

## Роль гликолиза при холодовой адаптации карася серебряного *Carassius auratus gibelio*

UDC 57 043:577.124.22

L.I. RELINA\*, YE.G. ZHEGUNOVA, YE.A. GRISCHENKOVA  
**Glycolysis Role During Cold Adaptation in *Carassius auratus gibelio***

Представлены данные, которые характеризуют уровень анаэробного энергообмена у карася серебряного *Carassius auratus gibelio* в зимний период. Установлено, что зимой изменяется активность ЛДГ, увеличивается содержание лактата, а также соотношение лактат\пируват во всех тканях рыб. Изменения активности ЛДГ и содержания указанных метаболитов при понижении температуры указывают на переход организма рыб преимущественно на анаэробный тип энергообмена при данных условиях.

**Ключевые слова:** карась серебряный, гликолиз, холодовая адаптация

Представлено дані, які характеризують рівень анаеробного енергообміну у карася срібляного *Carassius auratus gibelio* в зимовий період. Встановлено, що взимку змінюється активність ЛДГ, зростає вміст лактату, а також співвідношення лактат\піруват в усіх тканинах риб. Зміни активності ЛДГ та вмісту вказаних метаболітів при зниженні температури свідчать про перехід організму риб переважно на анаеробний тип енергообміну за цих умов.

**Ключові слова:** карась срібляний, гліколіз, холодова адаптація.

The data characterizing the level of anaerobic energetic metabolism in the wild type of goldfish *Carassius auratus gibelio* during winter period are shown. It was determined that during winter LDH activity changed, lactate content as well as the lactate/pyruvate ratio increased for all fish tissues. Changes in LDH activity and metabolite content during temperature decrease indicate a switch of fish organism to predominantly anaerobic type of energetic metabolism under these conditions.

**Key-words:** *Carassius auratus gibelio*, glycolysis, cold adaptation.

Одним из механизмов приспособления к выживанию в неблагоприятных условиях внешней среды для многих видов животных является оцепенение. В этом состоянии все процессы жизнедеятельности у животных сведены к минимуму и они без вреда для организма могут переносить голод, гипоксию, гиперкапнию, гипотермию и т.д. [2]. Некоторые виды рыб впадают в состояние зимнего оцепенения или снопоподобное состояние. Одним из таких видов является карась серебряный *Carassius auratus gibelio* L (1758). У рыб, относящихся к пойкилотермным животным, при изменении температуры окружающей среды меняются температура тела и интенсивность обмена веществ.

Приспособительные механизмы метаболизма, вызванные колебаниями температуры, тесно связаны с выработкой макроэргических соединений в аэробных и анаэробных метаболических путях. О функциональном состоянии гликолиза и цикла трикарбоновых кислот косвенно можно судить по активности отдельных ферментов при разных температурах. Поскольку лактатдегидрогеназа (ЛДГ) функционирует на заключительном этапе

One of the mechanisms of adaptation to survival under unfavorable environmental conditions for many animal species is torpor. In this state all processes of vital activity in animals are reduced to minimum and they may survive hunger, hypoxia, hypercapnia, hypothermia etc. with no harm for their organisms [2]. Some fish species fall either into a winter torpor state or sleep-like one. One of these species is the wild type of goldfish *Carassius auratus gibelio* L (1758). In fishes belonging to poikilotherms during change in environmental temperature the body temperature and metabolism intensity change.

Adaptive mechanisms of metabolism caused by temperature variations are tightly related to the production of macroergic compounds in aerobic and anaerobic metabolic pathways.

Functional state of glycolysis and cycle of tricarbone acids may be indirectly judged on the activity of certain enzymes at various temperatures. Since lactate dehydrogenase (LDH) functions at a final stage of glycolysis its activity together with other parameters are used as an index for the level of anaerobic metabolism.

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 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

гликолиза, её активность, наряду с другими показателями, используют как показатель уровня анаэробного обмена.

Цель работы – исследование изменения активности ЛДГ и содержания лактата и пирувата в тканях у карася серебряного *C. a. gibelio* при адаптации к низким температурам.

### Материалы и методы

В работе использовали рыб, выловленных зимой (январь). Часть рыб содержали в холодильной камере при температуре 4-5°C (адаптированные к холоду), другую – при комнатной температуре 20-22°C (контроль) длительностью не менее 2-х недель.

