



УДК 639.371.2.09

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ ДОНСКОЙ СТЕРЛЯДИ ПРИ ТИМПАНИИ

© 2011 **Абросимов С.С., Абросимова К.С.**

Филиал Московского государственного университета технологий и управления
в г. Ростове-на-Дону (РО МГУТУ)

Показано, что с усугублением тимпании у молоди стерляди активизируются процессы свободнорадикального окисления за счет истощения антиоксидантов. При этом у молоди снижается уровень фосфолипидов и существенно повышается содержание моно- и диацилглицеридов, активируются процессы липолиза при одновременном возрастании уровня лизофосфатидилхолина и сфингомиелина и снижении фосфатидилсерина.

The processes of free radical oxidation are shown to be activated at the expense of antioxidants depletion if tympanism of young sterlet is developing. At the same time the level of phospholipids decreases, the content of mono- and diacylglycerols increases considerably, and the processes of lipolysis are activated with simultaneous rising of the lisophosphatidylcholine and sphingomyelin levels and decreasing in phosphatidylserine.

Ключевые слова: стерлядь, тимпания, общие липиды, фосфолипиды, липаза, фосфолипаза А, гидроперекиси, антиоксиданты.

Keywords: sterlet, tympanism, common lipids, phospholipids, lipase, phospholipase A, hydroperoxides, antioxidants.

Индустриальные формы современного воспроизводства осетровых (лотковые, бассейновые и др.) несомненно перспективны, но в условиях интенсификации требуют особого внимания к здоровью рыб и профилактике неблагоприятных ситуаций. Эти мероприятия – обязательное звено технологического процесса для выращивания физиологически полноценной молоди с минимизацией ее потерь. Определено, что при интенсивных методах выращивания, рыбы испытывают различные стресс-факторы, которые способствуют повышению активности процессов окисления липидов (ПОЛ), не контролируемое усиление которых является причиной многих заболеваний, в частности тимпании, интоксикации организма и гибели рыб, особенно в раннем постэмбриогенезе [1, 2]. Доказано, что при этом у молоди осетровых рыб нарушается липидный и энергетический обмен, изменяется соотношение $\omega 3$ и $\omega 6$ жирных кислот [2, 3].

В настоящей работе представлены результаты исследований изменения липидного состава, состояния активности процессов перекисления, мембранодеструкции и антиоксидантных функций у стерляди с различной степенью заболевания тимпанией.

Объектом исследования служила молодь стерляди весом 2-3 грамма. В зависимости от степени поражения стерляди тимпанией и тяжести протекания заболевания больная рыба была разделена на 3 группы: начальная – 1 стадия заболевания, средняя тяжесть заболевания – 2 стадия, тяжелая (предагональная) – 3 стадия болезни.

Известно, что липиды являются как энергетическим материалом, так и источником питания клеток. При развитии многих патологических процессов происходит изменение в содержании липидов. Сравнительный анализ содержания общих липидов в теле молоди стерляди выявил последовательное снижение их уровня от 1 к 3 стадии заболевания соответственно на 5,8 и 7,9%. При анализе уровня различных фракций общих липидов больных рыб, различающихся по степени прогрессирования заболевания, обнаружены следующие отличия (рис. 1).

Уровень содержания фосфолипидов у рыб к 2 стадии тимпании снизился на 8,7%, а к 3 стадии – на 22,3%, тогда как уровень триацилглицеридов снизился на 9 % только к 3 стадии по сравнению с начальной.

К наиболее последовательным изменениям содержания отдельных фракций липидов следует отнести увеличение ко 2 стадии уровней моноацилглицеридов и диацилглицеридов соответственно на 18,8 и 13,9%, а к 3 стадии – в 2,4 и 1,7 раз. Содержание неэстерифицированных жирных кислот ко 2 стадии несколько уменьшилось (на 3,7%), а к 3 стадии существенно повысилось – в 1,4 раза.

Анализ фосфолипидного спектра пораженной рыбы по трем стадиям заболевания выявил существенное снижение уровня фосфатидилсерина на 2 и 3 стадиях соответственно в 1,3 и 2,9 раза по сравнению с первой (рис. 2).

