БИОЛОГИЯ

УДК 574.522

DOI: 10.21779/2542-0321-2018-33-2-74-80

М.М. Габиров, А.И. Рабаданова

Возрастная динамика пептидгидролазной активности тканей карповых рыб

Дагестанский государственный университет; Россия, 367001, Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а; phiziolog1@yandex.ru

Изучена возрастная динамика пептидгидролазной активности тканей карповых рыб (карпа, толстолобика белого, амуре белого). Показана зависимость активности нейтральной пептидгидролазы от типа ткани и возраста рыб. У всех возрастных групп карпа и толстолобика белого наибольшей активностью протеолиза и автолиза обладает печень, у амуре белого – красные мышцы, наименьшей – белые мышцы у всех исследованных групп. Активность нейтральной пептидгидролазы изменялась в зависимости от возраста карповых рыб. Обнаружено возрастание ее активности у всех исследованных рыб от сеголеток к годовикам и ее дальнейшее снижение у трехлеток. На протяжении исследованных периодов онтогенеза у всех видов карповых рыб наиболее активна протеолитическая система печени и красных мышц. Данная закономерность обуславливает видовую специфичность, проявляющуюся в наибольшей активности протеолитической и автолитической систем печени у амуре белого, тогда как у толстолобика белого активность протеиназ выше в красных мышцах. В целом отмечается наиболее активная протеолитическая система тканей толстолобика белого по сравнению с карпом и амуром белым. Повышение протеолитической и автолитической активности в тканях годовиков карповых рыб, очевидно, связано с возрастанием интенсивности белкового обмена на данном этапе онтогенеза.

Ключевые слова: *протеолиз, автолиз, карповые рыбы, сеголетки, годовики, трехлетки.*

В настоящее время в литературе широко представлены данные о возрастных колебаниях биохимических параметров рыб. У животных, в том числе у рыб, с возрастом отмечено снижение синтеза структурных белков и ферментов, происходит повреждение макромолекул, субклеточных и клеточных структур, которые могут усиливать негативные процессы в тканях и органах [1–3].

Отдельные периоды онтогенеза характеризуются различной степенью выраженности процессов синтеза и распада белков их модификации [4, 5].

С возрастом отмечается снижение интенсивности синтеза белков в тканях рыб. В период зрелого состояния организма рыб увеличивается доля генеративного обмена и снижается эффективность использования ассимилированной пищи на прирост соматических тканей. Это требует постоянно возрастающих затрат пластических и энергетических веществ [6, 7].

В связи с возрастным снижением синтеза белка в организме рыб на фоне постоянно увеличивающихся затрат на генеративный обмен с каждым последующим нерестом увеличивается степень посленерестового истощения рыб [8, 9].

Рыбы растут неравномерно как в течение жизни, так и в течение всего года. Причем в разные периоды роста свойственны определенные особенности. Прежде всего это

различия в характере созревания рыб в период половой зрелости. Обычно до наступления половой зрелости рыбы растут наиболее активно. Пища используется ими в основном на весовой, главным образом на линейный прирост, т. е. является в основном продуцирующей. Поэтому в первые годы жизни, как правило, происходит наиболее быстрое нарастание линейных размеров. После наступления половой зрелости темп роста снижается, но наращивание массы тела продолжается. Значительная часть потребляемой пищи расходуется на образование половых продуктов и накопление резервных веществ, обеспечивающих созревание гонад, благополучный исход зимовки, миграции и т. д. С возрастом доля продуцирующей пищи уменьшается и соответственно увеличивается часть пищи, идущей на поддержание жизнедеятельности.

В регуляции обмена белков важную роль играют тканевые пептидгидролазы, которые действуют на первом ключевом этапе мобилизации белковых резервов клетки, поэтому велика их роль в механизмах биохимических адаптаций. Изменение их активности может служить одним из показателей состояния белкового обмена организма [10, 11].

Цель нашей работы – выявление возрастных изменений пептидгидролазной активности тканей карповых рыб.

Материал и методы

Объектом исследования нами выбраны наиболее распространенные в Широкольском рыбокомбинате промысловые рыбы семейства карповых – карп (*Cyprinus carpio*), толстолобик белый (*Hypophthalmichthys molitrix*) и амур белый (*Ctenopharyngodon idella*).