Для определения активности ЛДГ в белых и красных мышцах и в печени в направлении лактат→пируват использовали наборы фирмы “Реагент” (г. Днепропетровск). Принцип метода основан на способности ЛДГ в присутствии никотинамидадениндинуклеотида (НАД) окислять L-лактат до пировиноградной кислоты, которая при реакции с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде образует окрашенный продукт – гидразон пировиноградной кислоты [3]. Интенсивность окраски прямо пропорциональна активности фермента. Фрагмент ткани весом около 400 мг гомогенизировали на льду в 1,5 мл 0,1 М фосфатного буфера, pH 7,4. Гомогенат центрифугировали при 1800g в течение 5 мин, 50 мкл надосадка отбирали для проведения ферментативной реакции. Активность ЛДГ определяли при 20-22°C спектрофотометрически при 540 нм, длительность инкубации составляла 15 мин. Реакцию останавливали добавлением 2,4-динитрофенилгидразина.

Лактатдегидрогеназную активность в направлении пируват→лактат определяли по скорости окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН<sub>2</sub>) при 340 нм [1]. Ферментативную реакцию проводили при 20-22°C в течение 5 мин. Концентрацию белка в пробах определяли по стандартной методике [6] с помощью раствора Бредфорда.

Содержание лактата и пирувата определяли, как описано в [5]. Фрагмент замороженной ткани (300 мг) растирали, переносили в пробирку, содержащую 1 мл 6% HClO<sub>4</sub>, и добавляли 6% HClO<sub>4</sub> до соотношения ткань:кислота 1:4. Пробы перемешивали и оставляли на ледяной бане на 10 мин, затем центрифугировали в течение 15 мин при 1800 g. К надосадку приливали 5 М K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> из расчета 0,05 мл на 1 мл надосадка. Пробы перемешивали, инкубировали на ледяной бане до прекращения выделения CO<sub>2</sub> и центрифугировали при 1800 g в течение 5 мин. Для определения количества лактата в кювету наливали 2,0 мл глицин-гидра-

The research aim is to investigate the change in LDH activity and content of lactate and pyruvate in the tissues of *C. a. gibelio* during adaptation to low temperatures.

### Materials and methods

In the research the fish caught in winter (January) was used. The part of fish was maintained in cold chamber at 4-5°C (cold-adapted), another part was kept at room temperature of 20-22°C (control) for more than 2 weeks.

To determine the LDH activity in white and red muscles as well as in liver in lactate→pyruvate direction the kits (“Reagent”, Dnepropetrovsk, Ukraine) were used. The method is based on LDH ability in presence of nicotinamideadeninenucleotide (NAD) to oxidize L-lactate to pyruvic acid, which being in reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine in alkaline medium forms the stained product: pyruvic acid hydrazone [3]. Staining intensity is in a direct proportion with the enzyme activity. A tissue fragment weighed about 400 mg was homogenized on ice in 1.5 ml of 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4. Homogenate was centrifuged at 1800g for 5 min, 50 µl of supernatant was taken to perform enzyme reaction. LDH activity was measured at 20-22°C spectrophotometrically at 540 nm, incubation duration was 15 min. The reaction was stopped by adding 2,4-dinitrophenylhydrazine.

Lactate dehydrogenase activity in pyruvate→lactate direction was examined on the rate of oxidation of nicotinamideadeninenucleotide (NADH<sub>2</sub>) at 340 nm [1]. Enzyme reaction was performed at 20-22°C for 5 min. Protein concentration in the samples was found on the standard methods [6] using Bredford solution.

Contents of lactate and pyruvate were examined as described [7]. A frozen tissue fragment weighed 300 mg was ground up, transferred into a vial, containing 1 ml 6% HClO<sub>4</sub>, and 6% HClO<sub>4</sub> was added to 1:4 tissue:acid ratio. The samples were stirred and left in ice bath for 10 min, and then they were centrifuged for 15 min at 1800g. Then 5 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added to supernatants at the rate of 0.05 ml per 1 ml of supernatant. The samples were stirred, incubated on ice bath until CO<sub>2</sub> emanation stopped and centrifuged at 1800g for 5 min. To examine lactate quantity 2.0 ml glycin-hydrazine buffer (0.4 M hydrazine sulphate, 1 M glycin, pH 9.5), 0.2 ml 0.05 M NAD and 0.2 ml of tissue extract were added into a cuvette. Optical density vs. buffer at 340 nm was measured, afterwards 0.05 ml of LDH preparation with protein content of 5 mg/ml was added and the extinction value was measured after its growth ceasing.

