

УДК 562+597—111

**ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЛИПОПРОТЕИДОВ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БАЛТИЙСКОЙ ТРЕСКИ**

В. В. ИПАТОВ

К липопротеидам относят комплексы белков и липидов плазмы, близкие к белкам по растворимости, отношению к солям, способности к денатурации. У млекопитающих сывороточные белки, образуя комплексы с липидами, транспортируют их к различным органам и тканям. Исследование липопротеидов сыворотки крови рыб представляет интерес для выяснения их функциональной роли и влияния определенных факторов на их содержание. Для млекопитающих функциональная роль определенных липопротеидов сыворотки крови (переносчики фосфолипидов, холестерина, триглицеридов и пр.) во многом ясны. О липопротеидах сыворотки крови рыб этого сказать нельзя, тем более, что, у рыб большая часть липидов перемещается с быстро движущимися фракциями белков — альбуминами и α -глобулинами (Morris, 1959; Saito, 1958; Куликова, 1967), а у млекопитающих этого не отмечено.

Данное исследование является попыткой выяснения динамики липопротеидов сыворотки крови балтийской трески в важнейшие периоды годового цикла, в первую очередь в период созревания гонад, а также выяснения влияния некоторых других биотических и абиотических факторов.

Объектом исследования являлась балтийская треска (*Gadus morhua callarias* L.). Материал собран в восточной части Балтики. Пробы взяты у двухсот особей трески размером от 20 до 70 см. Всех рыб подвергали стандартному биологическому анализу. Электрофорез проводили в камере, модифицированной для использования непосредственно в судовых условиях. Электрофореграммы окрашивали спиртовым раствором судана черного Б. Количественное определение отдельных фракций липопротеидов осуществляли методом денситометрии.

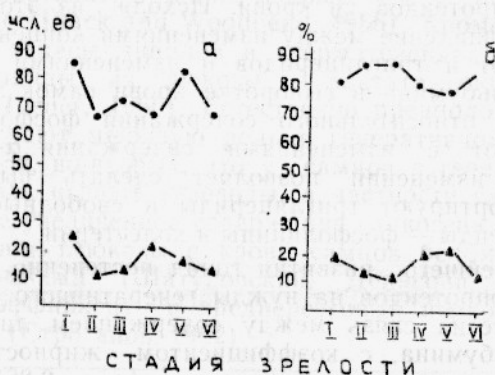
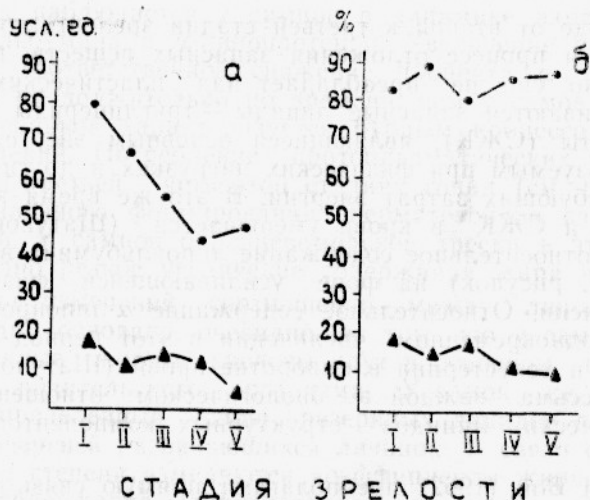
При анализе динамики липопротеидов существенным было выбрать удобный показатель для оценки их количества в пробах. Мы приняли, что количество липопротеидов в пробах при их стандартной обработке должно быть пропорционально количеству красителя, связанного ими, тогда, зная количество связанного красителя, можно получить условные показатели абсолютного содержания липопротеидов в отдельных пробах крови.

Кроме того, так как у трески основным жировым депо является печень, мы сочли необходимым показать все изменения в содержании липопротеидов на фоне изменений коэффициента «жирности» печени (вес печени в процентах к весу тела без внутренностей), ибо изменения веса печени в ходе развития гонад в определенных пределах свидетельствуют об изменениях ее физиологической активности.