Рыбы разного возраста (сеголетки рыб в возрасте 6 месяцев, годовики и трехлетки) отлавливались перед их переброской в зимовальные пруды и были перевезены в специальных мешках с кислородом.

Для исследования брали печень, почки, белые и красные мышцы рыб. Протеолитическую и автолитическую активность определяли при pH = 7,0 в 1 % гомогенатах тканей *колориметрически* модифицированным методом Lowry e.a. (1951) [12]. Принцип метода заключается во взаимодействии ароматических аминокислот (тирозина) с реактивом Фолина с образованием окрашенных продуктов. В качестве субстрата для тканевых пептидгидролаз использовали 0,5 % гемоглобин на трис-буфере. Субстратами для автолиза служили тканевые белки. Инкубацию проб проводили в течение 60 мин. при температуре тела рыб.

Полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке методом малой выборки [13]. Построение диаграмм осуществлено при помощи пакета Excel 7.0.

Результаты и их обсуждение

Результаты наших исследований по возрастной динамике нейтральной пептидгидролазной и автолитической активности тканей карповых рыб приведены на рис. 1, 2.

Из представленных материалов видно, что активность нейтральной пептидгидролазы находится в зависимости от типа ткани и возраста рыб (рис. 1). Во всех возрастных группах карпа и толстолобика белого наибольшей активностью протеолиза и автолиза обладает печень, у амура белого – красные мышцы. Наименее выражена протеолитическая и автолитическая активность в белых мышцах исследованных видов рыб.

Рис. 1. Возрастная динамика протеолитической активности тканей карповых рыб

Анализ протеолитической активности печени и красных мышц всех изученных видов рыб обнаружил сходные изменения, выражающиеся в повышении активности нейтральной пептид-гидролазы у годовиков с последующим снижением у трехлеток (рис. 1). При этом обращает на себя внимание, что во все возрастные периоды у карпа наибольшей протеолитической активностью обладает печень, тогда как у амура белого – красные мышцы. Возрастная динамика протеолиза в органах толстолобика белого не столь однозначна: у сеголеток и трехлеток данного вида рыб преобладает протеолитическая активность печени, у годовиков красных мышц. Что касается почек, можно отметить более выраженную возрастную динамику активности протеолиза данного органа у карпа, сходную с отмеченной нами активностью в печени и красных мышцах. В почках же остальных видов рыб активность нейтральной пептидгидролазы повышается у годовиков по сравнению с сеголетками и остается на том же уровне у трехлеток. Наименьшим возрастным изменениям подвержена протеолитическая активность белых мышц.

Изучение активности ферментов по гидролизу эндогенных белков показало, что характер возрастных изменений автолитической активности находится в зависимости от видовых особенностей рыб (рис. 2).

Рис. 2. Возрастная динамика автолитической активности тканей карповых рыб

Так, у карпа возрастные изменения автолитической активности всех тканей (особенно печени и красных мышц) носят линейный характер, т. е. наиболее интенсивно автолиз протекает у трехлесток. У толстолобика белого отмечается несколько иная картина, выражающаяся в росте автолитической активности всех тканей у годовиков по сравнению с сеголетками с дальнейшими незначительными изменениями у трехлесток. Сходные изменения обнаружены нами также у амуре белого, однако, обращает на себя внимание более выраженная автолитическая активность красных мышц во все возрастные периоды. Возрастная динамика автолиза остальных органов амуре белого не столь явно выражена.

Результаты, полученные в ходе данного исследования, указывают на более выраженную интенсивность протеолиза и автолиза в тканях толстолобика белого по сравнению с другими видами карповых рыб, что согласуется с данными других авторов [14, 15], указывающих на более активную ферментативную систему мышц и внутренностей у толстолобика.

Можно предположить, что одной из причин неодинаковой активности ферментов является разная скорость обмена веществ у данных видов рыб.

При рассмотрении тканевых различий нами отмечена более высокая протеолитическая активность в метаболически активных тканях (печень и красные мышцы), что указывает на их важную роль в адаптации к возрастным внутренним перестройкам организма на биохимическом уровне.