To determine the pyruvate content a frozen tissue fragment weighed 300 mg was ground with 2ml of 0.6 M HCO<sub>4</sub> and incubated on ice bath for 15 min,

зинового буфера (0,4 М гидразинсульфата, 1 М глицина, рН 9,5), 0,2 мл 0,05 М раствора НАД и 0,2 мл тканевого экстракта. Измеряли оптическую плотность против буфера при 340 нм, после чего добавляли 0,05 мл препарата ЛДГ с содержанием белка 5 мг/мл и измеряли величину экстинкции после прекращения её роста.

При определении содержания пирувата фрагмент замороженной ткани (300 мг) растирали с 2 мл 0,6 М  $\text{HClO}_4$  и инкубировали на ледяной бане 15 мин, добавляли 0,6 М  $\text{HClO}_4$  до соотношения ткань:кислота 1:9. Затем пробы центрифугировали в течение 10 мин при 1800 г. Пробы нейтрализовали, приливая по 0,2 мл 5 М  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , и инкубировали 10 мин на ледяной бане, после чего центрифугировали 10 мин при 1800 г. Надосадки отбирали и хранили при  $-80^\circ\text{C}$ . Для определения количества пирувата в кювету вносили 1,2 мл 0,5 М триэтанол-аминового буфера (рН 7,6) и 0,8 мл размороженного тканевого экстракта. Фоновое значение экстинкции определяли при 340 нм. В пробу вносили 0,05 мл 6 мМ раствора  $\text{NADH}_2$  и измеряли оптическую плотность. Через 5 мин после добавления 0,05 мл препарата ЛДГ с содержанием фермента 0,5 мг/мл измеряли оптическую плотность. В экспериментах использовали реактивы фирмы "Sigma" (США).

Полученные цифровые данные были статистически обработаны с использованием критерия Манна-Уитни в программе StatgraphicWin.

### Результаты и обсуждение

В результате исследований установлено, что активность ЛДГ в направлении лактат→пируват в красных и белых мышцах, а также в печени была снижена у рыб, адаптированных к низкой температуре (рис. 1). В то же время активность ЛДГ, направленная на образование лактата у холодоадаптированных особей, достоверно выше по сравнению с контролем во всех изученных тканях (рис. 2). Это хорошо согласуется с данными [4, 7], свидетельствующими о повышении роли гликолиза при низкой температуре.

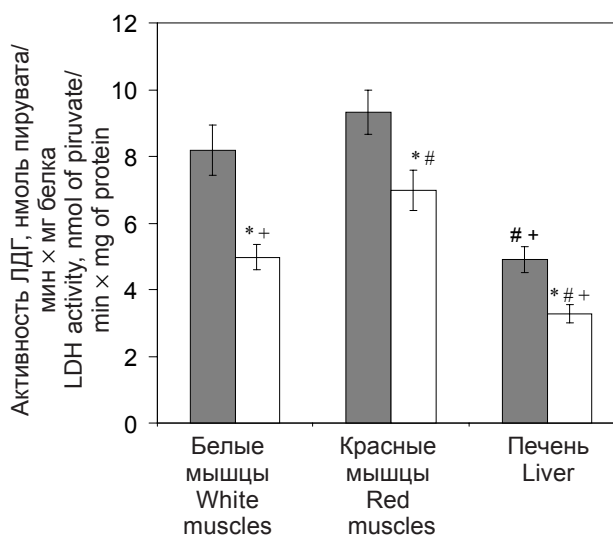
Не обнаружено достоверных различий между красными и белыми мышцами в активности ЛДГ при образовании пирувата у карасей, содержащихся при комнатной температуре, хотя активность ЛДГ при образовании лактата в данных условиях была выше в белых мышцах. Изменение активности фермента только в одном направлении реакции обусловлено работой разных изоформ. Обнаружено, что в белых мышцах преобладает анаэробный энергообмен [4]. Например, у морских рыб наблюдается следующая закономерность: чем выше их подвижность, тем выше активность ЛДГ, определяемая по скорости окисления  $\text{NADH}_2$ , в

