

УДК 597.554.3[591.3+577.125.38]

*А. А. Жиденко, В. В. Кривопиша*

**МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ СЕГОЛЕТОК И ДВУХЛЕТОК КАРПА К УСЛОВИЯМ ЗИМОВКИ**

**А**даптация — это способность организма видоизменяться в направлении, увеличивающем его шансы на выживание и размножение в данных условиях среды [12]. Она часто возникает как отклик на действие неблагоприятного фактора внешней среды (компенсаторная адаптация) и сопровождается восстановлением биохимических функций организма, что помогает ему преодолеть последствия нарушения жизнедеятельности. Эти изменения происходят в основном на функциональном уровне, но в то же время являются тем пусковым механизмом, который обеспечивает формирование системного структурного следа и осуществляется уже на уровне генетического аппарата, обуславливая структурные перестройки.

Ключевым звеном всех форм фенотипической адаптации является существующая в клетках взаимосвязь между функцией и генетическим аппаратом [11]. Через эту взаимосвязь функциональная нагрузка, вызванная действием фактора внешней среды, приводит к увеличению синтеза нуклеиновых кислот и белков и, как следствие — к формированию системного структурного следа. Последний представляет собой комплекс структурных изменений, который обеспечивает расширение звена, лимитирующего функцию клеток, и тем самым увеличивает физиологическую мощность функциональной системы, ответственной за адаптацию [11]. Вторая форма адаптации — эксплуатативная, или наступательная [12], характеризуется более радикальными биохимическими изменениями, придающими организму новые благоприятные для него свойства; она как бы предшествует действию неблагоприятных факторов и готовит к нему организм.

Известно, что энергообеспечение клеток является тем лимитирующим механизмом, который определяет рост и развитие организма [6, 8]. Переход от одного этапа развития к другому обеспечивается двумя главными механизмами: 1) генетически запрограммированными и 2) регулируемые изменяющимися условиями среды [12]. При этом в ответной реакции организма на действие среды используются основные стратегии биохимической адаптации: количественные и качественные изменения макромолекул, их микроокружения и скорости ферментативных реакций.

© Жиденко А. А., Кривопиша В. В., 2004

Целью настоящей работы было выяснить, одинаковы ли формы метаболической адаптации сеголеток и двухлеток в условиях зимовки. В число основных задач входило выявление тождественности изменений содержания кетоновых тел в функционально важных тканях двух возрастных групп рыб в условиях зимнего голодания. Известно, что в процессе жизнедеятельности кетоновые тела при окислении могут выступать как дополнительный источник энергии, а также служить регуляторами метаболизма [1, 16]. Отмечена роль кетоновых тел в условиях зимнего голодания [6] и под влиянием абиотических и антропоических факторов среды [5].

**Материал и методика исследований.** В исследованиях использовали сеголеток и двухлеток карпа (*Cyprinus carpio* L.), выращенных по стандартной технологии. В начале, середине и по окончании зимовки из зимовального пруда № 2 Черниговского рыбопитомника отбирали по 20 экз. и помещали их в 200-литровые аквариумы с отстоянной водопроводной водой. Гидрохимический режим воды контролировали с помощью прибора Horiga модели U-7 (Япония). Содержание кислорода —  $5,6 \pm 0,4$  мг/л, рН  $7,4 \pm 0,25$ ; температуру выдерживали как в естественном водоеме в зависимости от сезона года.