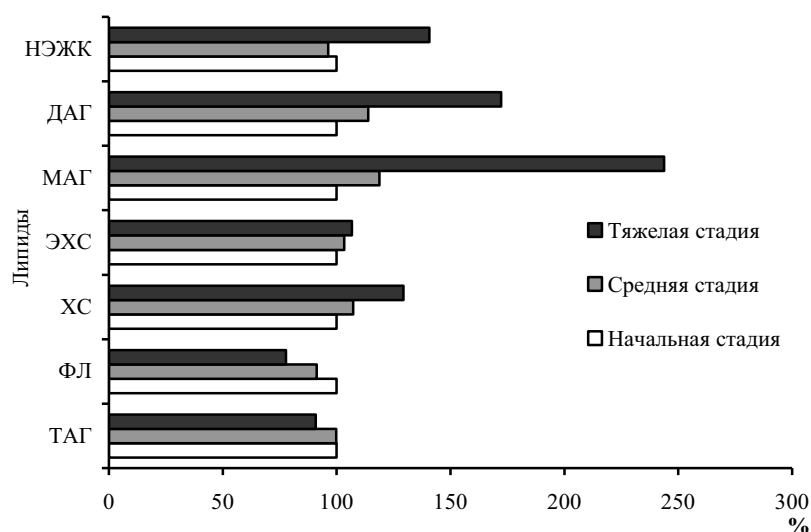


Рис. 1. Липидный состав тела больной молодежи стерляди, % общих липидов (1 стадия заболевания принята за 100 %):

ТАГ – триацилглицериды, ФЛ – фосфолипиды, ХС – холестерин,
ЭХС – эфиры холестерина, МАГ – моноацилглицериды, ДАГ – диацилглицериды,
НЭЖК – неэстерифицированные жирные кислоты

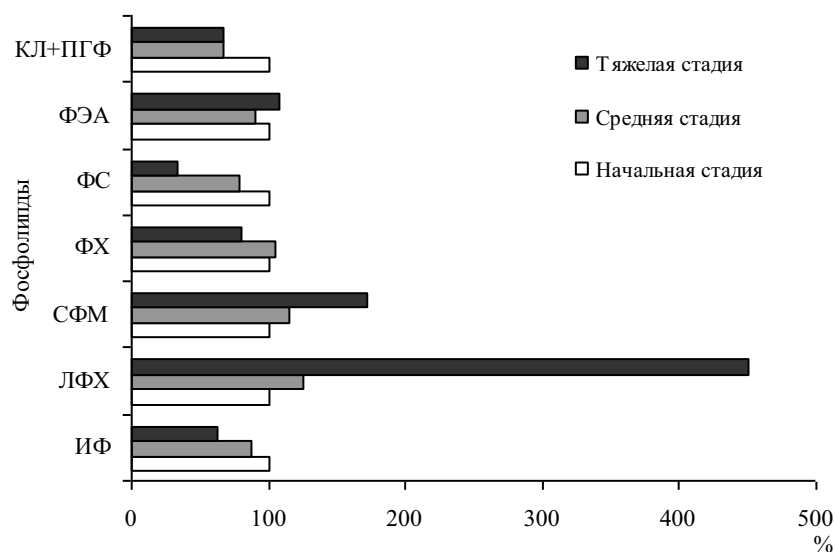


Рис. 2. Фосфолипидный спектр тела больной молодежи стерляди, % фосфолипидов (1 стадия заболевания принята за 100 %):

ИФ – инозидфосфатиды, ЛФХ – лизофосфатидилхолины, СФМ – сфингомиелины,
ФХ – фосфатидилхолины, ФС – фосфатидилсерины, ФЭА – фосфатидилэтаноламины,
КЛ+ПГФ – кардиолипиды+ полиглицерофосфатиды

Снижение уровня фосфатидилсерина в процессе развития патологического процесса может свидетельствовать о снижении энергетического обмена в клетках, поскольку фосфатидилсерин известен как наиболее эффективный аллостерический активатор АТФ-азы, участвующей в системе переноса энергии митохондрий, и ответственный за превращение АТФ в мембранный потенциал [4].

На 2 стадии заболевания наблюдается незначительное (на 4,2%) повышение основного структурного компонента клеточных мембран – фосфатидилхолина. На предагональной стадии уровень данного липида уменьшился 20,1%, по сравнению с начальной стадией. Достоверно известно, что фосфатидилхолин является предшественником сигнальных молекул вторичных мес-



сенджеров [5]. Кроме того, в литературе имеются данные об ингибировании перекисного окисления липидов (ПОЛ) с помощью фосфатидилхолина [4].