0.6 М  $\text{HClO}_4$  was added up to 1:9 tissue:acid ratio. Then the samples were centrifuged for 10 min at 1800g. The samples were neutralized by pouring 0.2 ml 5 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$  and incubated for 10 min on ice bath afterwards they were centrifuged for 10 min at 1800g. The supernatants were removed and stored at  $-80^\circ\text{C}$ . To find out the amount of pyruvate 1.2 ml of 0.5 triethanolamine buffer (pH 7.6) and 0.8 ml of thawed tissue extract were put into a cuvette. The background value of extinction were determined at 340 nm. Into the sample 0.05 ml of 6 mM of solution  $\text{NADH}_2$  was added and optical density was measured. Five minutes later after adding 0.05 ml of LDH preparation with the enzyme content of 0.5 mg/ml an optical density was measured. In the experiments the reagents of Sigma company (USA) were used.

The obtained digital data were statistically processed using Mann-Witney criterion with the StatgraphicWin software.

### Results and discussion

In the result of the research it has been established that LDH activity in lactate→pyruvate direction in red and white muscles as well as in liver was reduced in the fish adapted to low temperature (Fig. 1). At the same time LDH activity directed to the formation of lactate in cold-adapted individuals is statistically higher if compared with the control in the all studied



**Рис. 1.** Активность ЛДГ в направлении лактат→пируват в тканях *C. a. gibelio*: ■ – контроль; □ – холодоадаптированные; \* – достоверные отличия по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ; # – достоверные отличия по сравнению с белыми мышцами,  $p < 0,05$ ; + – достоверные отличия по сравнению с красными мышцами;  $p < 0,05$ ,  $n=10$ .

**Fig. 1.** LDH activity in lactate→pyruvate direction in tissues of *C. a. gibelio*: ■ – control; □ – cold-adapted; \* – significant differences if compared with the control,  $p < 0.05$ ,  $n=10$ ; # – significant differences if compared with white muscles,  $p < 0.05$ ; + – significant differences if compared with red muscles  $p < 0.05$ ,  $n=10$ .

печени и белых мышцах, и ниже – в красных [9]. Соотношение активности ЛДГ в белых и красных мышцах у ставриды (пелагический вид с высокой подвижностью) составляет 14:1, тогда как у скорпены (малоподвижный донный вид) – близко к 1:1. У карася серебряного (придонный вид с невысокой подвижностью) по нашим данным при температуре 20-22°C это соотношение составляет 1:1, т.е. данная закономерность характерна не только для морских видов рыб, но и для пресноводных.

В условиях пониженной температуры разница в активности ЛДГ, направленной на образование лактата, между белыми и красными мышцами исчезает, в то время как в красных мышцах активность ЛДГ, определяемая по образованию пирувата, достоверно выше по сравнению с белыми мышцами у холодоадаптированных карасей. Данные результаты также свидетельствуют о функционировании разных изоформ ЛДГ в различных направлениях реакции.

Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат при пониженной температуре в белых мышцах возрастает на 35, а в красных – на 55%. Хотя в красных мышцах, как правило, преобладает аэробный тип энергообмена, в зимний период в этой ткани значительно усиливается гликолитический процесс.

По данным [9] у морских рыб активность ЛДГ в направлении пируват→лактат в печени в среднем

tissues (Fig. 2). This is in conformity with the data [4, 7] testifying to a rise in glycolysis role at low temperature.

