

осуществляет не только собственные аноректические эффекты, но и может участвовать в качестве медиатора в эффектах серотонина, активируя CRF-нейроны, которые в свою очередь ингибируют серотонинергическую трансмиссию. При этом отсутствие эффекта при внутрибрюшинном введении 5-НТ объяснялось крайне слабым его проникновением через гематоэнцефалический барьер. Однако в последние годы была доказана как возможность проникновения молекул 5-НТ из пищеварительного тракта в кровь, так и возможность преодоления ими гематоэнцефалического барьера.

Эти факты дают основания полагать, что в регуляции потребления пищи у рыб участвуют как центральные, так и периферические механизмы. Это предположение подтверждается сведениями о том, что у млекопитающих 5-НТ действует как периферический посредник сытости. При этом в реализацию ингибиторного действия серотонина включены рецепторы двух типов – 5-НТ1В 5-НТ2С. Более того, известно, что в состав кишечного эпителия входят enteroхромаффинные клетки, вырабатывающие серотонин. Этот факт делает понятным то обстоятельство, что 5-НТ стимулирует секрецию ферментов поджелудочной железы, воздействует на моторику желудочно-кишечного тракта, а также, по-видимому, индуцирует эффекты гормонов. Возможность вовлечения инсулина в эффекты 5-НТ подтверждается двумя обстоятельствами. При введении рыбам инсулина не только выявлено дозозависимое снижение потребления пищи, но и отмечено значительное изменение уровня гликемии. Так, через 30 мин после введения 5-НТ уровень гликемии снижается в 5.3 раза по сравнению с контролем, что обычно наблюдается при введении инсулина. О вовлечении других гормонов в регуляцию гликемии свидетельствует колебательный характер ее изменения. Действительно, уже через 3 ч после введения 5-НТ уровень гликемии увеличивается в 11.5 раз (от 1.6 до 18.4 ммоль/л). Этот факт может свидетельствовать об увеличении секреции адреналина и кортизола, ингибирующее влияние которых на пищевое поведение рыб хорошо документировано. Вовлечение адреналина подтверждается наблюдающейся при этом дефекацией, обусловленной усилением моторики желудочно-кишечного тракта рыб. Через сутки уровень гликемии приближается к норме. Также не исключено влияние серотонина на эффекты глюкагона, холецистокинина и мелатонина. На вовлечение гормонов указывает и тот факт, что в наших опытах наблюдалось колебательное пролонгированное влияние серотонина как на рацион рыб, так и на их двигательную активность. Помимо этого, опосредованное влияние на эффекты 5-НТ оказывает физиолого-биохимический статус рыб. В частности, в условиях голодания или недостаточного питания эффекты 5-НТ усиливаются.

Таким образом, на примере карпа впервые показано, что серотонин, введенный периферически (внутрибрюшинно или внутримышечно), пролонгированно влияет на различные аспекты пищевого поведения рыб: снижает уровень адаптивного любопытства, замедляет скорость пищевой реакции и время питания, а также уменьшает рацион рыб. Имеющиеся данные свидетельствуют о возможности не только прямого, но и опосредованного влияния периферически введенного 5-НТ как на пищевое поведение рыб, так и на активность пищеварительных гидролаз. Полученные данные расширяют сведения о действии серотонина на различные характеристики пищевого поведения и пищеварения, существенно дополняя представления о роли этого моноамина в регуляции экзотрофии у рыб.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 09-04-00075).

ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГИДРОЛАЗ КОНСУМЕНТОВ, ЖЕРТВ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ (НА ПРИМЕРЕ РЫБ)

В.В. Кузьмина¹, Е.Г. Скворцова², М.В. Шалыгин²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Ярославская обл., Россия
vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru

² ФГОУ ВПО Ярославская государственная сельскохозяйственная академия, Ярославль, Россия
kafiza@mail.ru

Температура – один из важнейших факторов, влияющих на активность ферментов у пойкило-термных животных. Изучение влияния температуры на активность пищеварительных гидролаз у рыб имеет почти 140-летнюю историю (Fick, Murisier, 1873). Вместе с тем ранее, как правило, исследовались только характеристики ферментов слизистой оболочки пищеварительного тракта. Опи-