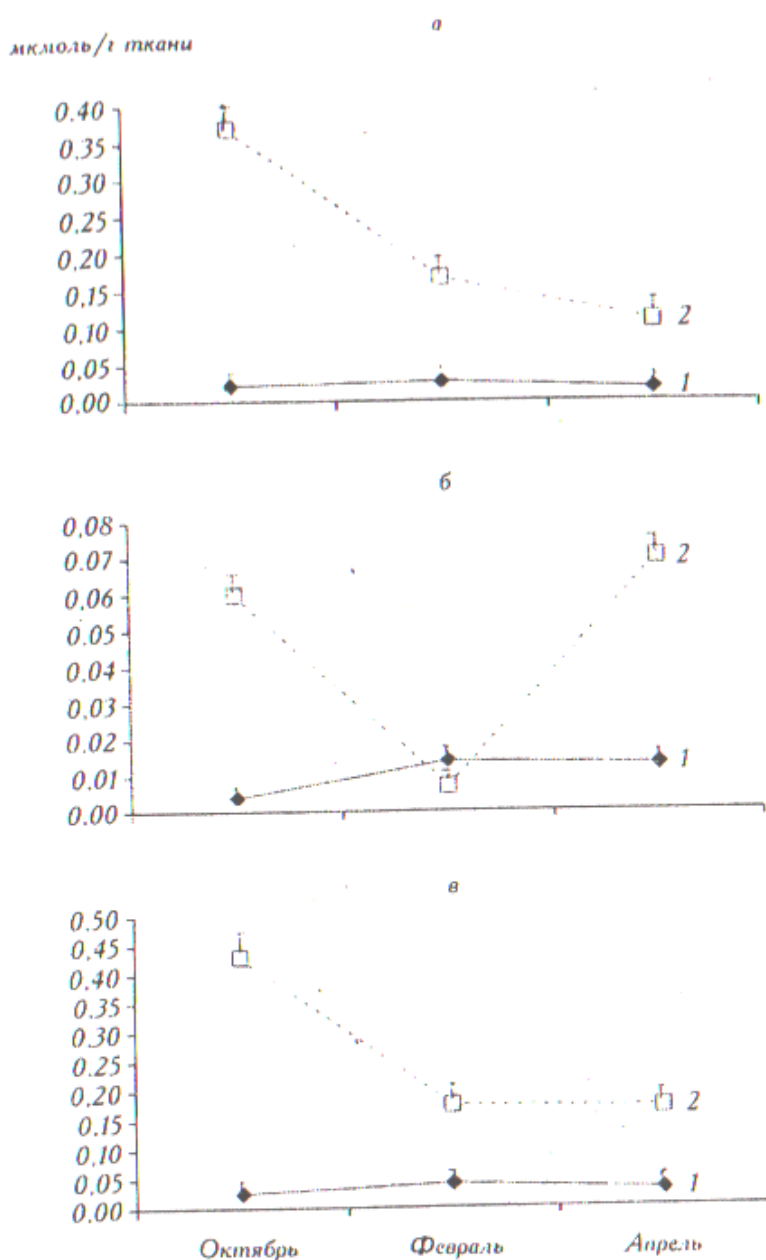
Содержание кетоновых тел определяли в белых мышцах, печени и мозге методом, описанным ранее [3], в нашей модификации [6]. Митохондрии выделяли, используя общепринятую методику [7].

$\beta$ -Оксибутиратдегидрогеназную активность регистрировали спектрофотометрически по восстановлению  $NAD^+$  [4, 14]. Содержание белка в ферментативных препаратах определяли по методу О. Лоури и соавт. [15]. Результаты обработаны статистически [10].

### Результаты исследований и их обсуждение

Содержание кислорода, рН и температура воды в водоеме и в лабораторных аквариумах на протяжении зимовки находились в пределах нормы, соответствуя сезону года. Факторами, влияющими на изменение концентрации кетоновых тел в белой мускулатуре, печени и мозге рыб, были голодание и низкая температура. Наименьшая концентрация кетоновых тел в октябре отмечена в белой мускулатуре сеголеток: содержание ацетоацетата + ацетона в мышцах равно  $0,022 \pm 0,001$ , что почти в 2 раза ниже, чем в печени и мозге,  $\beta$ -оксибутирата —  $0,004 \pm 0,000$ , что соответственно в 8 и 2,5 раза ниже (рис. 1—3).

Установленные различия объясняются тем, что в качестве резервного энергетического материала при эндогенном питании (вхождение в зимовку) первыми расходуются липиды мышц [8] — до 30% общих потерь организма [2]. Однако накопления кетоновых тел, образовавшихся при метаболизме липидов, в мышечной ткани не наблюдается вследствие высокого уровня в ней  $\beta$ -оксибутиратдегидрогеназной активности, которая более чем в 4 раза выше, чем в печени, и более чем в 2 раза — в мозге (таблица).

