

Влияние сезона и температурной акклимации на активность ЛДГ и содержание пировиноградной кислоты в тканях карася *Carassius auratus*

UDC 591.54:577.15:597.554.3

E.G. ZHEGUNOVA*, L.I. RELINA

Effect of Season and Temperature Acclimation on LDH Activity and Content of Pyruvic Acid in Tissues of the Gold Fish *Carassius auratus*

Природа сезонных адаптаций с точки зрения перестройки обмена веществ многие годы находится в центре внимания исследователей. Акклимацию (особенно температурную) часто используют как модель для исследования сезонных изменений. Однако природа акклимации представляет собой отдельную проблему, так как механизмы сезонных ритмов могут не функционировать при кратковременном воздействии, либо их функционирование может быть модифицировано при моделировании природных условий. Рыбы являются одной из классических моделей при изучении подобных явлений. Тем не менее проблема акклимации рыб к различным температурам в зависимости от времени года изучена недостаточно.

Целью работы была оценка активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и содержания пирувата в зависимости от сезона и температуры содержания карася серебряного *Carassius auratus*.

В работе использовали рыб, выловленных зимой (январь-февраль) и летом (июль-август). Часть рыб, выловленных зимой, содержали при температуре 20–22°C длительностью не менее 2 недель (процесс, названный нами деакклимацией). Часть рыб, выловленных летом, содержали в холодильной камере при температуре 4–5°C. Активность ЛДГ определяли в направлении пируват→лактат, как описано в [1], в направлении лактат→пируват, по стандартной методике [2], содержание пировиноградной кислоты определяли, как описано в [4].

В результате экспериментов было выяснено, что активность ЛДГ в направлении пируват→лактат (которое преобладает при анаэробных условиях) [3] зимой достоверно выше в красных мышцах и печени (см. таблицу). Деакклимация карасей

Origin of seasonal adaptations in regard of metabolism alteration has been the focus of attention for many years. Acclimation (especially temperature) is often used as a model for the research of seasonal changes. However, the acclimation origin represents a particular problem, as the mechanisms of seasonal rhythms may not function at short-term exposure, or their functioning may be modified at modulation of natural conditions. Fishes are one of the classic models when studying similar phenomenon. But the problem of fishes' acclimation to different temperatures depending on a season has been studied insufficiently.

The research aim was the evaluation of activity of lactate dehydrogenase (LDH) and pyruvate contents depending on season and maintenance temperature of the gold fish *Carassius auratus*.

In the research the fishes caught in winter (January-February) and in summer (July-August) were used. A part of fishes caught in winter, were kept at 20–22°C as minimum for two weeks (process, called by us as deacclimation). A part of fishes caught in summer, were kept in cold chamber at 4–5°C. The LDH activity was examined toward pyruvate→lactate, as described [1], for standard methodics [2] toward lactate→pyruvate, the content of pyruvic acid was found, as described [4].

In result it has been established that LDH activity toward lactate-pyruvate (which dominate at anaerobic conditions) [3] is significantly higher in red muscles and in liver in winter (see Table). The deacclimation of the gold fish in winter period at 20–22°C resulted in significant decrease of LDH activity in comparison with winter quantities in all the investigated tissues. In red muscles and in liver the enzyme activity returned to summer level, but in white muscles it was even lower. When placing fishes into cold chamber in

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

* 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

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

* 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

зимой при температуре 20–22°C приводила к существенному понижению активности ЛДГ по сравнению с зимними величинами во всех изученных тканях. В красных мышцах и печени активность фермента возвращалась на летний уровень, а в белых мышцах была даже ниже.

При помещении рыб в холодовую камеру летом для акклимации их к низкой температуре все караси гибли в течение 3–5 суток. Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат, измеренная на 3 сутки холодовой акклимации рыб, оказалась чрезвычайно низкой в белых и красных мышцах, а не в печени, где она сохраняется на уровне летних значений. Чрезвычайно резкое падение активности ЛДГ в направлении пируват→лактат в мышцах в этих условиях, скорее всего, не является единственной причиной гибели карасей при понижении температуры летом, однако оно свидетельствует о серьезных нарушениях регуляции производства энергии в метаболических путях [5].