сание механизма индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения позволило пересмотреть схему пищеварения у рыб (Кузьмина, 1996). Однако до последнего времени изучению температурных характеристик гидролаз объектов питания и энтеральной микробиоты рыб уделялось слабое внимание, несмотря на то, что они являются одним из инструментов исследования адаптивных перестроек ферментов. Ранее при изучении влияния температуры на активность гликозидаз и протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения, были выявлены существенные различия t° -функции, а также величин Q_{10} и энергии активации ($E_{\text{акт}}$) ферментов у рыб, различающихся по характеру питания и пищевой активности в течение годового цикла. Было показано, что наибольшая адаптивная изменчивость характерна для пепсина и α -амилазы, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белков и углеводов (Кузьмина, 1985, 2005; Уголев, Кузьмина, 1993). Сведения о температурных характеристиках гидролаз, реализующих полостное пищеварение у рыб из естественных популяций, а также о влиянии температуры на активность протеиназ тканей целого организма жертв и энтеральной микробиоты до начала наших работ отсутствовали.

Сопоставление результатов изучения влияния температуры на активность протеиназ химуса и слизистой оболочки кишечника у ряда видов рыб по казеину (преимущественно активность трипсина) и по гемоглобину (преимущественно активность химотрипсина) показало, что характер t° -функции ферментов у рыб разных видов различен. Так, температурный оптимум ферментов слизистой по обоим субстратам у тюльки находится при 40, у судака и плотвы в зоне 50, у синца – 60°C, по гемоглобину – у плотвы при 40°C, но зона парамаксимальной активности исключительно широка (20–50°C). Температурный оптимум протеиназ химуса у большинства видов рыб находится при 50°C, но у плотвы зона парамаксимальной активности значительно шире (30–60°C), чем у других видов. Относительная активность протеиназ слизистой по казеину при 0°C колеблется от 1.3 до 45.7%, по гемоглобину – от 6.5% до 20.0% от максимальной активности, принятой за 100. Относительная активность протеиназ химуса при 0°C по обоим субстратам колеблется от 6.1 до 46.0% от максимальной активности. В зоне постмаксимальных температур наблюдаются еще более значительные различия. Так, при 70°C относительная активность протеиназ слизистой и химуса у плотвы по казеину составляет 5.6 и 88.0, у синца – 46.0 и 40.6, у тюльки – 46.0 и 80.0% от максимальной активности. У судака эти величины близки – 66.9 и 68.1%. Различия в уровне относительной активности протеиназ по гемоглобину в этой зоне, как правило, ниже по сравнению с таковыми казеинлитических протеиназ. Различия температурных характеристик слизистой и химуса свидетельствуют о том, что характеристики последних в значительной мере обусловлены наличием в составе химуса ферментов жертв и энтеральной микробиоты.

Величины кажущейся $E_{\text{акт}}$ протеиназ, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника и химуса, также различны. Так, в диапазоне 0–30°C величины $E_{\text{акт}}$ протеиназ слизистой кишечника по казеину у плотвы и синца близки (12.4 и 12.5 ккал/моль), у судака ниже (9.1 ккал/моль). Для тюльки характерно наличие излома на графике Аррениуса при температуре 10°C. Увеличение температуры приводит к уменьшению величины параметра от 7.4 до 5.4 ккал/моль. Значения $E_{\text{акт}}$ протеиназ химуса по казеину и гемоглобину в большинстве случаев в зоне 0–10°C в 1.2–1.5 раз выше, чем в зоне 10–30°C, особенно у плотвы – 8.6 и 2.8, а также 7.8 и 1.5 ккал/моль соответственно. При этом величины кажущейся $E_{\text{акт}}$ протеиназ слизистой оболочки кишечника по казеину, как правило, выше, чем по гемоглобину, а протеиназ химуса ниже, чем ферментов слизистой оболочки. Наиболее низкие значения параметра при температуре активного питания выявлены при исследовании протеиназ химуса плотвы.

