

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У МОЛОДИ БЕСТЕРА ПРИ ТИМПАНИИ

Абросимова Н. А.

Филиал ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет технологий и управления им. К. Г. Разумовского», г. Ростов-на-Дону, Министерства образования и науки Российской Федерации, Россия, Ростов-на-Дону (344000, г. Ростов-на-Дону, ул. Пушкинская, 174), e-mail: abrosimovana@yandex.ru

Рассмотрены изменения активности пищеварительных ферментов у молоди бестера на начальной, средней и предагональной стадиях заболевания тимпанией. Характерным является соответствие динамики развития тимпании динамике изменения активности пищеварительных ферментов в печени, желудке и кишечнике. По мере возрастания тяжести заболевания активность кислой фосфатазы в печени и кишечнике последовательно уменьшалась, а щелочной фосфатазы наоборот увеличивалась от 1-й к 3-й стадии по сравнению со здоровой рыбой. Активность протеолитических ферментов желудка – пепсина и пепсиногена, а также ферментов поджелудочной железы – химотрипсина+трипсина и амилазы – в кишечнике больных рыб снижалась в соответствии с развитием тимпании. Активность липазы повышалась со 2-й стадии заболевания, а резкое увеличение активности фосфолипазы А – уже на 1-й стадии заболевания. Выявленные у больных рыб изменения активности ферментов свидетельствуют об активации процесса липолиза и высвобождении жирных кислот, нарушении скорости катализа триглицеридов и сложных эфиров фосфорной кислоты, что отрицательно влияет на энергетику и метаболизм клеток. Следовательно, динамика изменения активности пищеварительных ферментов может служить отражением развивающегося патологического процесса. К показательным изменениям пищеварительной функции органов пищеварения следует отнести активность кислой и щелочной фосфатаз в печени, липазы и фосфолипазы А в кишечнике.

Ключевые слова: тимпания, пищеварительные ферменты, печень, желудок, кишечник.

ACTIVITY CHANGES IN THE DIGESTIVE ENZYMES OF YOUNG BESTER SUFFERING FROM TYMPANISM

Abrosimova N. A.

*Affiliation of Moscow State University of Technologies and Management
n.a. K.G. Razumovski in Rostov-on-Don, Rostov-on-Don, Russia (344000, Rostov-on-Don, Pushkinskaya 174), e-mail:
abrosimovana@yandex.ru*

We have studied changes in the activity of digestive enzymes of young bester at the initial, middle and preagonal stages of tympany disease. The dynamics of tympanism development was found to correspond to the dynamics of changes in the activity of digestive enzymes in the liver, stomach and intestines. The heavier became the illness, the less was the activity of acid phosphatase while that of alkaline phosphatase increased reaching the third stage if compared to the healthy fish. The proteolytic activity of the stomach enzymes pepsin and pepsinogen as well as the activity of the pancreas enzymes chymotrypsin+trypsin and amylase decreased in the intestines of the sick fish in accordance with the disease development. Lipase activity started elevating from the second stage of the disease, while the activity of phospholipase A had already increased sharply at the first stage. The changes in the enzyme activity observed in the sick fish evidence the activation of the lipolysis process and release of fatty acids, loss of catalysis rate of triglycerides and phosphoric acid esters that negatively affects the cell energy and metabolism. Therefore the dynamics of changes in the activity of digestive enzymes may reflect the developing pathological process. The activities of acid and alkaline phosphatase in the liver, lipase and phospholipase A in the intestine are considered to be characteristic of disorders in the digestive system.

Key words: tympanism, digestive enzymes, liver, stomach, intestine.

Введение

Кормление молоди осетровых рыб при интенсивном разведении в основном базируется на сухих гранулированных комбикормах. При этом чем меньше доля естественных кормов в рационе, тем более высока опасность нарушения обмена веществ и возникновения алиментарных заболеваний, вызванных неполноценностью кормов или их

недоброкачественностью. Решение проблем искусственного кормления рыб непосредственно связано с изучением становления пищеварительных ферментов, так как деградация сложных пищевых структур с образованием преимущественно мономеров происходит в основном под влиянием гидролитических ферментов, которые тесно связаны с эндомикрофлорой пищеварительного тракта (кишечника) и составом рациона [8, 9].

Благодаря своему «врожденному иммунитету», позволившему сохраниться этому древнему семейству, осетровые рыбы имеют немного заболеваний, по сравнению с другими рыбами. Вместе с тем, изучение существующих и регистрируемых на сегодняшний день заболеваний находится на относительно низком уровне. К таким заболеваниям относится тимпания.