Липопротеиды трески характеризуются высокой электрофоретической подвижностью. Основная масса их перемещается в зоне альбу-

минов и α -глобулинов, причем в отличие от беломорской трески (Шатуновский и др., 1967; Исаев и др., 1969) в зоне альбуминов перемещается от 70 до 100% липопротеидов. Значительно меньшее количество липопротеидов перемещается в зоне α - и β -липопротеидов, хотя в некоторых случаях, не получивших объяснения, концентрация α -липопротеидов может повышаться до 50% от общего содержания липопротеидов в сыворотке.

Изменение содержания липопротеидов в сыворотке крови у балтийской трески зависит прежде всего от внутренних физиологических ритмов, тесно связанных с чередованием отдельных периодов годового цикла (созревание гонад, нерест, нагул).



Изменения в абсолютном (а) и относительном (б) содержании липоальбумина (кривые с крупками) и α -липопротеида (кривые с треугольниками) в ходе созревания гонад у самок (верхние графики) и самцов (нижние графики) балтийской трески.

Ввиду того что в ходе созревания гонад обмен веществ у самок и самцов протекает неодинаково как с количественной, так и с качественной стороны, динамика липопротеидов разобрана отдельно для самцов и для самок.

Прежде всего необходимо указать на обратную связь уровня липопротеидов в сыворотке крови с физиологической активностью печени, совпадающей с увеличением ее веса, содержания жира в ней (Boducki and Trzesinski, 1950). По мере развития гонад уменьшается абсолютное

содержание липопротеидов и усиливается физиологическая активность печени (рисунок, таблица). По нашему мнению, снижение абсолютного содержания липопротеидов не связано со снижением их концентрации, а выражает усиление темпов использования. По-видимому, толчком к увеличению веса печени служит повышение концентрации комплексов альбумина с липидами (Коньшев, 1968), сопровождающееся отложением жира в печени и стимуляцией скорости продукции и секреции ее тканью липопротеидов (Стейнберг и Вон, 1962). Изменение же относительного содержания липопротеидов не может быть мерой их потребления. Эти изменения отражают степень необходимости для организма определенных веществ в определенные моменты жизнедеятельности.

При переходе от второй к третьей стадии зрелости гонад, когда в ооцитах начался процесс отложения запасных веществ, генеративный обмен, очевидно, еще не преобладает над пластическим, так как в печени накапливаются запасные липиды — триглицериды и свободные жирные кислоты (СЖК), являющиеся основным энергетическим резервом, используемым при физических нагрузках и других состояниях организма, требующих затрат энергии. В это же время концентрация триглицеридов и СЖК в крови уменьшается (Шатуновский, 1971). Абсолютное и относительное содержание липоальбумина в этот период снижается (см. рисунок) на фоне усиливающейся физиологической активности печени. Относительное содержание α -липопротеида увеличивается при одновременном увеличении в этот период содержания фосфолипидов и холестерина в сыворотке крови (Шатуновский, 1971), являющихся весьма важной в биологическом отношении группой протоплазматических липидов — структурных компонентов протоплазмы клеток.

Стейнберг и Вон (1962) предполагают прямую связь между изменениями содержания свободных жирных кислот и изменениями содержания липопротеидов в крови. Исходя из этого, необходимо отметить полное совпадение между изменениями концентрации свободных жирных кислот и триглицеридов и изменениями относительного содержания липоальбумина в сыворотке крови самок трески. В свою очередь изменения относительного содержания фосфолипидов и холестерина совпадают с изменениями содержания α -липопротеидов. Синхронность этих изменений позволяет сделать вывод о том, что альбумины транспортируют триглицериды и свободные жирные кислоты, а α -липопротеиды — фосфолипиды и холестерин.