На примере планктофага – факультативного ихтиофага тюльки, играющей роль и консумента, и жертвы, было показано, что характеристики протеиназ целого организма рыб значительно отличаются от таковых слизистой оболочки. Так, относительная активность протеиназ слизистой по казеину и гемоглобину при 0°C ниже, чем при 20°C в 4.8 и 3.4 раза, в целом организме – 2.5 и 1.8 раза соответственно. Относительная активность гемоглобинлитических протеиназ (преимущественно катепсин D) в целом организме беспозвоночных животных – потенциальных объектов питания бенто- и планктофагов, в зоне низких температур выше, а значения $E_{\text{акт}}$ – ниже по сравнению с таковыми протеиназ кишечника консументов.

При изучении температурных характеристик энтеральной микробиоты у тех же видов рыб были получены противоречивые результаты. Так, характер t° -функции ферментов у судака по казеину в значительной мере близок таковой слизистой оболочки кишечника, у плотвы и окуня – отличается, несмотря на одинаковый температурный оптимум (50°C). При 0°C величина относительной активности протеиназ микробиоты судака составляет 9, плотвы 13, окуня 38% максимальной активности. Кроме того, для плотвы характерна более узкая зона оптимальных значений. При 70°C относительная активность протеиназ микробиоты судака составляет 8, плотвы – 15, окуня – 34%. Характер t° -функции протеиназ энтеральной микробиоты по гемоглобину отличается от такового слизистой оболочки кишечника рыб. Особо следует отметить, что температурный оптимум протеиназ микробиоты плотвы (60°C) выше, чем у окуня и судака (50°C). При 0°C величина относительной активности протеиназ микробиоты окуня составляет 24, судака и плотвы – лишь 1 и 3%, при 70°C – у судака 4, у окуня 17, у плотвы 28% от максимальной активности. Однако относительная активность ферментов микроорганизмов, десорбированных с тегумента цестод, обитающих в полости кишечника рыб (щука, налим), значительно выше таковой протеиназ слизистой оболочки кишечника у этих же видов рыб. При этом температурный оптимум ферментов налима соответствует 50°C , щуки – 60°C . Величина относительной активности протеиназ при 0°C в зависимости от pH у щуки составляет 32–55%, у налима – 43–65% от максимальной активности, принятой за 100 (Кузьмина, Первушина, 2003).

Таким образом, характер t° -функции протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб, химуса и энтеральной микробиоты по казеину и гемоглобину различны. В ряде случаев выявлены адаптивные изменения температурных характеристик исследованных гидролаз. При этом адаптации протеиназ к функционированию при низких температурах реализуются не только за счет изменения характеристик ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб, но и за счет адаптивных перестроек ферментов объектов питания и энтеральной микробиоты, обеспечивающих процессы индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 09-04-00075).

КОНЦЕНТРАЦИЯ МАЛЫХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУНОКОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

Н.С. Кузьмина

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
kunast@rambler.ru

Для характеристики различной степени воздействия антропогенной нагрузки в ихтиотоксикологии используются такие физиологические и биохимические показатели как индексы внутренних органов, активность ферментов, содержание низкомолекулярных антиоксидантов, ряд иммунологических параметров, отражающих детоксикационную и адаптивную способность организма, проводятся гистологические анализы печени, половых продуктов, оценивается содержание различных токсичных элементов в тканях рыб и др.

Информативность ихтиологических исследований зависит от чувствительности анализируемых параметров к действию природных и антропогенных факторов. Изучение физиологических и биохимических показателей позволяет получить данные о здоровье рыб (популяции), и, в частности, понять механизмы откликов животных на изменяющиеся условия обитания. В этом отношении показатель концентрации циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК), широко используемый в клинической диагностике, по причине своей информативности и чувствительности, также можно использовать в водной токсикологии. К настоящему времени, имеется ограниченное количество публикаций, включающих анализ изменения ЦИК в крови и тканях теплокровных и холоднокровных животных.

Цель настоящей работы – определить концентрацию циркулирующих иммунокомплексов в крови некоторых видов черноморских рыб.