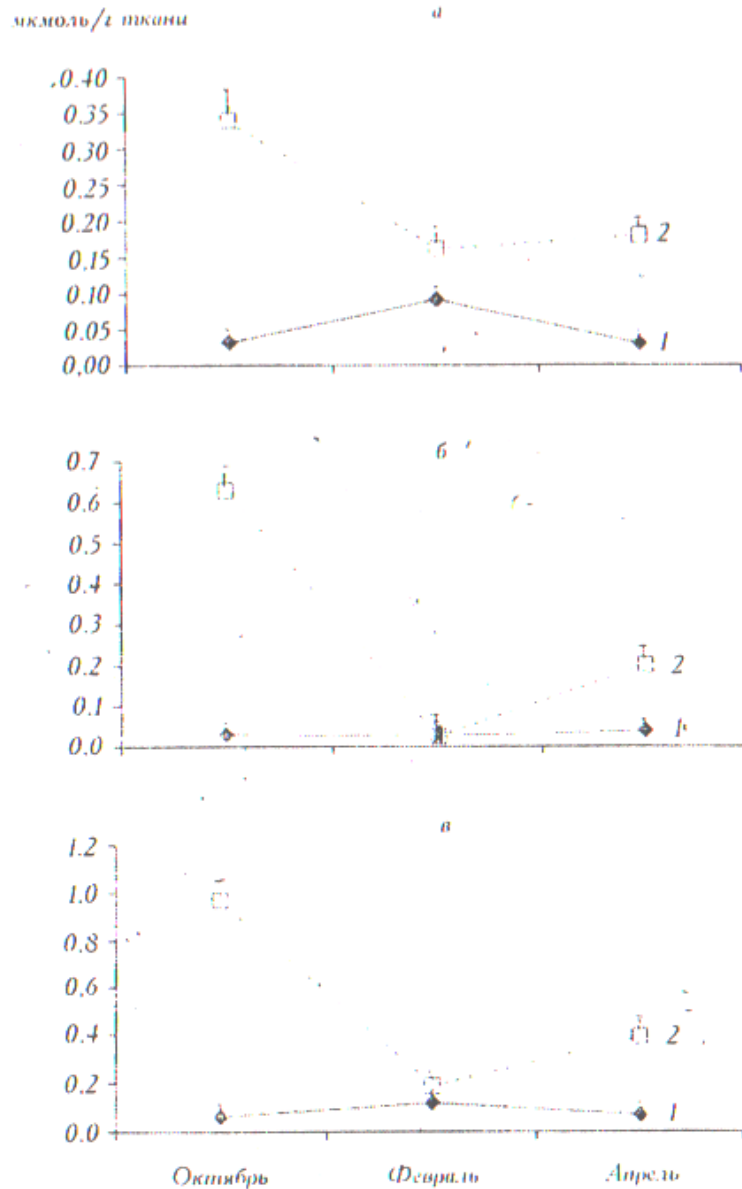


1. Сезонная динамика содержания кетоновых тел в мышцах карпа. Здесь и на рис. 2, 3: а — ацетон + ацетоацетат; б — β-оксибутират; в — сумма кетоновых тел; 1 — сеголетки; 2 — двухлетки ( $M \pm m, n = 6$ ).

осуществляется адаптивный механизм синтеза кетоновых тел в печени и направление их в периферические ткани, в первую очередь в мозг и мышцы, в качестве дополнительного источника энергии [6], что является примером компенсаторной адаптации [12]. Доказательством этого служит также более высокая β-оксибутиратдегидрогеназная активность в периферических тканях (см. таблицу) по сравнению с печенью, в которой она практически не меняется, что свидетельствует об отсутствии здесь утилизации кетоновых тел.

Тенденция наименьшей концентрации кетоновых тел именно в белых мышцах сеголеток сохраняется на протяжении зимовки. В опытах, проведенных к ее середине (февраль) при температуре воды 3,5°C, в мышцах обнаружено увеличение в 3,5 раза содержания β-оксибутирата ( $0,014 \pm 0,001$  мкмоль/г ткани), которое все же меньше, чем в печени и мозге. В то же время возрастает в 3 раза количество ацетоацетата в печени и обоих веществ — в мозге. К окончанию зимовки в апреле концентрация кетоновых тел снижается во всех исследуемых тканях, за исключением печени, где различия в результатах недостоверны. Таким образом, в тканях пойкилотермных животных, как и при голодании млекопитающих [4, 13], наблюдается увеличение содержания кетоновых тел, поскольку запасы глюкозы у рыб в этих тканях недостаточны [9]. При этом

Сравнивая динамику содержания кетоновых тел в тканях сеголеток и двухлеток в течение зимовки, следует отметить, что в мышцах, печени и мозге двухлеток карпа этот показатель на порядок выше, чем в соответствующих тканях сеголеток. При этом изменения концентрации кетоновых тел в тканях двухлеток в процессе зимовки также иные. Наиболее высокий их уровень отмечен в октябре (время начала зимовки). Это объясняется возможным формированием у двухлеток к началу зимовки системного структурного следа в виде некоторого накопления кетоновых тел, которые начинают интенсивно расходоваться к ее середине, а не просто происходящим снижением уровня всех запасных питательных веществ, и в первую очередь липидов, в процессе