По мере дальнейшего развития гонад постепенно увеличивается использование липопротеидов на нужды генеративного обмена. В этот период наиболее тесна связь между содержанием липопротеидов, в частности, липоальбумина, с коэффициентом жирности печени ($r = -0,92$) и коэффициентом зрелости гонад ($r = -0,86$). Усиливаются процессы вителлогенеза, скорость роста ооцитов резко возрастает и за короткий промежуток времени они достигают окончательного размера. Завершается накопление желтка (Mengi, 1965). Метаболическая активность печени повышается, что приводит к мобилизации и интенсивному использованию веществ, депонированных в печеночных клетках (Равен, 1964). Относительное содержание триглицеридов и свободных жирных кислот в печени снижается при одновременном увеличении их содержания в крови (Шатуновский, 1971). Увеличивается относительная доля липоальбумина при продолжающемся снижении его абсолютного содержания. В сыворотке крови появляется β -липопротеид. Его появление у созревающих самок кижуча, бычка-кругляка зафиксировано некоторыми исследователями (Vanstone and Chung Wai Ho, 1961; Куликова, 1967). Никаких признаков синтетической активности

социтов в этот период не отмечено, т. е. вещества желтка поглощаются яйцом из крови в готовом виде; они, как показал Клавер, синтезируются главным образом в печени (цит. по Равен, 1964).

Относительно большая вариабельность содержания β -липопротеидов у некоторых особей трески вызвана, на наш взгляд, быстротечностью процессов вителлогенеза.

На пятой стадии зрелости гонад темпы использования липопротеидов на нужды генеративного обмена снижаются: содержание липоальбумина увеличивается, β -липопротеид исчезает из крови. Формирование ооцитов завершено, происходит обводнение икры (Mengi, 1965).

У самцов статистически достоверных изменений абсолютного содержания липопротеидов в ходе сперматогенеза отмечено не было. Иная картина наблюдается у самцов в динамике изменений соотношения липоальбумина и α -липопротеида. Увеличение процента липоальбумина и соответственное снижение процента α -липопротеида у самцов более продолжительно по времени, чем у самок. В это время развитие семенников характеризуется бурным процессом сперматогиональных делений. Потребление протоплазматических липидов увеличивается на третьей—четвертой стадиях гонад (см. рисунок), т. е. в момент усиленного формирования сперматозоидов из сперматид и сперматоцитов. У самцов баренцевоморской трески в это время продемонстрировано резкое увеличение содержания жира в гонадах.

Своеобразие изменений соотношения между липоальбумином и α -липопротеидом основано, очевидно, на том, что у самцов триглицериды и свободные жирные кислоты идут в основном на энергетические нужды родительского организма. У самок же, кроме этого, необходим определенный запас резервных липидов в ооцитах для обеспечения энергией развивающихся личинок. В связи с этим у самцов в меньшей степени изменяются коэффициенты жирности печени и абсолютное содержание липопротеидов во время сперматогенеза (см. таблицу и рисунок), а также меньше, чем у самок, концентрация липидов в плазме (Plack and Woodhead, 1966). Кроме того, необходимо учесть меньшие запасы липидов в сперматозоидах и их способность синтезировать липиды из глюкозы и ацетата окружающей среды (Minassian and Tegner, 1966). Естественно предположить, что, во-первых, липиды играют меньшую роль в генеративном обмене самок нежели у самок, и, во-вторых, что у самцов в генеративном обмене определенную роль играют углеводы, в частности глюкоза. Обращает на себя внимание увеличенное содержание гликогена в печени и уменьшенное содержание глюкозы в крови самцов беломорской трески по сравнению с самками (Шатуновский, Денисова, 1968) и высокий дыхательный коэффициент в преднерестовый период у самцов рыб некоторых видов (Строганов, 1962).