Таким образом, снижение фракции фосфатидилхолина на предагональной стадии вследствие усиления липолиза, с одной стороны, может привести к снижению образования вторичных мессенджеров и разобщению метаболических процессов, что повлечет за собой повреждение и гибель клеток. С другой стороны снижение уровня фосфатидилхолина неизбежно приведет к активации перекисного окисления липидов. Таким образом, замыкается порочный круг патологических сдвигов, вызванных развивающейся болезнью.

О неблагополучном состоянии молоди стерляди может свидетельствовать возрастание уровня лизофосфатидилхолина, содержание которого на 2 стадии увеличилось на 25% и на последней 3 стадии заболевания превысило начальный уровень в 4,5 раза. Следовательно, уровень данного мембранного липида тем ниже, чем более усугублено болезнью состояние рыбы. Такое резкое увеличение лизофракции в составе липидов является неспецифической реакцией организма рыб на патологическое воздействие [6].

Необходимо также отметить у стерляди на средней и предагональной стадиях заболевания увеличение доли сфингомиелина почти на 14,6 %, а затем более чем в 1,7 раза по сравнению с началом заболевания. Подобное увеличение концентрации сфингомиелина может также служить отражением развивающегося патологического процесса. Так из ряда работ известно, что под действием нейтральной сфингомиелиназы и некоторых других ферментов из сфингомиелина образуется вторичный мессенджер церамид, так называемый “агент смерти”, который способен вызывать гибель клеток [5, 7, 8]. Следовательно, динамика этого показателя в сторону повышения по мере развития заболевания может служить одним из признаков активности воспалительного процесса.

Важная роль в метаболизме внутриклеточных липидов и функционировании биологических мембран принадлежит липазе [9].

Как показано на рисунке 3, у рыб на 2 стадии заболевания активность липазы составила 0,8 ед. активности, а у рыб на 3 стадии активность фермента возросла в 3 раза по сравнению со 2-й.

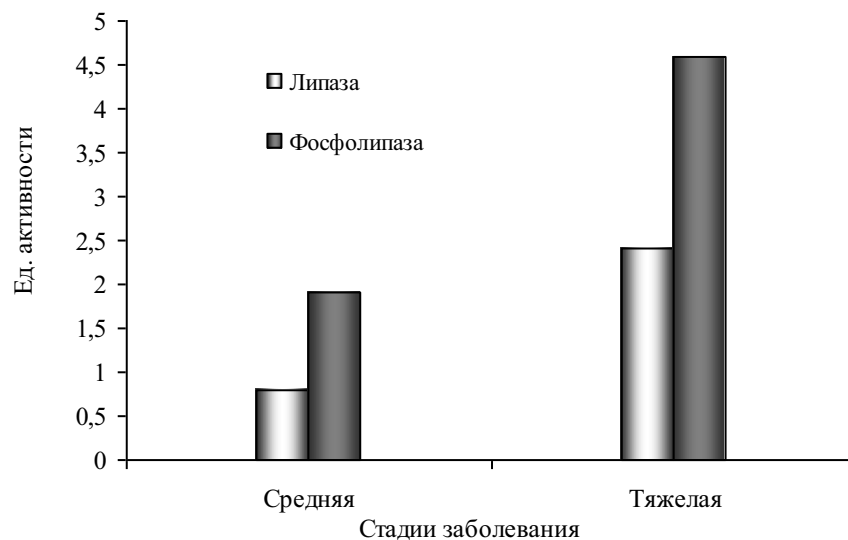


Рис. 3. Активность липазы и фосфолипазы А у стерляди при тимпании

Подобное резкое увеличение активности фермента свидетельствует об активации процесса липолиза и высвобождении жирных кислот. В тотальном экстракте больной стерляди на 3 стадии отмечено увеличение активности фосфолипазы А в 2,4 раза, по сравнению с 2 стадией заболевания.

Есть основания полагать, что между активностью фосфолипазы и окислением липидов существует прямая зависимость. Это подтверждают литературные данные, свидетельствующие о синхронности изменений активности фосфолипаз и перекисного окисления липидов, поскольку перекисные мембранные липиды в первую очередь подвергаются воздействию эндогенных фосфолипаз [4, 5].