Согласно литературным и экспериментальным данным следует предположить, что тимпания является следствием качественного и количественного изменения нормальной микрофлоры кишечника, сопровождающегося развитием нетипичных для него микроорганизмов – дрожжей рода *Candida*, плесеней и, возможно, других микроорганизмов [1, 4]. Анализ заболеваний молоди осетровых рыб на рыбопроизводных заводах выявил факт возникновения тимпании при длительном кормлении сухим гранулированным кормом. Вероятно, возникновение тимпании провоцируется однотипностью диеты вследствие нарушения непрерывно изменяющегося взаимодействия микробного населения и организма.

Материал и методы исследований

Объектом исследований служила молодь бестера массой около 1.5–2.0 г с различной степенью тяжести заболевания тимпанией. В зависимости от степени поражения молоди больная рыба условно была разделена на 3 группы: 1-я (начальная), 2-я (средней тяжести) и 3-я (тяжелая или предагональная). Визуально тяжесть заболевания определяется по припухлости брюшка и поведению [1]. На 3-й стадии молодь перестает питаться, держится на поверхности воды, не реагируя на внешние раздражители.

Активность пищеварительных ферментов определяли в печени, желудке и кишечнике молоди бестера на 3-х стадиях заболевания. Определения проводили на средней пробе. В качестве контроля принимали здоровую молодь (без признаков припухлости брюшка).

Активность кислых протеиназ (пепсиноген, пепсин) определяли по методу Ансона, щелочных протеиназ (трипсин, химотрипсин) – по Кунтцу [5], активность амилазы – по методу А. А. Покровского и В. М. Щербакова [6], щелочной и кислой фосфатазы – методом Бессея-Лоури [5], липазы – по скорости гидролиза трибутирина [10], фосфатазы А – колориметрически.

Результаты исследований и их обсуждение

На начальной стадии тимпании активность кислой фосфатазы в печени лишь незначительно (на 9 %) снижалась по сравнению со здоровыми рыбами. По мере возрастания тяжести заболевания ее активность последовательно уменьшалась на 35 и 56 %. Активность щелочной фосфатазы наоборот увеличивалась от 1 к 3 стадии соответственно на 9, 30 и 78 % по сравнению со здоровой рыбой (рис. 1).

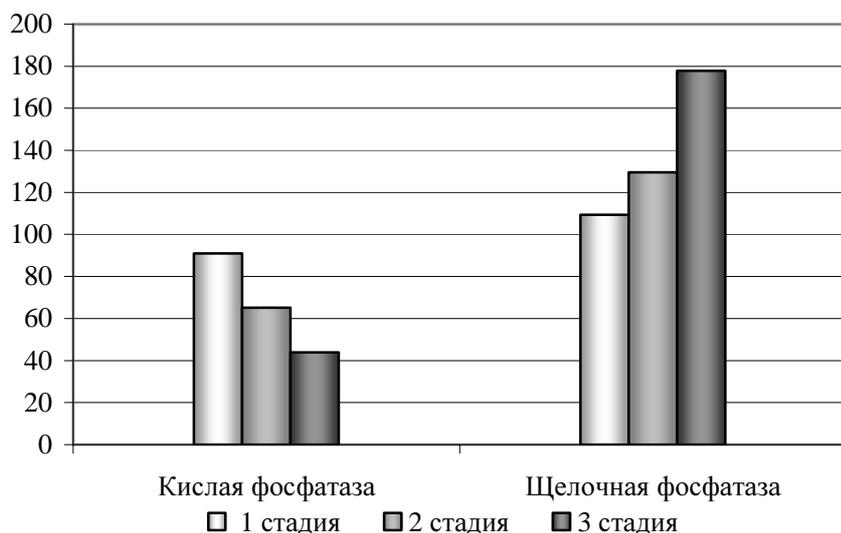


Рисунок 1. Активность фосфатаз в печени больной молоди бестера, % к контролю (контроль принят за 100 %)

Активность протеолитических ферментов желудка больных рыб снижалась в соответствии с динамикой развития тимпании. Если на начальной 1 стадии заболевания активность пепсина и пепсиногена у больных рыб была равна или близка к таковой контрольной молоди (различия не превышали 7 %), то в дальнейшем на 2 и 3 стадиях активность данных ферментов снижалась соответственно на 21–31 и 33–45 % (рис. 2).