Повышение протеолитической и автолитической активности в тканях годовиков карповых рыб по сравнению с другими возрастными группами, очевидно, связано с возрастанием интенсивности белкового обмена на данном этапе онтогенеза карповых рыб.

На основании полученных результатов можно заключить, что увеличение активности протеолитических ферментов в клетках печени и красной мышечной ткани у рыб с возрастом обусловлено в основном увеличением защитных возможностей организма на более поздних стадиях онтогенеза. Можно предположить участие указанных ферментов в таких процессах, как адаптация на уровне внутриклеточного метаболизма, осуществление защитных реакций организма, определяющих направленность обменных процессов и обеспечивающих его устойчивость к меняющимся факторам внешней среды.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования Ю.А. Подунай с соавторами [16], которые в мышечной ткани особой морского ерша, относящихся к старшим возрастным группам, обнаружили продукты окисления белков.

В литературе имеются также данные, свидетельствующие об изменении активности катепсина Д в зависимости от возраста особей и действия солей тяжелых металлов [17]. При этом, как и в наших исследованиях, отмечено возрастание активности протеиназы у рыб на начальных этапах развития и снижение показателя у старших возрастных групп.

Ранее в наших исследованиях [18] было показано, что представители всех возрастных групп изученных видов карповых рыб характеризуются наличием в органах и тканях продуктов внутриклеточного протеолиза и фрагментации окисленных белков – среднемолекулярных пептидов (СМП). У карпа критическим периодом развития в отношении содержания СМП является годовалый возраст, особенно для печени. У толстолобика белого и амуре белого значительные изменения наблюдались как у годовиков, так и у трехлесток. Причем у годовиков толстолобика белого содержание СМП значительно повышалось в печени и почках, у трехлесток – в печени и красных мышцах, тогда как у годовиков амуре белого уровень пептидов значительно возрастал в почках и

скелетных мышцах, у трехлеток – в печени и скелетных мышцах. Установлено, что СМП образуются в результате ограниченного протеолиза.

Полученные данные позволяют оценить эколого-биохимический статус и благополучие популяции карповых рыб. При этом необходимо учитывать внутривидовые и возрастные особенности варьирования пептидгидролазной активности различных органов рыб и их зависимость от репродуктивного статуса особи.

Выводы

1. Пептидгидролазная активность тканей разновозрастных карповых рыб (карпа, толстолобика белого, амурского) изменяется в зависимости от возраста.

2. Отмечено возрастание активности пептидгидролаз от 6 месяцев (сеголетки) до года и ее снижение у трехлеток.

3. Во все исследованные периоды онтогенеза (сеголетки, годовики, трехлетки) пептидгидролазная активность наиболее высока в печени и красных мышцах, менее – в белых мышцах и почках исследованных видов карповых рыб. В отношении аутолитической активности отмечаются видовые различия, проявляющиеся в большей ее выраженности в почках и красных мышцах амурского, тогда как у остальных видов интенсивность аутолиза сходна с пептидгидролазной активностью.

Литература

1. Исуев А.Р. Биология развития и размножения рыб. – Махачкала: Изд-во ДГУ, 2009. – 285 с.

2. Андреева А.М. Структурно-функциональная организация белков крови и некоторых других внеклеточных жидкостей рыб // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50, № 4. – С. 570–576.

3. Качарин Н.К., Руматова С.Т., Абдуллаев Х.Д., Зейналова Н.М. Влияние ионов тяжелых металлов на мембранную устойчивость эритроцитов в норме и при различных патологиях организма // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11, ч. 2. – С. 299–303.

4. Лозовский А.Р., Алтуфьев Ю.В., Ветрова А.А. Структура модели роста осетровых рыб при индустриальном выращивании // Биологическое разнообразие Кавказа. Материалы IX Международной конференции. – Махачкала: ИПЭ РД, 2008. – С. 198–200.

5. Похольченко Л.А., Овчинникова С.И., Анохина В.С. Белковый состав мышечной ткани речной и заводской молоди атлантического лосося Кольского полуострова // Рыбное хозяйство. – 2010. – № 3. – С. 61–63.

