

УДК 577.15:597.554.3-154.34.04

А.К. ГУЛЕВСКИЙ\*, Е.А. ГРИШЕНКОВА, Л.И. РЕЛИНА, Е.Г. ЖЕГУНОВА, Е.В. ЧАПЛАЙ

## Биохимические и морфологические аспекты сезонной и искусственной акклимации карася серебряного

UDC 577.15:597.554.3-154.34.04

A.K. GULEVSKY\*, YE.A. GRISCHENKOVA, L.I. RELINA, YE.G. ZHEGUNOVA, YE.V. CHAPLAY

## Biochemical and Morphological Aspects of Seasonal and Artificial Acclimation of the Goldfish

Исследованы сезонные биохимические и морфологические изменения в тканях карася серебряного *Carassius auratus*. Показано, что подготовка к зиме требует перестройки в тканях на морфологическом и биохимическом уровнях организации. Эти перестройки носят лабильный обратимый характер, так как у деакклимированных зимой рыб изученные параметры сходны с таковыми в летний период. При этом переключение организма рыб на зимний режим требует более сложной и длительной реорганизации систем, так как резкое снижение температуры воды летом приводило к 100% гибели рыб в течение 5 суток.

**Ключевые слова:** акклимация, карась серебряный.

Досліджено сезонні біохімічні та морфологічні зміни в тканинах карася сріблястого *Carassius auratus*. Показано, що підготовка до зими потребує перебудов в тканинах на морфологічному та біохімічному рівнях організації. Ці перебудови мають лабільний зворотний характер, бо у деаклімованих взимку рыб досліджені параметри схожі з такими в літній період. При цьому переключення організму рыб на зимовий режим вимагає більш складної та тривалогої реорганізації систем, оскільки різке зниження температури води влітку призвело до 100% загибелі рыб протягом 5 діб.

**Ключові слова:** аклімація, карась сріблястий.

Seasonal biochemical and morphological changes in tissues of the goldfish *Carassius auratus* were studied. Preparation for winter was shown to require remodeling in tissues on morphological and biochemical levels of organization. This remodeling is of labile and reversible nature, as the parameters investigated in the deacclimated fish in winter are similar to the summer ones. At the same time a switch of fish organism to winter regimen requires more complicated and longer reorganization of systems, since an abrupt decline of water temperature in summer resulted in 100% mortality of the fish within 5 days.

**Key-words:** acclimation, goldfish.

В настоящее время чрезвычайно актуальной является проблема управляемой гипотермии, что требует всесторонних исследований гомойотермных и пойкилотермных организмов, которые в процессе эволюции выработали механизмы адаптации к изменениям температуры окружающей среды. В частности, если для большинства гомойотермных животных снижение температуры тела на 10°C заканчивается летально, а подготовка организма к такому стрессовому воздействию требует сложной подготовки извне, то многие пойкилотермные животные могут существовать в гораздо более широком температурном диапазоне. Известно, что некоторые пресноводные рыбы способны переживать периоды сезонного похолодания, снижая интенсивность метаболизма и потребление кислорода [4]. Такая перестройка требует участия всех

систем организма на различных уровнях организации.

Температурная акклимация как модель для исследования сезонных изменений представляет собой отдельную проблему, так как механизмы сезонных ритмов могут не работать при кратковременном воздействии, либо функционирование адаптационных механизмов может быть модифицировано при моделировании природных условий. Для изучения механизмов перестройки организма на различных уровнях биологической организации мы оценивали изменения ультраструктуры мышц, спектра белков различных тканей, а также активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) как показателя энергетического обмена в зависимости от сезона и температуры содержания карася серебряного *Carassius auratus*.