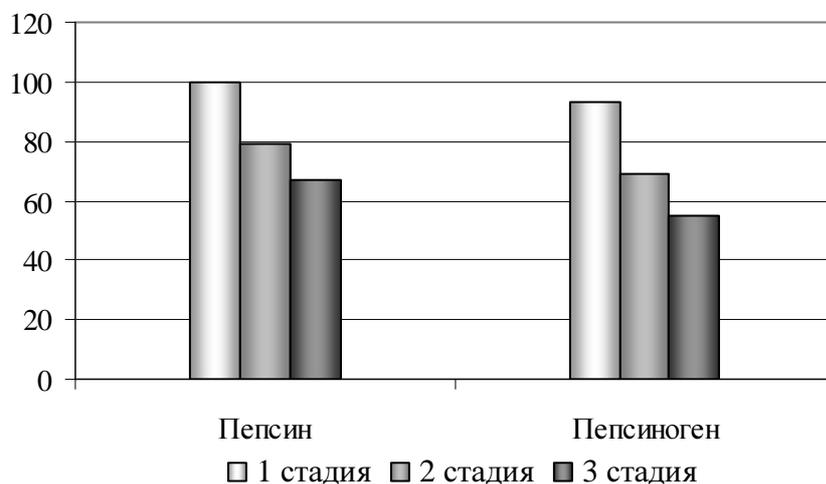


Рисунок 2. Активность протеолитических ферментов в желудке больной молоди бестера, % к контролю (контроль принят за 100 %)

Активность ферментов поджелудочной железы – химотрипсина+трипсина и амилазы – в кишечнике больных рыб на 1 стадии тимпании мало отличалась от контрольной молоди (различия соответственно составили 13 и 7 %). Более существенно активность этих ферментов снижалась от 2 к 3 стадии заболевания. Так, суммарная активность химотрипсина и трипсина уменьшилась на 33 % и далее на 53 %, а амилазы – на 30 % и почти 60 % по сравнению с контролем (рис. 3).

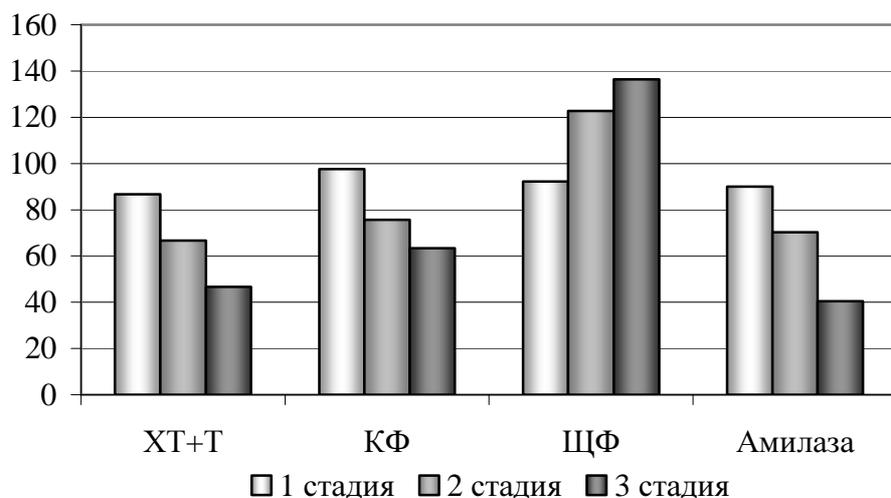


Рисунок 3. Активность ферментов кишечника больной молоди бестера, % к контролю (контроль принят за 100 %): ХТ+Т – химотрипсин+трипсин, КФ – кислая фосфатаза, ЩФ – щелочная фосфатаза

Направленность изменений активности фосфатаз аналогична таковой в печени. Минимальны отличия активности кислой и щелочной фосфатаз на начальной стадии заболевания – 2–7 %. Активность кислой фосфатазы к 2-й и затем 3-й стадии тимпании снижалась на 24 и 37 %, а активность щелочной фосфатазы повышалась соответственно на 23 и 36 %.

Снижение активности протеолитических ферментов и амилазы у больных рыб, в первую очередь обусловлено снижением интенсивности или отсутствием потребления пищи. Что характерно при голодании. Нарушение баланса активности изученных фосфатаз, играющих важную роль в регуляции обмена фосфорилированных соединений, приводит к изменению направленности липидного обмена у больных рыб. Вследствие этого у них повышается уровень триацилглицеринов, моно- и диацилглицеринов и уменьшается содержание фосфолипидов [4].

Важная роль в метаболизме внутриклеточных липидов и функционировании биологических мембран принадлежит липазе [2]. Как показано на рисунке 4, активность липазы у рыб на второй стадии заболевания возросла на 30.8 %, на третьей стадии – на 46.2 % по сравнению со здоровыми рыбами.