Вовлечение липидов клеточных мембран в процессы перекисного окисления является существенным фактором структурной и функциональной их дестабилизации. Наряду с этим, продукты начальных этапов перекисного окисления, а также лизофосфатидилхолин, образующийся под действием фосфолипаз, являются чрезвычайно биологически агрессивными, обладающими выраженными мембранодеструктивными свойствами.

В литературе накопилось большое количество данных, свидетельствующих об активации свободнорадикального окисления, в частности перекисного окисления липидов при различных патологиях трофического, инфекционного или токсического характера [1, 10]. Активность эндогенных фосфолипаз и свободнорадикального окисления липидов в организме находится под контролем антиоксидантных систем, поддерживающих данные процессы на оптимальном физиологическом уровне. Однако при некоторых патологических состояниях, возникающие нарушения превышают надежность защитной системы, что приводит к тому, что клетка не справляется с окислительной свободнорадикальной атакой и в ней начинают накапливаться продукты окислительной деградации липидов.

Уровень продуктов перекисного окисления липидов в теле молодой стерляди, пораженной тимпанией, показал значительное повышение активности процессов свободнорадикального окисления липидов в зависимости от тяжести заболевания (рис. 4).

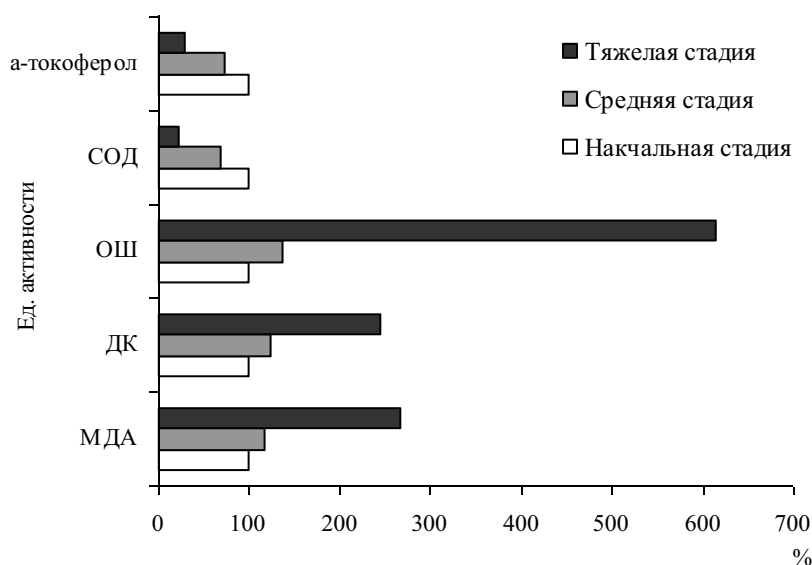


Рис. 4. Уровень гидроперекисей и антиоксидантов у больной молодой стерляди, (1 стадия заболевания принята за 100 %):
ДК – диеновые конъюгаты, МДА – малоновый диальдегид,
ОШ – основания Шиффа, СОД – супероксиддисмутаза

Так, в теле молодой стерляди содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов на 2 стадии заболевания увеличилось на 16,0 и 22,7%, а на 3 – в 2,7 и 2,4 раза соответственно по сравнению с молодой стерлядью на начальной стадии. Уровень оснований Шиффа в теле стерляди последовательно повышался и на предгаональной стадии вырос более чем в 6 раз, по сравнению с началом заболевания. Таким образом, имеет место повышение активности всех этапов свободнорадикального окисления – начальных, промежуточных, конечных.

Наиболее стереотипной реакцией организма на повреждение является понижение в тканях содержания супероксиддисмутазы и α -токоферола, являющихся своеобразными внутриклеточными буферами, поддерживающие уровень активированного кислорода в определенной концентрации в зависимости от того или иного метаболического состояния клеток. Снижение концентраций данных антиоксидантов служит диагностическим маркером на стресс-синдром в клинических и экспериментальных условиях.



У стерляди на 2 и 3 стадиях заболевания отмечаются значительно более низкие показатели α -токоферола и СОД в 1,4-3,6 и 1,5-4,7 раза соответственно, в сравнении с аналогичными показателями у рыб на первой стадии.

Таким образом, физиолого-биохимические изменения в организме больной стерляди являются следствием возрастания активности процессов свободнорадикального окисления и могут быть связаны с постепенным снижением в ходе заболевания способности организма ингибировать свободнорадикальные реакции, за счет истощения пула антиоксидантов и, вероятно, протекания иммунопатологических реакций.