6. Малов А.А., Лозовский А.Р. Оценка физиологического статуса диких самок русского осетра при адаптации к условиям аквакультуры // Биотехнологические процессы в народном хозяйстве: материалы Региональной научной конференции. – Астрахань, 2008. – С. 37–39.

7. Шамарданов Н.Ш., Лозовский А.Р. Воспроизводительная способность самок севрюги в условиях аквакультуры // Актуальные проблемы инновационного развития агропромышленного комплекса. Материалы четвертой Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых. – Астрахань, 2009. – С. 69–72.

8. Шатуновский М.И. Возрастные изменения энергетического и пластического обмена у рыб // Сб. материалов XXVIII Межд. конференции «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера», Петрозаводск, 5–8 октября 2009 г. – Петрозаводск: КНЦ РАН, 2009. – С. 631–632.

9. Андреева А.М. Структурно-функциональная организация белков крови и некоторых других внеклеточных жидкостей рыб // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50, № 4. – С. 570–576.
10. Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомальные и лизосомальные ферменты рыб. – М.: Наука, 2008. – 282 с.
11. Иванов А.А. Физиология рыб. – М.: Мир, 2011. – 278 с.
12. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
13. Калинина В.Н., Панкин В.Ф. Математическая статистика. – М.: Дрофа, 2002. – 336 с.
14. Буй Суан Донг. Разработка технологии производства пресервов из объектов аквакультуры на основе биотехнологических приемов: автореф. дис. ... к. техн. н. – Воронеж, 2011. – 23 с.
15. Дворянинова О.П. Получение и исследование свойств катепсинов мышечной ткани прудовых рыб // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2014. – № 4. – С. 14–27.
16. Подунай Ю.А., Залевская И.Н., Руднева И.И. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания среднемолекулярных пептидов в мышцах морского ерша // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер.: биология, химия, 2009. – Т. 22 (61). – № 4. – С. 128–134.
17. Курбанова С.И. и др. Протеолитическая активность тканей карпа и воблы под воздействием хлорида кадмия // Юг России: экология, развитие. – 2013. – № 1. – С. 62–66.
18. Габибов М.М. и др. Изменение количества среднемолекулярных пептидов в печени и почках карповых рыб в процессе их роста и развития // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 7. – С. 34–36.

Поступила в редакцию 15 февраля 2018 г.

UDC 574.522

DOI: 10.21779/2542-0321-2018-33-2-74-80

Age dynamics of peptide hydrolase activity of the tissues of carp fish

M.M. Gabibov, A.I. Rabadanova

Dagestan State University; Russia, 367001, Makhachkala, M. Gadzhiev st., 43a; phiziolog1@yandex.ru

Age-related dynamics of peptide hydrolase activity of the tissues of cyprinid fish (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Hupophthalmichthys molitrix*) has been studied. The dependence of the activity of neutral peptide-hydrolase on the tissue type and fish age is shown. All age groups of *Cyprinus carpio* and *Hupophthalmichthys molitrix* the liver has the highest proteolytic activity and autolysis, while the *Ctenopharyngodon idella* at red muscle has that activity, the white muscle have the least in all studied groups. The activity of neutral peptide-hydrolase changed depending on the age of the carp fish. The increase of its activity in all studied fish from juveniles to fingerlings and its further reduction at three years old were discovered. Throughout the studied periods of ontogenesis in all

species of cyprinid fish proteolytic system in liver and red muscle is the most active. This pattern detects species specificity, which is manifested in the highest activity of proteolytic and autolytic system of the liver of the *Ctenopharyngodon idella*, while the *Ctenopharyngodon idella* proteinases is higher in red muscles. In general, the most active proteolytic system of silver carp of white cloth is observed in comparison with carp and amour white. The increase of proteolytic and autolytic activity in the tissues of the carp yearlings is obviously due to the increase in the intensity of protein metabolism at this stage of ontogenesis of carp fish.

Keywords: *proteolysis, autolysis, carp, yearlings, fingerlings, three year olds.*

Received 15 February, 2018