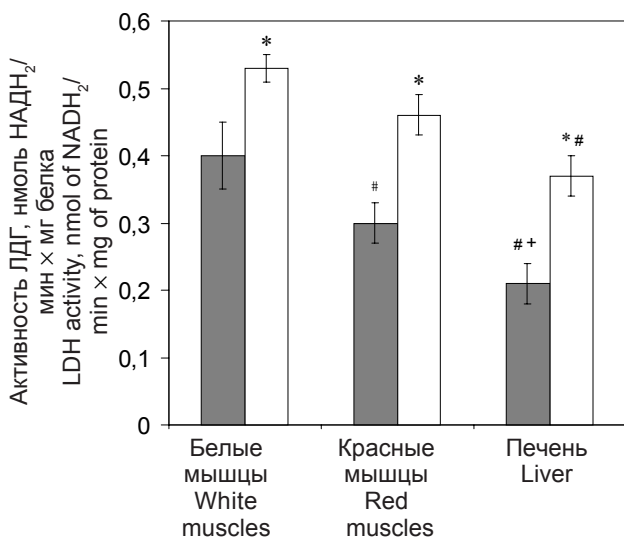
No statistically significant differences between red and white muscles on LDH activity during the formation of pyruvate in *C. a. gibelio* being maintained at room temperature, though LDH activity during the lactate formation under these conditions is higher in white muscles. The change in the enzyme activity is stipulated by the functioning different isoforms. It has been found that in white muscles anaerobic energy metabolism predominates [4]. For instance, in marine fish the following regularity is observed: the higher its mobility is, the higher LDH activity, determined by NADH<sub>2</sub> oxidation rate, is in liver and white muscles and lower in red ones [9]. The ratio of LDH activity in red and white muscles in horse mackerel (pelagic fish species with high mobility) is 14:1, whilst in rockfish (low-mobile bottom-dwelling species) it is close to 1:1. In *C. a. gibelio* which is also a bottom-dwelling species with low mobility, at 20-22°C this ratio makes 1:1, i.e. this regularity is characteristic not only for marine species but also for fresh-water ones.

Under conditions of lowered temperature the difference in LDH activity directed to the formation of lactate between white and red muscles disappears, while in red muscles LDH activity found on the formation of pyruvate is statistically higher in comparison with white ones in the cold-adapted *C. a. gibelio*. These results also testify to the functioning different LDH isoforms in various reaction directions.

LDH activity in pyruvate→lactate direction at lowered temperature in white muscles increased by 35 and in red ones by 55%. Although in red muscles as a rule aerobic energy metabolism predominates in winter period in this tissues there is a significant rise in glycolytic process.

The data show [9] that in marine fish LDH activity in pyruvate→lactate direction in liver in average by 3 orders lower than in the muscles. We have found a similar tendency of the changes in LDH activity, though not so sharp when comparing with NADH<sub>2</sub> expenditure in liver and muscles. At 20-22°C LDH activity in liver is statistically lower if compared with the one in white and red muscles. During temperature decrease the statistically significant difference is kept if compared with white muscles only. Under high concentrations of lactate in liver LDH isoforms functioning to form pyruvate prevail [8]. It has been noticed that in *C. a. gibelio* the LDH activity in lactate→pyruvate direction in liver is almost twice lower than in muscles. This is characteristic for both cold-adapted and control individuals.

Hypoxic conditions did not practically affect the LDH activity toward lactate formation for the Black



**Рис. 2.** Активность ЛДГ в направлении пируват→лактат в тканях *C. a. gibelio*: ■ – контроль; □ – холодоадаптированные; \* – достоверные отличия по сравнению с контролем, # – достоверные отличия по сравнению с белыми мышцами; + – достоверные отличия по сравнению с красными мышцами; p < 0,05, n=10.

**Fig. 2.** LDH activity in pyruvate-lactate direction in tissues of *C. a. gibelio*: ■ – control; □ – cold-adapted; \* – statistical differences if compared with the control, p < 0.05, n=10; # – significant differences if compared with white muscles p < 0.05; + – significant differences if compared with red muscles p < 0.05, n=10.



на 3 порядка ниже, чем в мышцах. Подобное изменение активности ЛДГ, хотя и не столь резкое, отмечено в наших экспериментах при сравнении расхода НАДН<sub>2</sub> в печени и мышцах карася серебряного. При температуре 20-22°C активность ЛДГ в печени достоверно ниже по сравнению с активностью в белых и красных мышцах. При понижении температуры достоверная разница сохраняется только по сравнению с белыми мышцами. При высоких концентрациях лактата в печени преобладают изоформы ЛДГ, работающие на образование пирувата [8]. Отмечено, что у карасей *C. a. gibelio* активность ЛДГ в направлении лактат→пируват в печени почти в 2 раза ниже, чем в мышцах. Это свойственно и холодадаптированным и контрольным особям.

Гипоксические условия содержания черноморских рыб [9] практически не влияли на активность ЛДГ в направлении образования лактата, тогда как проведенные нами исследования показали, что у *C. a. gibelio* в зимний период, когда снижается температура и сокращается снабжение кислородом, активность ЛДГ, как было уже отмечено, достоверно изменяется.

