA. *Molecular and Cellular Probes* 21: 97–102.
- [13] Kračmar S., Baruš V., Tenora F. 2000. Amino acid contents in *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae), parasites of cormorants. *Helminthologia* 37: 237–239.
- [14] Żółtowska K., Łopieńska-Biernat E., Rokicki J., Dmitryjuk M. 2005. Glycosidases from *Contracaecum rudolphii* (Nematoda). *Acta Biochimica Polonica* 52, sup.1: 196.
- [15] Żółtowska K., Łopieńska-Biernat E., Rokicki J., Dmitryjuk M. 2007. Enzymes of trehalose metabolism from *Contracaecum rudolphii* (Nematoda). *Wiadomości Parazytologiczne* 53, sup.: 82.

- [16] Dziekońska-Rynko J., Rokicki J. 2005. Activity of selected hydrolases in excretion-secretion products and extracts of adult *Contraecaecum rudolphii*. *Wiadomości Parazytologiczne* 51: 227–231.
- [17] Mei H., Thakur A., Schwartz J., Lo Verde P.T. 1996. Expression and characterization of glutathione peroxidase activity in the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 64: 4299–4306.
- [18] Selkirk M.E., Smith V.P., Thomas G.R., Gounaris K. 1998. Resistance of filarial nematode parasites to oxidative stress. *International Journal for Parasitology* 28: 1315–1322.
- [19] Bruschi F., Lucchi N.W. 2001. Enzymatic antioxidants systems in helminth parasites: No doubt on their evasive role. *Acta Parasitologica* 46: 233–241.
- [20] Henkle-Dührsen K., Kampkötter A. 2001. Antioxidant enzyme families in parasitic nematodes. *Molecular and Biochemical Parasitology* 114:129–142.
- [21] Kulikowska-Karpińska E., Maniuszko-Jakoniuk J. 2004. The antioxidative barrier in the organism. *Polish Journal of Environmental Studies* 13: 5–13.
- [22] Bartosz G. 2003. Druga twarz tlenu. PWN, Warszawa.
- [23] Rokicki J. 2005. Możliwość zamknięcia cyklu rozwojowego *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) i *Contraecaecum rudolphii* (Hartwich, 1964) (Nematoda) w wodach Zalewu Wiślanego. *Wiadomości Parazytologiczne* 51: 239–241.
- [24] Baruš, V., Sergeeva, T.P., Sonnin, M.D., Ryzhikov, K.M. 1978. *Contraecaecum rudolphii* Hartwich, 1964. In: *Helminths of fish-eating birds of the Palaearctic region I. Nematoda*. (Eds. B. Ryšavy, K.M. Ryzhikov). Czechoslovak Academy of Sciences, Brno: 85–88.
- [25] Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R. 1991. Techniques in free radicals research. Elsevier. Amsterdam.
- [26] Aebi H.E. 1983. Catalase. In: *Methods of enzymatic analysis*. (Ed. H.V. Bergmeyer). Verlag Chemie, Weinheim, vol. 3: 277–282.
- [27] Rutkowski M., Grzegorzczak K., Greger J. 2002. Adaptation of the phosphotungstate method for the determination of vitamin C contents in animals and human tissues. *Zeitschrift für Naturforschung* 57c: 1062–1065.
- [28] Bradford J. 1976. A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
- [29] Hadaś E., Stankiewicz M. 1998. Superoxide dismutase and total antioxidant status of larvae and adults of *Trichostrongylus colubriformis*, *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta*. *Parasitology Research* 84: 646–650.
- [30] Brophy P.M., Patterson L.H., Pritchard D.L. 1995. Secretory nematode SOD- offensive or defensive? *International Journal for Parasitology* 25: 865–866.
- [31] Sanchez-Moreno M., Monteoliva M., Fatou A., Garcia-Ruiz M.A. 1988. Superoxide dismutase from *Ascaris suum*. *Parasitology* 97: 345–353.
- [32] Knox D.P., Jones D.G. 1992. A comparison of superoxide dismutase (SOD, EC: 1.15.1.1) distribution in gastrointestinal nematodes. *International Journal for Parasitology* 22: 209–214.
- [33] Srivastava J.K., Batra S., Gupta S., Katiyar J.C., Srivastava V.M.L. 1992. Effect of anthelmintics on the antioxidant system of *Nippostrongylus brasiliensis*. *Biochemical Pharmacology* 42: 289–293.
- [34] Darr D., Fridovich I. 1995. Adaptation to oxidative stress in young, but not in mature or old, *Caenorhabditis elegans*. *Free Radical Biology and Medicine* 18: 195–201.
- [35] Henkle-Dührsen K., Taun R.S., Wildenburg G., Eschbach M.L., Zipfel P., Walter R. D. 2001. Localisation and functional analysis of the cytosolic and extracellular CuZn superoxide dismutases in the human parasitic nematode *Onchocerca volvulus*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 88: 187–202.
- [36] Wu W.K., Mak C.H., Ko R.C. 2008. Cloning and differential expression of manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) of *Trichinella pseudospiralis*. *Parasitology* 102: 251–258.
- [37] Boczoń K. 2002. Pierwsze badania peroksyredoksyn – nowej rodziny antyoksydantów u pasożytów. *Wiadomości Parazytologiczne* 48: 3–10.
- [38] Honda Y., Honda S. 2002. Oxidative stress and life span determination in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 959: 466–474.

Wpłynęło 6 czerwca 2008

Zaakceptowano 18 lipca 2008