Самцы		Самки	
стадия зрелости	K_n	стадия зрелости	K_n
II	6,4±0,3	II	6,0±0,5
III	9,8±0,6	III	6,5±0,6
IV	13,3±2,1	IV	8,1±1,5
V	9,9±0,4	V	5,7±0,5
—	—	VI	4,8±0,5

Каких-либо возрастных изменений в содержании липопротеидов в ходе гематогенеза отмечено не было.

Содержание липопротеидов как у самок, так и у самцов отличается высокой индивидуальной изменчивостью, что характерно для жирового обмена у рыб. Отмечены высокие индивидуальные колебания общего содержания жира (Шульман, 1969) и содержания отдельных жирных кислот жиров рыб (Jangaard et al., 1967). Характер индивидуальной изменчивости содержания липопротеидов в сыворотке крови подчиняется определенным закономерностям. Например, у самок с гонадами на второй стадии зрелости, когда наблюдается большая разнокачественность особей, обусловленная одновременностью созревания и различной интенсивностью нагула (декабрь — январь), индивидуальная изменчивость содержания липопротеидов велика ($CU=65\%$), а когда рыбы разделяются на готовящихся к нересту в феврале — апреле и неполовозрелых, которые будут нереститься летом, — индивидуальная изменчивость содержания липопротеидов уменьшается ($CU=20—30\%$).

Из всех абиотических факторов внешней среды, влияющих на распространение, образ жизни и развитие водных организмов, наиболее важным является температура воды, тем более, что он определяет и другие факторы как физические (плотность и вязкость воды, концентрация растворенных в ней газов), так и биологические (уровень и направление обмена веществ, распределение кормовых организмов). С помощью дисперсионного анализа удалось установить прямую связь между температурой воды и содержанием липопротеидов в сыворотке крови ($\eta^2=0,65$).

Одной из возможных причин изменения содержания липопротеидов сыворотки крови балтийской трески могут быть различия в степени накормленности и упитанности рыб. В некоторые месяцы нагула отмечена прямая связь между упитанностью рыб и содержанием липопротеидов в крови ($r=+0,76$, $P=0,999$). Уменьшение содержания липопротеидов может быть связано с уменьшением количества белка в сыворотке, а также уменьшением жира в печени, как это отмечено некоторыми авторами (Love, 1958; Kamra, 1966).

Определенное влияние на содержание липопротеидов оказывает и заражение печени паразитами, которое в первую очередь сказывается на упитанности рыб, в частности трески: снижается количество жира в печени и ее вес (Петрушевский, 1954; Канд, 1955; Шульман, 1948). Причем в некоторых случаях между изменениями веса рыб, их упитанности и содержания липопротеидов прямой связи не наблюдается. По всей вероятности, эффект заражения печени паразитами зависит от количества паразитов, от стадии их развития и от возраста зараженной рыбы.

ВЫВОДЫ

1. При помощи электрофореза на агаре в сыворотке крови у балтийской трески выявлены три фракции липопротеидов, липоальбумин, α -липопротеид и β -липопротеид.

2. По всей вероятности, липоальбумин является переносчиком триглицеридов и свободных жирных кислот, а α -липопротеид — фосфолипидов и холестерина.

3. Между самцами и самками в ходе гаметогенеза существуют качественные и количественные различия в динамике содержания липопротеидов в сыворотке крови.

4. На динамику содержания липопротеидов существенное влияние оказывают изменения температуры воды, степень накормленности и упитанность рыб, а также заражение печени трески паразитами.

ЛИТЕРАТУРА

Исаев Ф. А., Макарова Н. П., Сорвачев К. Ф., Шатуновский М. И. Состав липидов печени, гонад и сывороточных белков беломорской трески и наваги. «Вестник МГУ», 1969, № 4.

Канд М. Э. Содержание жира в печени трески, добываемой в водах Эст. ССР. «Рыбн. хоз-во», 1955, № 10.

Конышев В. А. Гуморальный фактор регуляции роста печени куриных эмбрионов. «Журн. общ. биологии». Т. 29, № 5, 1968.