Информативным представляется сравнение соотношения активности ЛДГ в направлении пируват→лактат к активности ЛДГ в направлении лактат→пируват. Как видно из табл. 1, данный показатель для всех изученных нами тканей в условиях пониженной температуры изменяется в сторону увеличения удельной доли ЛДГ, работающей на образование лактата.

Изменение активности фермента у рыб, адаптированных к разным температурам, может быть обусловлено изменениями количества молекул фермента, сродства фермента к субстрату из-за температурозависимых конформационных перестроек, наличия различных изоформ фермента. Вопрос, какой из этих механизмов реализуется при температурной адаптации рыб, предстоит выяснить в ходе дальнейшей работы.

По уровню активности ЛДГ невозможно судить об интенсивности гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, поэтому мы определяли содержание лактата и пирувата, которые являются субстратами и продуктами ЛДГ в тканях карася при 4-5 и 20-22°C. Было показано, что при низкой температуре количество лактата возрастает в белых и красных мышцах в 1,9 и 3,1 раза соответственно, а в печени – в 2 раза (рис. 3). Увеличение содержания лактата в этих условиях – логически ожидаемый результат, так как в условиях гипотермии и сниженного потребления кислорода активизируются анаэробные процессы. При этом в красных мышцах холодадаптированных особей количест-

Sea fishes [9], whilst our own researches showed that in *C. a. gibelio* in winter period when temperature decreased and oxygen supply reduced, LDH activity as it had been already noted changed significantly.

The comparison of the ratio of LDH activities in pyruvate→lactate direction and in lactate→pyruvate direction seems to be informative. Table 1 shows that this index under conditions of lowered temperature changes for all the studied tissues towards the increase of LDH, functioning for lactate formation specific share.

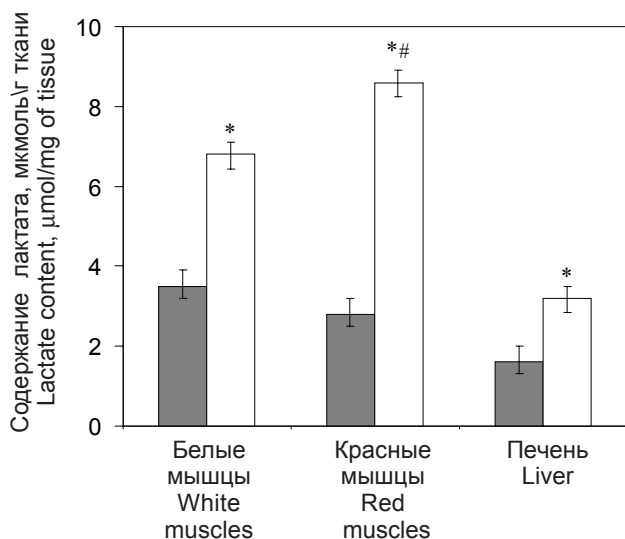
The change in enzyme activity in the fish adapted to different temperatures may be stipulated by the alterations in the number of enzyme molecules, enzyme affinity to substrate due to temperature-dependent conformational re-arrangements, the presence of various enzyme isoforms. The question what of these mechanisms is realized during temperature adaptation in fish is to be elucidated in future.

It is impossible to judge on LDH activity about the intensity of glycolysis and cycle of tricarboxylic acids, therefore we examined the content of lactate and pyruvate, which are the substrates and products of LDH, in *C. a. gibelio* tissues at 4-5 and 20-22°C. It has been shown that at low temperature the amount of lactate increases in white and red muscles in 1.9 and 3.1 times, correspondingly (Fig. 3) and in 2 times in liver. The rise in lactate content under these conditions is a logically expected result, because under hypothermia conditions and reduced consumption of oxygen anaerobic processes are activated. Herewith in red muscles of cold-adapted individuals the amount of lactate is statistically higher if compared with white muscles. For example, the paper [10] describes the lactate accumulation in hepatocytes of *C. a. gibelio* due to acute and chronic hypoxia. At the same time the amount of pyruvate in muscles of cold-adapted

**Таблица 1.** Соотношение активности ЛДГ в направлении пируват→лактат к активности ЛДГ в направлении лактат→пируват в тканях карася *C. a. gibelio* в зависимости от температуры содержания