Аналогичные результаты получены при изучении влияния тимпани в процессе ее развития на организм осетра и бестера [1, 3], что позволяет предположить специфическое патохимическое проявление исследуемого заболевания на уровне процессов перекисного окисления липидов и идентичные способы профилактики и терапии.

Библиографический список

1. Абросимов С.С. Стресс-факторы и их влияние на физиолого-биохимический статус молоди осетровых // Научный журнал. Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та, 2008. – Вып. 3(12). – С. 93-98.
2. Абросимова К.С. Кормление рыб в интенсивной аквакультуре и окислительный стресс // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Мат-лы II Междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 8-10 октября 2008 г. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2008. – С. 12-13.
3. Абросимова К.С. Изменение липидного обмена молоди бестера в процессе развития тимпани // Естественные науки, 2011. – Астрахань: Изд. дом «Астраханский университет». – № 1 (34). – С. 85-90.
4. Бурлаков Е. Б., Алексеев А. В., Аристархова С.А. и др. Механизмы реактивации липидзависимых ферментов при патологических состояниях. // Липиды биологических мембран. – Ташкент, 1982. – С. 16-23.
5. Аврова Н.Ф. Биохимические механизмы адаптации к изменяющимся условиям среды у позвоночных: роль липидов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. Т. 35, 1999, №3. – С. 170-180.
6. Бергельсон Л.Д. Биологические мембраны. – М.: Наука, 1975. – 182 с.
7. Hannum Y.A. The sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 3125-3127.
8. Ghosh S., Strum J. C., Bell R.M. Lipid biochemistry: functions of glycerolipids and sphingolipids in cellular signalling // FASEB J. 1997. V. 11. P. 45-50.
9. Брокерхофф Х, Дженсен Р. Липолитические ферменты. – М.: Мир, 1978. – 396 с.
10. Козлов Ю. П., Данилов В.С., Каган В. Е., Ситковский М. В. Свободно-радикальное окисление липидов в биологических мембранах. – МГУ, 1972. – 88 с.

Bibliography

1. Abrosimov S.S. Stress factors and their affect on physiological and biochemical parameters of young sturgeons. // Scientific Journal Tr. Kubanskogo gos.agrarnogo un-ta, 2008. – Issue 3(12). – p. 93-98 (in Russian).
 2. Abrosimova K.S. Fish feeding during intensive aquaculture and oxidation stress /Actual Problems of Biology, Nanotechnologies and Medicine: Proceedings of the Second Internat.Sci.Conf. Rostov-on-Don, 8-10 Oct. 2008. – Rostov-on-Don: YuFU, 2008. – p. 12-13 (in Russian).
 3. Abrosimova K.S. Changes in lipid metabolism of young bester affected by tympania // Estestvennye nauki, 2011. – Astrakhan: "Astrakhanskij Universitet". – № 1 (34). – p. 85-90 (in Russian).
 4. Burlakov E.B., Alekseenko A.V., Aristarkhova C.A. et al. Reactivation mechanisms of lipid dependent enzymes caused by pathologies. // Lipidy biologicheskikh membran. – Tashkent, 1982.- p. 16-23 (in Russian).
 5. Avrova N.F. Biochemical mechanisms of adaptation of vertebrates towards changing environmental conditions: the role of lipids // Zhurnal Evolyutsionnoj Biochimii i Phiziologii. Vol.35, 1999, №3. – p. 170-180 (in Russian).
 6. Bergelson L.D. Biological membranes. – Moscow: Nauka, 1975. – 182 pp (in Russian).
 7. Hannum Y. A. The sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 3125-3127.
 8. Ghosh S., Strum J. C., Bell R.M. Lipid biochemistry: functions of glycerolipids and sphingolipids in cellular signaling // FASEB J. 1997. V. 11. P. 45-50.
 9. Bockerhoff H., Jensen R. Lipolytic enzymes. – Moscow: Mir, 1978. – 396 pp (in Russian).
 10. Kozlov Yu.P., Danilov V.S., Kagan V.E., Sitkovski M.V. Free radical lipid oxidation in biological membranes. – MGU, 1972. – 88 pp (in Russian).
- УДК 574.587.042(262.81)