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.:+38  
(057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:  
cryo@online.kharkov.ua

\* To whom correspondence should be addressed: 23,  
Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373  
4135, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

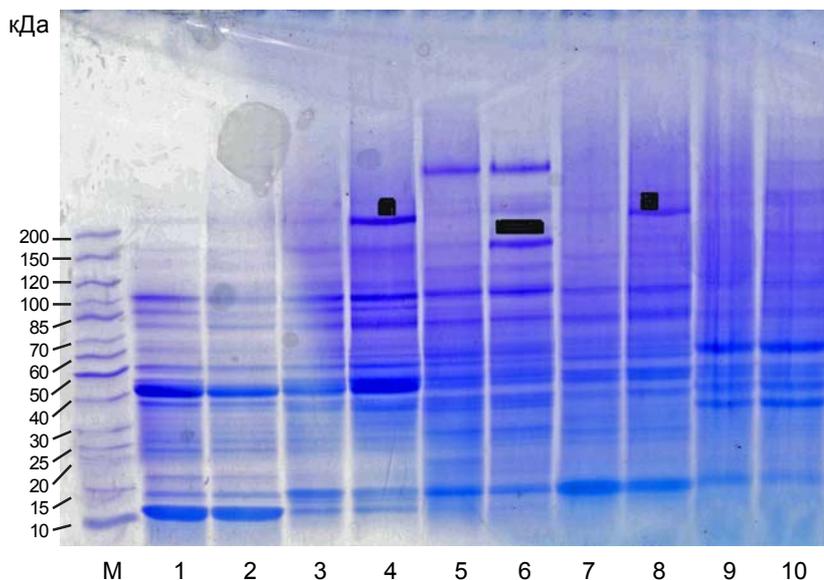
## Материалы и методы

Активность ЛДГ в направлении лактат→пируват и пируват→лактат определяли по методам [3] и [1] соответственно. SDS-электрофорез тканей проводили в градиентном ПААГе 10–25% [5]. Электронно-микроскопическое исследование тканей выполняли как описано в [6].

## Результаты и обсуждение

Электронная микроскопия показала, что ультраструктура мышц претерпевает существенные сезонные изменения. В белых мышцах зимой уменьшается количество митохондрий между миофибриллами, а количество и размер округлых везикул саркоплазматического ретикулума (СР) увеличиваются, и они размещаются в несколько рядов в отличие от плоских везикул СР “летних” карасей, расположенных в один ряд. Ядра клеток у карасей зимой содержат больше гетерохроматина, а оболочка ядра имеет извилистую форму. В красных мышцах сезонные изменения носят противоположный характер: количество митохондрий увеличивается в зимний период, а содержание гетерохроматина в ядре зимой снижается, а сами ядра характеризуются округлой формой с ровными краями. Деакклимация рыб зимой влияет на ультраструктуру мышц в направлении реорганизации их по “летнему” типу. Таким образом, в зимний период происходит реорганизация органелл, которая имеет достаточно лабильную природу и при возвращении рыб в оптимальный температурный режим носит обратимый характер.

При сравнении белковых спектров тканей карасей прежде всего обращает на себя внимание практически полное исчезновение полосы 200 кДа в красных мышцах и сердце и полосы 167 кДа в печени после деакклимации (рисунок). Нами обнаружены лишь незначительные количественные отличия в составе белков белых мышц и мозга “зимних” и деакклимированных карасей. Белковый состав тканей деакклимированных рыб практически не отличается от спектра белков “летних” карасей. Трехдневное содержание карасей при 5°C летом не вызывало изменений на SDS-электрофореграммах. Полученные результаты свидетельствуют, что процессы сезонной адаптации требуют изменения состава белков тканей. Данные изменения обратимы при изменении температурного режима. Трех дней пребывания при 5°C в летний период



Спектр тканей *C. auratus* зимой до и после деакклимации: М – маркеры молекулярного веса; 1, 2 – белые мышцы; 3, 4 – красные мышцы; 5, 6 – печень; 7, 8 – сердце; 9, 10 – мозг; 1, 3, 5, 7, 9 – деакклимированные рыбы; 2, 4, 6, 8 – “зимние” рыбы; ■ – белок 200 кДа; ■ – белок 167 кДа

недостаточно для накопления “зимних” форм белков.

Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат зимой достоверно выше в красных мышцах и печени (что согласуется с данными о преимущественном переключении организма рыб на анаэробный энергообмен зимой), но не в белых мышцах [7]. Деакклимация карасей зимой (содержание рыб при температуре 20–22°C не менее 2 недель) приводила к существенному понижению активности ЛДГ по сравнению с “зимними” величинами во всех изученных тканях. Интересно отметить, что при попытке помещения рыб в холодную камеру летом все караси гибли в течение 3–5 суток. Вероятно, для включения адаптационных механизмов играет роль не только сам перепад температур, но и скорость ее снижения. Возможность холодной акклимации рыб летом при постепенном понижении температуры воды требует дополнительных исследований. Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат, измеренная на 3-и сутки холодной экспозиции рыб, оказалась чрезвычайно низкой в белых и красных мышцах, но не в печени, где она сохраняется на уровне значений летнего периода. Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат в этих условиях составляла в белых мышцах всего лишь 11,7 и 13,2% по отношению к “летним” и “зимним” значениям соответственно, а в красных – 20,0 и 15,2% по отношению к “летним” и “зимним” значениям соответственно. Чрезвычайно резкое падение активности ЛДГ в направлении пируват→лактат в мышцах при этом особенно примечательно. Данное обстоятельство свидетельствует о серьезных нарушениях регуля-

ции производства энергии в метаболических путях. Активность ЛДГ в направлении лактат→пируват в зимний период снижается по сравнению с летним периодом во всех исследованных тканях. Деакклимация зимой возвращает активность этой формы ЛДГ на уровень “летних” значений, что также характерно для всех исследованных тканей. После 3-дневной холодовой экспозиции летом наблюдалась тенденция к некоторому снижению активности ЛДГ в направлении лактат→пируват в мышцах, но при этом величина активности все равно не снижалась до уровня, характерного для зимы. В печени снижение температуры летом вообще не вызывало изменений активности ЛДГ в направлении лактат→пируват по сравнению с величиной активности у “летних” карасей. Судя по изменениям активности ЛДГ в обоих направлениях деакклимация зимой воспроизводила летний режим существования карасей. На 3-й день холодовой экспозиции летом отмечено резкое снижение активности ЛДГ в мышцах в направлении пируват→лактат.

### Выводы

Сезонная адаптация *C. auratus* требует комплекса изменений как на субклеточном уровне, так и на уровне обмена веществ. Наши эксперименты показали, что зимой возможен перевод рыб на летний режим существования, при этом, судя по исследованным параметрам, разные ткани реагируют на изменение температурного режима по-разному. Летом резкий переход *C. auratus* на низкотемпературный режим содержания в наших условиях оказался невозможным, поскольку смертность рыб в течение 5 суток составила 100%, что свидетельст-

вует о неспособности организма рыб быстро адаптироваться летом к резкому снижению температуры.

Процессы переключения метаболизма должны контролироваться соединениями, синтезирующимися и накапливающимися при подготовке к зиме, например низкомолекулярными фракциями, подобными тем, которые присутствуют в мозге животных – гибернаторов [2]. Выделение таких веществ, а также исследование их биологической активности представляется нам перспективным направлением будущих исследований.

### Литература

1. Асатиани В.С. Ферментативные методы анализа.– М.: Наука, 1969.– 739 с.
2. Иваницкий Д.А., Колеева С.Г., Пастухов Ю.Ф. и др. Эффект выраженного снижения метаболизма у теплокровных эндогенными веществами из тканей зимоспящих в состоянии спячки // ДАН СССР.– 1982.– Т. 267, №2.– С. 978–990.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия.– Минск: Беларусь, 1976.– 311 с.
4. Озернюк Н.Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов.– М.: Изд-во МГУ, 2003.– 215 с.
5. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование.– М.: Наука, 1981.– 288 с.
6. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих/ Под ред. В.Ю. Полякова.– М.: Мир, 1975.– 349 с.
7. Hardewig I., Van Dijk P. L. M., Pörtner H.O. High-energy turnover at low temperatures: recovery from exhaustive exercise in Antarctic and temperate eelpouts // Am. J. Physiol.– 1998.– Vol. 247, N6, Pt. 2.– P. R1789–R1796.

Поступила 14.07.2008