**Table 1.** The ratio of LDH activity in pyruvate→lactate direction to the one in lactate→pyruvate direction in tissues of *C. a. gibelio* depending on maintenance temperature

Температура содержания, °C Maintenance temperature, °C	Ткань Tissue		
	Белые мышцы White muscles	Красные мышцы Red muscles	Печень Liver
20–22	1:21	1:31	1:23
4–5	1:9	1:15	1:9



**Рис. 3.** Содержание лактата в тканях карася *C. a. gibelio*: ■ – контроль; □ – холодоадаптированные; \* – достоверные отличия по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ; # – достоверные отличия по сравнению с белыми мышцами,  $p < 0,05$ ,  $n=10$ .

**Fig. 3.** Lactate content in *C. a. gibelio* tissues: ■ – control; □ – cold-adapted; \* – significant differences if compared with the control,  $p < 0.05$ ; # – significant differences if compared with white muscles,  $p < 0.05$ ,  $n=10$

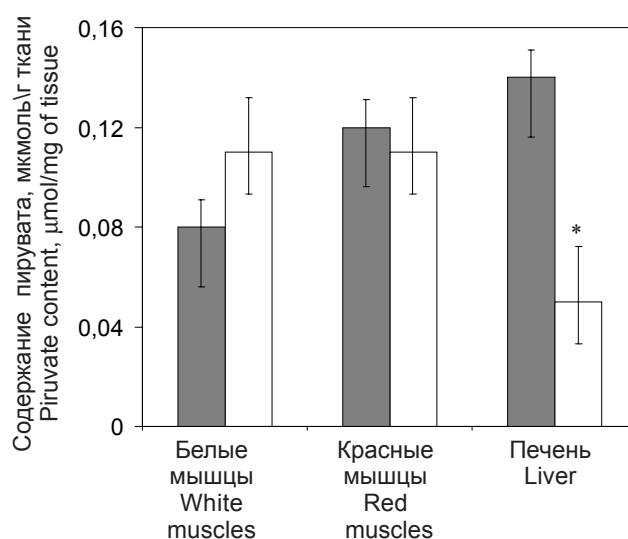
во лактата достоверно выше по сравнению с белыми мышцами. Так, в работе [10] было показано, что и острая и хроническая гипоксия приводила к накоплению лактата в гепатоцитах карася серебряного *C. a. gibelio*. В то же время количество пирувата в мышцах холодоадаптированных и контрольных рыб достоверно не отличалось (рис. 4), тогда как в печени уровень пирувата при низкой температуре существенно снижается.

Соотношение лактат/пируват увеличивается при снижении температуры для всех тканей (табл. 2).

### Выводы

Исходя из приведенных результатов, можно предположить, что процессы энергообеспечения у карася *C. a. gibelio* при низких температурах осуществляются в основном по анаэробному пути. Поскольку обмен веществ и двигательные реакции при этом значительно замедляются, уменьшается потребление кислорода и энергетические потребности существенно снижаются, а, следовательно, их можно удовлетворить за счет менее эффективного способа получения энергии – гликолиза. Переход организма на генерирование энергии по гликолитическому пути является своего рода адаптационным механизмом, позволяющим ему выжить в неблагоприятных зимних условиях.

Снижение температуры внешней среды для организма – лишь начальный этап сезонного



**Рис. 4.** Содержание пирувата в тканях карася *C. a. gibelio*: ■ – контроль; □ – холодоадаптированные; \* – достоверные отличия по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ;  $n=10$ .

**Fig. 4.** Pyruvate content in *C. a. gibelio* tissues: ■ – control; □ – cold-adapted; \* – significant differences if compared with the control,  $p < 0.05$ ,  $n=10$ .

and control fish does not differ (Fig. 4), while in liver the pyruvate level at low temperature is significantly reduced.

One more parameter: lactate/pyruvate ratio should be considered. This ratio increases when temperature reduces for all the tissues (Table 2).