Куликова Н. И. О сывороточных липопротендах крови рыб. Сб. «Обмен веществ и биохимия рыб». М., 1967.

Петрушевский Г. К. Влияние паразитарных заболеваний на упитанность рыб. «Зоол. журн.». Т. 30, № 2, 1954.

Равен Х. Н. Оогенез. М., изд. иностр. лит-ры, 1964.

Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб, М., 1962.

Стейнберг Д., Вон М. Факторы, регулирующие мобилизацию жирных кислот из жировой ткани. Тр. 5-го Международного биохимического конгресса. Биосинтез липидов, симп. 7., 1962.

Шатуновский М. И. Изменения в качественном составе липидов органов и тканей балтийской трески в ходе созревания гонад. «Вопр. ихтиолог.». Т. 11, № 6, 1971.

Шатуновский М. И., Сорвачев К. Ф., Исаев Ф. А. Некоторые результаты электрофоретического исследования белков и липопротендов сыворотки крови наваги и трески Белого моря. «Вестник МГУ», 1967, № 3.

Шатуновский М. И., Деисова Л. И. Изменение содержания липидов и глюкозы в печени наваги и трески Белого моря. Биологические науки, № 11, 1968.

Шульман Г. Е. Физиолого-биохимические особенности состояния рыб в различные периоды годового цикла. Автореферат дисс. на соискание степени д-ра биол. наук, М., 1969.

Шульман С. С. Глистное заболевание печени трески. «Рыбн. хоз-во», 1948, № 4.

Wogucki, M. & Trzesinski, P. Fluctuations in the water and fat content of cod. J. Cons., 16 (2), 1950.

Kamra, S. K. Effect of starvation and refeeding on some liver and blood constituents of Atlantic cod (*Gadus morhua*). J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 23, No. 7, 1966.

Jangaard, P. M., Brockerhoff, H., Burgher, R. D., & Hoyle, R. J. Seasonal changes in general condition and lipid content of cod from inshore waters. J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 24, 3, 1967.

Love, R. M. Studies on North Sea cod. Effect of starvation. J. Sci. Fd. Agric. No. 9, 1958.

Mengi, E. Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des reifenden Ovariums des Ostseedorsches. Kieler Meeresf. Bd. 21, H. 1, 1965.

Minassian, E. S., Turner, C. Biosynthesis of lipids by human and fish spermatozoa. Am. J. Physiol. 210, 1966.

Morris, B. The proteins and lipids of the plasma of some species of Australian fresh- and salt-water fish. J. Cell. & Comp. Physiol., Vol. 54, No 3, 1959.

Plack, P. A. & Woodhead, P. M. J. Vitamin A compounds and lipids in the blood of cod, *Gadus morhua*, from the Arctic, in relation to gonadal maturation. J. Mar. biol. Ass. U. K., 46, 1966.

Saito, K. Biochemical studies on the fish blood. XIII. On the electrophoretic specificity of serum lipoprotein and glucoprotein. Bull. Jap. Sci. Fish. Vol. 24, NN 6—7, 1958.

Vanstone, W. E. & Chung Wai Ho. Plasma proteins of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, as separated by zone electrophoresis. J. Fish. Res. Bd. Canada, Vol. 18, No. 3, 1961.

Woodhead, A. D. & Woodhead, P. M. J. Seasonal changes in physiology of the Barents Sea cod, *Gadus morhua* L., in relation to its environment. ICNAF Sp. Publ., 6, 1965.

DYNAMICS OF LIPOPROTEIN CONTENT IN THE BLOOD SERUM OF BALTIC COD

V. V. Ipatov

Summary

The seasonal and age variability of lipoproteins in the blood serum of Baltic cod has been studied by agar-gel electrophoresis. Fractions of lipoalbumins and of α - and β -lipoproteins have been separated. Changes in water temperature, degree of maturity of fish, their age, degree of satiation, condition factor and the level of liver infection with parasites have been shown to considerably influence the dynamics of lipoprotein content.