Несмотря на наличие сезонных изменений активности ЛДГ в направлении пируват→лактат, содержание пировиноградной кислоты в зимний и летний период в мышцах не отличается. При этом в печени количество пирувата зимой снижается на 64,3%. Деакклимация также не оказывала влияния на содержание пирувата. Трехдневная холодовая акклимация летом вызывала резкое увеличение количества пирувата более чем в 3 раза, но только в белых мышцах и печени. Это естественно, так как ЛДГ, функционирующая в направлении пируват→лактат, практически перестает его использовать [6].

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

summer period for their acclimation to low temperature all the gold fish died for 3-5 days. LDH activity toward pyruvate→lactate, measured on the 3rd day of fishes' cold acclimation, occurred to be particularly lower in white and red muscles, but not in liver, where it saved at the summer quantities. Particularly sudden decrease in the LDH activity toward pyruvate→lactate in muscles under these conditions, probably, is not a single reason of the gold fish death at temperature decreasing in summer, however it indicates a serious dysfunctions of energy production regulation in metabolic pathways [5].

In spite of presence of season changes of LDH activity toward lactate→pyruvate, the content of pyruvic

Активность ЛДГ и содержание пировиноградной кислоты в тканях *Carassius auratus*
LDH activity and containing of pyruvic acid in tissues of crucian carp *Carassius auratus*

Ткань Tissue	Условия содержания Keeping conditions	Активность ЛДГ в направлении лактат пируват, нмоль пирувата/мин-мг белка LDH activity in lactate to piruvate direction, nmol/min-mg of protein	Активность ЛДГ в направлении пируват лактат, нмоль НАДН ₂ /мин-мг белка LDH activity in piruvate to lactate direction, nmol of NADH ₂ /min-mg of protein	Содержание пировиноградной кислоты, мкмоль/г ткани Piruvate content, μmol/g of protein
Белые мышцы White muscles	Лето Summer	7,1±0,47	0,6±0,07	0,08±0,011
	Зима Winter	4,97±0,38 ¹	0,53±0,05	0,11±0,024
	Деакклимация Deacclimation	8,19±0,75 ²	0,4±0,02 ^{1,2}	0,09±0,003
	3-дневная акклимация 3 days of acclimation	6,19±0,17 ²	0,07±0,01 ^{1,2}	0,4±0,024 ^{1,2}
Красные мышцы Red muscles	Лето Summer	8,64±0,5	0,35±0,05	0,12±0,022
	Зима Winter	6,98±0,61 ¹	0,46±0,03 ¹	0,11±0,017
	Деакклимация Deacclimation	9,32±0,65 ²	0,3±0,03 ²	0,09±0,005
	3-дневная акклимация 3 days of acclimation	7,4±0,19 ¹	0,07±0,01 ^{1,2}	0,11±0,012
Печень Liver	Лето Summer	5,8±0,72	0,17±0,03	0,14±0,024
	Зима Winter	3,28±0,28 ¹	0,37±0,03 ¹	0,05±0,01 ¹
	Деакклимация Deacclimation	4,91±0,39 ²	0,21±0,03 ²	0,13±0,005 ²
	3-дневная акклимация 3 days of acclimation	5,56±0,21 ²	0,14±0,02 ²	0,43±0,055 ^{1,2}

Примечания: ¹ – достоверные отличия по сравнению с летними значениями, p<0,05, n=12; ² – достоверные отличия по сравнению с зимними значениями, p<0,05, n=12.

Note: ¹ – significant differences in comparison with summer data, p<0.05, n=12; ² – significant differences in comparison with winter data, p<0.05, n=12.