### Conclusions

Proceeding from the results given one may suppose that the processes of energy supply in *C. a. gibelio* under low temperatures is provided mainly on anaerobic pathway. Since the metabolism and motor reactions under these conditions are significantly slowed down, the oxygen consumption and energetic demands are considerably decreased and consequently they may be satisfied due to less effective way of energy obtaining, the glycolysis. An organism

**Таблица 2.** Соотношение лактат/пируват в тканях карася *C. a. gibelio* в зависимости от температуры содержания

**Table 2.** Lactate/pyruvate ratio in tissues of *C. a. gibelio* depending on maintenance temperature

Температура содержания, °C Maintenance temperature, °C	Ткань Tissue		
	Белые мышцы White muscles	Красные мышцы Red muscles	Печень Liver
20–22	44:1	23:1	11:1
4–5	62:1	78:1	64:1

процесса холодовой адаптации. Необходимо участие таких эндогенных веществ, как гормоны и регуляторные пептиды, обладающих гипометаболическим и гипотермическим эффектами. Последняя группа веществ наименее изучена у рыб и исследование их роли в переключении метаболизма на зимний режим представляется наиболее перспективным для дальнейших исследований.

### Литература

1. *Асатиани В.С.* Ферментативные методы анализа.– М.: Наука, 1969. – 739 с.
2. *Калабухов Н.И.* Спячка животных.– Харьков, 1956.– 13 с.
3. *Колб В.Г., Камышников В.С.* Клиническая биохимия.– Минск: Беларусь, 1976.– 311 с.
4. *Лав М.Р.* Химическая биология рыб.– М., 1976.– 349 с.
5. *Методы биохимических исследований* (липидный и энергетический обмен). Учеб. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой.– Л., 1982.– 272 с.
6. *Скоупс Р.* Методы очистки белков: Пер. с англ.– М.: Мир, 1985.– 358 с.
7. *Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д.* Механизмы температурной акклимации рыб.– Киев: Наук. думка, 1991.– 192 с.
8. *Хочачка П., Сомеро Дж.* Стратегия биохимической адаптации / Под ред. Е.М. Крепса.– М.: Мир, 1977.– 396 с.
9. *Эмеретли И.В.* Раздельное воздействие гидростатического давления и гипоксии на активность лактатдегидрогеназы тканей рыб с разной подвижностью // Гидробиол. журн.– 1996.– Т. 32, №1.– С. 68-72.
10. *Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Lisch J. et al.* Oxygen-dependent energetics of anoxia-tolerant and anoxia-intolerant hepatocytes // J. Exp. Biol.– 2000.– Vol. 203, N5.– P. 951-959.

Поступила 30.01.2007

switching to energy generation from glycolytic pathway is a sort of adaptation mechanism enabling to survive under unfavorable winter conditions.

Environmental temperature reduction for an organism is just initial stage of seasonal process of cold adaptation. The participation of many endogenic substances having hypometabolic and hypothermic effects such as hormones and regulatory peptides if necessary. The latter substances are less studied in fish and their role in switching metabolism for winter regimen seems to be the most perspective for further studies.

### References

1. *Asatiani V.S.* Enzyme methods of analysis. – Moscow: Nauka, 1969.– 739 p.
2. *Kalabukhov N.I.* Animals' hibernation. – Kharkov, 1956.– 13p.
3. *Kolb V.G., Kamyshnikov V.S.* Clinical biochemistry.– Minsk: Byelarus, 1976.– 311 p.
4. *Lav M.R.* Chemical biology of fishes.– Moscow, 1976.– 349 p.
5. *Methods of biochemical studies* (lipid and energetic exchange): Manual / Ed. By M.I. Prokhorova.– Leningrad, 1982.– 272 p.
6. *Scopes R.* Methods of protein purification.– Moscow: Mir, 1985.– 358 p.
7. *Romanenko V.D., Arsan O.M., Solomatina V.D.* Mechanisms of fish temperature acclimation.– Kiev: Naukova dumka, 1991.– 192 p.
8. *Hochachka P., Somero J.* Strategy of biochemical adaptation/ Ed.: E.M. Kreps.– Moscow: Mir, 1977.– 396 p.
9. *Emeretli I.V.* Separate effect of hydrostatic pressure and hypoxia on activity of lactatedehydrogenase of fish tissues with different mobility // Hidrobiol. Zhurn.– 1996.– Vol. 32, N1.– P. 68-72.
10. *Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Lisch J. et al.* Oxygen-dependent energetics of anoxia-tolerant and anoxia-intolerant hepatocytes // J. Exp. Biol.– 2000.– Vol. 203, N5.– P. 951-959.

Accepted in 30.01.2007.