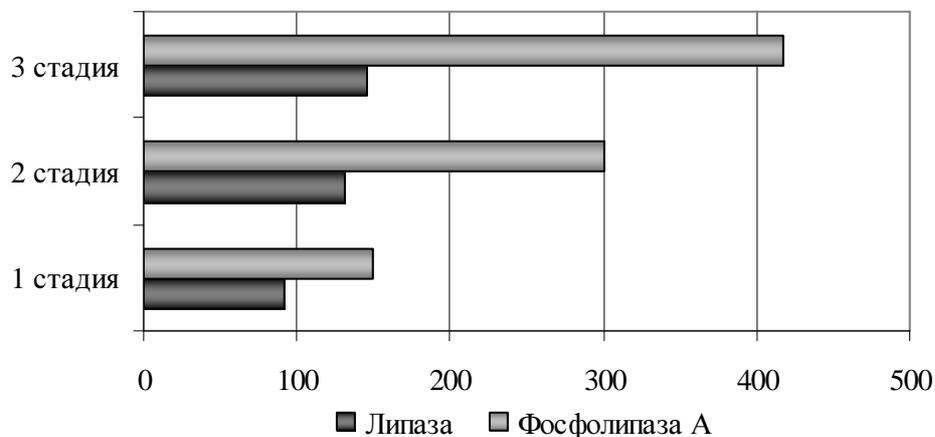


Рисунок 4. Активность липазы и фосфолипазы А в кишечнике молоди бестера в процессе развития тимпани, % к контролю (контроль принят за 100 %)

Подобное резкое увеличение активности фермента свидетельствует об активации процесса липолиза и высвобождении жирных кислот.

Еще большее влияние оказывает тимпания на активность фосфолипазы А. Уже на первой стадии ее активность возросла в 1.5, на второй – в 3 и третьей (предагональной) – более чем в 4 раза. Согласно литературным данным и данным экспериментальных исследований между активностью фосфолипазы и окислением липидов существует прямая зависимость. Об этом свидетельствует синхронность изменений активности фосфолипаз и перекисления липидов, поскольку перекисленные мембранные липиды в первую очередь подвергаются воздействию эндогенных фосфолипаз [3, 7]. Вовлечение липидов клеточных мембран в процессы перекисного окисления является существенным фактором структурной и функциональной их дестабилизации. Наряду с этим, продукты начальных этапов перекисления, а также лизофосфатидилхолины, образующиеся под действием фосфолипаз, являются чрезвычайно биологически агрессивными, обладающими выраженными мембранодеструктивными свойствами. Следовательно, при выявленных у больных рыб изменениях активности фосфатаз, липазы и фосфолипазы А у них нарушается скорость катализа триглицеридов и сложных эфиров фосфорной кислоты, что отрицательно влияет на энергетику и метаболизм клеток.

Таким образом, динамика развития тимпани у молоди бестера соответствует динамике изменения активности пищеварительных ферментов в печени, желудке и кишечнике и может

служить отражением развивающегося патологического процесса. К показательным изменениям пищеварительной функции органов пищеварения следует отнести активность кислой и щелочной фосфатаз в печени, липазы и фосфолипазы А в кишечнике.

Список литературы

1. 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.
2. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты. – М.: Мир, 1978. – 396 с.
3. Бурлаков Е. Б., Алексеенко А. В., Аристархова С. А. и др. Механизмы реактивации липидзависимых ферментов при патологических состояниях // Липиды биологических мембран. – Ташкент, 1982. – С. 16–23.
4. Головина Н. А., Головин П. П., Романова Н. Н., Иванова Н. С. Алиментарные болезни рыб, выращиваемых в условиях теплых вод. Итоги тридцатилетнего развития рыбоводства на теплых водах и перспективы на XXI век: Материалы международного симпозиума. – М.; СПб., 1998. – С. 236–243.
5. Клиническая ферментология. Справочник [под ред. Э. Щеклика]. – Варшава: Польское государственное медицинское издательство, 1966. – 500 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник [под ред. В. В. Меншикова]. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Олехнович В. М., Сорогин В. П., Жогин С. В. и др. Особенности перекисления липидов и антиоксидантных функций при аллергических и инфекционных поражениях бронхолегочной системы у детей // Механизмы регуляции обмена веществ в норме и патологии: Сб. научн. тр. – Свердловск, 1982. – С. 11–14.
8. Сорвачев К. Ф. Основы биохимии питания рыб. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 247 с.
9. Уголев А. М. Естественные технологии биологических систем. – Л.: Наука, 1987. – 317 с.
10. Jang Jach-Sing, Biggs H.L. Rapid reliable method for measuring serum lipase activity “Clin. Chem”. 1971, 17. № 6. P. 512–518.

Рецензенты:

Пономарева Елена Николаевна, д. б. н., профессор, зав. отделом водных биологических ресурсов бассейнов южных морей Южного научного центра Российской Академии наук, г. Ростов-на-Дону.

Студеникина Екатерина Ивановна, д.б.н., доцент, зав. отделом Океанографии Азовского НИИ рыбного хозяйства Агенства по рыболовству, г. Ростов-на-Дону.