акклимации летом наблюдалась тенденция к некоторому снижению активности ЛДГ в направлении лактат→пируват в мышцах, но при этом величина активности все равно не снижалась до зимнего уровня. В печени холодовая акклимация летом вообще не вызывала никаких изменений активности ЛДГ в направлении лактат→пируват.

Полученные нами данные свидетельствуют, что при исследовании температурной акклимации рыб необходимо учитывать сезон, когда проводятся исследования. Наши эксперименты показали, что зимой возможен перевод рыб на летний режим существования, при этом, судя по измеренным биохимическим показателям, разные ткани реагируют на изменение температурного режима по-разному. Деакклимация при 20–22°C зимой вызвала изменения активности ЛДГ в обоих направлениях в сторону установления летних значений. Деакклимация не влияла на содержание пирувата в тканях. Летом резкий переход *C. auratus* на низкотемпературный режим содержания в наших условиях оказался невозможным, поскольку смертность рыб в течение 5 суток составила 100%. На 3-й день холодовой акклимации летом наблюдались резкое снижение активности ЛДГ в мышцах в направлении пируват→лактат и значительное увеличение количества пирувата в белых мышцах и печени.

Литература

1. Асатиани В.С. Ферментативные методы анализа. – М.: Наука, 1969. – 739 с.
2. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
3. Лав М.Р. Химическая биология рыб. – М.: Пищ. пром., 1976. – 349 с.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учеб. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л., 1982. – 272 с.
5. Озернюк Н.Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов. – М.: Изд-во МГУ, 2003. – 215 с.
6. Стрганов Н.С. Экологическая физиология рыб. – М.: Изд-во МГУ, 1962. – 444 с.

Поступила 20.05.2008

acid in muscles in winter and summer period does not differ. Herewith in liver the amount of pyruvate reduces by 64% in winter. Also the deacclimation did not affect on pyruvate content. 3-days' cold acclimation in summer triggered a sudden increase of pyruvate more than in three times, but only in white muscles and liver. It is naturally since LDH, functioning toward lactate→pyruvate, practically stops using it [6].

LDH activity toward lactate→pyruvate in winter period decreases in comparison with summer period in all the investigated tissues. Deacclimation in winter returns the LDH activity of this form to the summer quantities, that is characteristic for all the investigated tissues. After 3-days' cold acclimation in summer, the tendency to some decrease of LDH activity toward lactate-pyruvate in muscles was observed, but in this case the activity value did not decrease to winter period ones. In liver the cold acclimation in summer did not cause any changes of LDH activity toward lactate→pyruvate at all.

The data obtained by us testify to the fact that when investigating the temperature acclimation of fishes it is necessary to take into account the season. Our experiments have shown that in winter it is possible to transfer fishes to summer regimen of existence, herewith due to the measured biochemical indices different tissues respond to the change of temperature regimen differently. Deacclimation at 20–22°C in winter caused the changes of LDH activity in both directions towards summer values. Deacclimation did not affect pyruvate content in tissues. The sharp transition of *C. auratus* in summer to low temperature regimen of keeping under our conditions is impossible because fishes' mortality for 5 days made 100%. On the 3rd day of cold acclimation, in summer the sharp decrease of LDH activity in muscles toward lactate→pyruvate and significant increase of pyruvate amount in white muscles and liver were observed.

References

1. Asatiani V.S. Enzyme methods of analysis. – Moscow: Nauka, 1969. – 739 p.
2. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. Clinical biochemistry. – Minsk: Byelorussia, 1976. – 311 p.
3. Love M.R. The chemical biology of fishes. – Moscow, 1976. – 349 p.
4. Methods of biochemical studies (lipid and energetic exchange): Manual/ Ed. By M.I. Prokhorova. – Leningrad, 1982. – 272 p.
5. Ozernyuk N.D. Phenomenology and mechanisms of adaptive processes. – Moscow: MGU Publishing House, 2003. – 215 p.
6. Stroganov N.S. Ecological physiology of fishes. – Moscow: MGU Publishing House, 1962. – 444 p.

Accepted in 20.05.2008