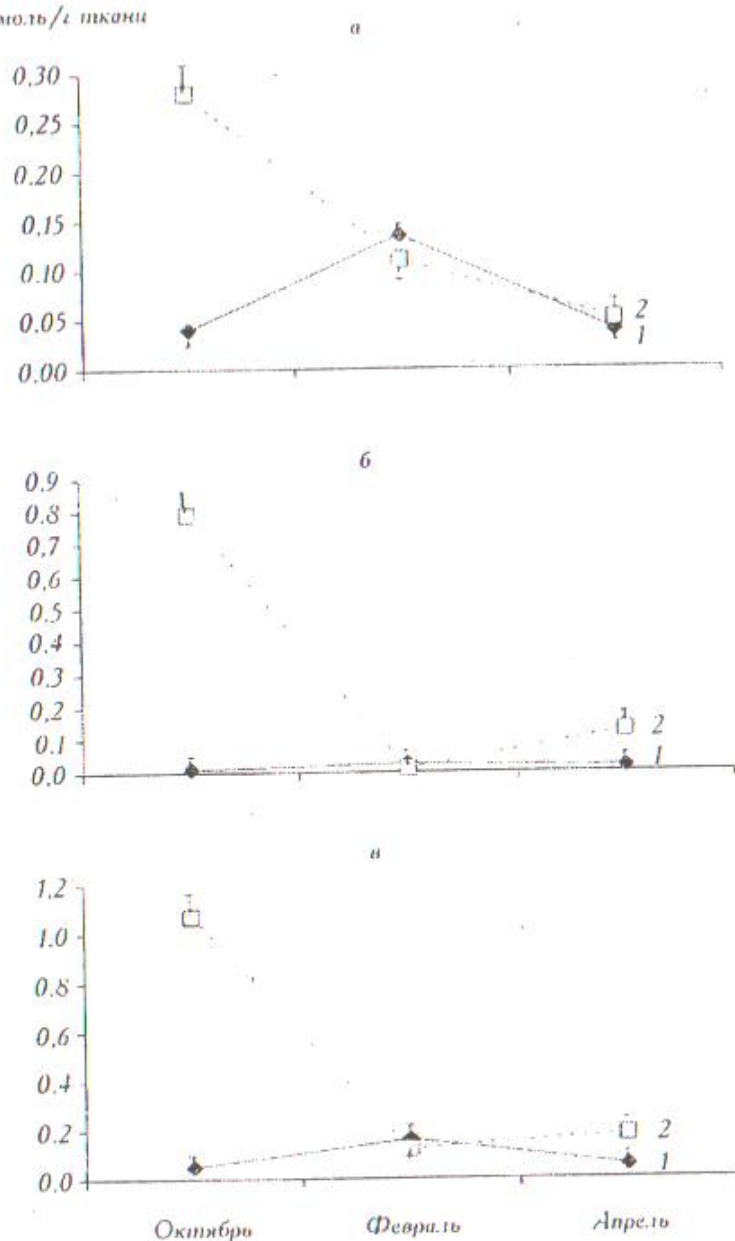
2. Сезонная динамика содержания кетоновых тел в печени карпа.

$\beta$ -Оксибутиратдегидрогеназная активность в мышцах, печени и мозге сеголеток карпа в процессе зимовки (нмоль  $\text{NAD}^+$  на 1 мг белка за 1 мин;  $M \pm m$ ,  $n = 9$ )

| Ткани  | Октябрь         | Февраль           | Апрель            |
|--------|-----------------|-------------------|-------------------|
| Мышцы  | $7,16 \pm 1,00$ | $0,95 \pm 0,10^*$ | $1,04 \pm 0,52^*$ |
| Печень | $1,54 \pm 0,18$ | $2,02 \pm 0,23$   | $1,65 \pm 0,38$   |
| Мозг   | $3,03 \pm 0,23$ | $2,05 \pm 0,45^*$ | $1,75 \pm 0,20^*$ |

\* Различия по отношению к показателям октября и между исследуемыми группами статистически достоверны,  $p < 0,001-0,05$ .

мкмоль/г ткани



3. Сезонная динамика содержания кетоновых тел в мозге карпа.

тельный), т. е. организм карпа-двухлетки как бы заблаговременно готовит себя к испытанию зимним голоданием, что проявляется в качественном и количественном изменении содержания кетоновых тел в тканях. Особенно четко прослеживается эта тенденция в печени и мозге [12].

### Заключение

Таким образом, синтез кетоновых тел у молоди карпа можно рассматривать как компенсаторный ответ на действие неблагоприятных факторов — низкой температуры и голодания. В результате мозг получает дополнительный источник энергии для поддержания энергетического гомеостаза и гомеореза в отсутствие экзогенного питания. Выявленные закономерности энергетического обмена в

зимнего голодания [8]. Среди тканей по общей сумме кетоновых тел в октябре лидирует мозг (см. рис. 3), а в феврале и апреле — печень (см. рис. 2). При этом содержание ацетоацетата в октябре ( $0,37 \pm 0,03$  мкмоль/г ткани) максимально в мышцах,  $\beta$ -оксибутирата ( $0,79 \pm 0,10$  мкмоль/г ткани) — в мозге. К февралю происходит снижение уровня как отдельных представителей, так и суммы кетоновых тел (см. рис. 1—3). К апрелю ответная реакция многопланова и разнообразна: увеличение содержания  $\beta$ -оксибутирата и снижение ацетоацетата в мозге и мышцах при некотором увеличении — в печени. Можно предположить переход одной формы адаптации — компенсаторной на новый уровень — эксплуативный (наступа-

тканях двухлеток карпа указывают на более радикальные биохимические изменения, вследствие чего организм приобретает новые благоприятные для него свойства, что выражается в возникновении эксплуатативной формы адаптации.

\*\*

*Досліджено сезонну динаміку (жовтень, лютий, квітень) кетонових тіл (ацетоацетат, ацетон, β-оксибутират) у м'язах, печінці і мозку цьоголіток і дволіток коропа. Крім того, у цьоголіток визначено рівень β-оксибутиратдегідрогеназної активності у тих же тканинах. Синтез кетонових тіл у цьоголіток у відповідь на дію низької температури і голодування — це приклад компенсаторної адаптації. В результаті при відсутності екзогенного живлення мозок одержує додаткове джерело енергії для підтримання енергетичного гомеостазу та гомеорезу. Виявлені закономірності енергетичного обміну в тканинах дволіток коропа свідчать про більш радикальні біохімічні зміни, які додають організму нові позитивні властивості, що виявляється у виникненні експлуатативної форми адаптації.*

\*\*

*Season changing (October, February, April) in keton bodies content (acetoacetate, acetone, β-hydroxybutyrate) in muscle, liver and brane of common carp (0+; 1+). Standard of β-oxubutyrate-dehydrogenase activity in the same tissues was determined. It is established that synthesis of keton bodies in the current-year-old carp tissues as a result of low temperature influence is an example of compensatory adaptation. Regularities of metabolism revealed in last-summer-old carp tissues indicates biochemical changes wich further under the energy homeostasis in fish under harmful conditions.*

\*\*

1. Анিকেєва С.П., Панченко Л.Ф., Штернберг Ю.М. Биохимические и регуляторные функции кетонových тел в организме // *Вопр. мед. химии.* — 1987. — 33, № 6. — С. 11—23
2. Баженова К.Я., Маханько В.А. Участие различных органов и тканей в эндогенном питании сеголетков карпа в зимний период // *Сб. науч. тр. ВНИИПРХ.* — М.: Б. и., 1975. — 12. — С. 70—75.
3. Баев В.И., Булах Е.И. Способ определения кетонových тел в тканях // *Материалы IV конференции и выступлений по изобретению и рационализации в медицине.* — Л.: Медицина, 1973. — С. 89—90.
4. Булах Е.И., Баев В.И., Братцева С.А. Кетонových тела в тканях животных при острой гипоксии, охлаждении и измененной газовой среде // *Укр. биохим. журн.* — 1974. — 46, № 1. — С. 96—100.
5. Жигенко А.А., Грубинко В.В., Смольский А.С., Явоненко А.Ф. Влияние абиотических факторов среды на образование кетонových тел у рыб // *Гидробиол. журн.* — 1994. — 30, № 2. — С. 87—92.
6. Жигенко А.А., Грубинко В.В., Явоненко А.Ф. Роль кетонových тел в энергообеспечении пойкилотермных организмов в условиях зимнего голодания // *Укр. биохим. журн.* — 1990. — 62, № 5. — С. 72—76.
7. Зинич В.Н. Метод измерения 2-оксоглутаратдегидрогеназной активности интактных митохондрий // *Там же.* — 1986. — 58, № 2. — С. 73—77.
8. Лав Р.М. *Химическая биология рыб.* — М.: Пищ. пром-сть, 1976. — 187 с.