

ФИЗИОЛОГИЯ

Член-корреспондент АН СССР Х. С. КОШТОЯНЦ и Г. А. БУЗНИКОВ

**ОБ АКТИВНОСТИ И ВЕРОЯТНОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОМ
ЗНАЧЕНИИ ЭНЗИМА ГИАЛУРОНИДАЗЫ В РАЗНЫЕ СТАДИИ
ОНТОГЕНЕЗА РЫБ**

Течение многих физиологических процессов связано с энзимо-химической системой «гиалуронидаза — гиалуроновая кислота» благодаря той роли, которую эта система играет в проницаемости различных живых структур (1, 2). Одним из нас, в частности, было показано изменение активности энзима гиалуронидазы при процессах нервного возбуждения, при которых изменения проницаемости играют большую роль (3). Перед нами встал вопрос о возможном участии системы «гиалуронидаза — гиалуроновая кислота» в физиологии развивающейся икры рыб, в которой динамика проницаемости имеет особо важное значение.

По П. Светлову (4), яйцевая оболочка хотя и хорошо проницаема для воды и растворенных в ней газов, электролитов и низкомолекулярных органических соединений, тем не менее она затрудняет обмен газов между перивителлиновой жидкостью и внешней средой, что ухудшает условия развития эмбриона. Пока у эмбриона отсутствуют дыхательные сосудистые сети и эритроциты, тормозящее влияние яйцевой оболочки на развитие, повидимому, не сказывается. Но с момента появления личиночных органов дыхания эмбрионы, искусственно вынутые из яйцевой оболочки, начинают обгонять в развитии эмбрионов с неснятыми оболочками (5).

Одной из причин, ведущих к вылуплению эмбрионов рыб, является невозможность дальнейшего нормального развития внутри яйцевой оболочки как недостаточно проницаемой структуры. В пользу этого предположения говорит тот факт, что у эмбрионов с искусственно снятой оболочкой очень долго сохраняются наполненные секретом железки вылупления, т. е. для своевременного выделения энзима вылупления, растворяющего яйцевую оболочку, необходимо наличие этой оболочки.

Можно предположить, что гиалуронидаза участвует в регуляции проницаемости яйцевой оболочки и бластодермы эмбрионов рыб, поскольку такая регуляция должна иметь место. Можно также предположить участие этого энзима в подготовке акта вылупления, поскольку еще до появления в перивителлиновом пространстве энзима вылупления наблюдается падение прочности яйцевой оболочки. На основании этих предположений нами были поставлены опыты с целью проверить наличие гиалуронидазы в развивающейся икре рыб. В случае положительного результата этой проверки требовалось установить закономерности динамики гиалуронидазной активности по ходу онтогенеза.

Гиалуронидазная активность определялась вискозиметрически — по изменению исходной вязкости гиалуроната при добавлении испытуемого раствора. Гиалуронат готовился из пупочных канатиков человека по упрощенной прописи Л. Г. Смирновой. Измерения производились в виско-

зиметре Оствальда при температуре 34° и pH 7,0 (M/60 цитратно-фосфатный буфер Мак-Ильвейна с NaCl). Для получения сопоставимых результатов в опыт брались растворы гиалуроната с одинаковой исходной вязкостью. Материалом исследования служили: икра хамсы и морского дракончика (морские пелагофильные рыбы), белорыбицы (литофильная рыба), кеты, горбуши, лосося-тайменя и каспийского лосося (литофильные рыбы, закапывающие икру в грунт)*. В случае с икрой хамсы и морского дракончика для вискозиметрических измерений брался водный настой одновозрастной икры, в остальных случаях соответствующие измерения проводились для водного раствора перивителлиновой жидкости. Часть работы была выполнена на Севастопольской биологической станции Академии наук СССР.

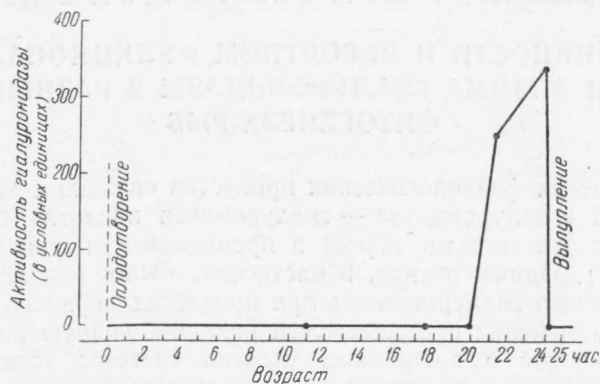


Рис. 1. Гиалуронидазная активность икры хамсы (*Engraulis encrasicolus*). Температура инкубации 28°, срок инкубации 24 часа

Как показали наши опыты, в развивающейся икре обследованных рыб содержится «фактор проницаемости», повидимому, идентичный гиалуронидазе. Этот «фактор проницаемости», подобно гиалуронидазе, полностью неактивен в отсутствие хлоридов, активируется ацетилхолином и быстро инактивируется при нагревании до 60°. Динамика активности гиалуронидазы икры носит закономерный характер, специфический у каждой из трех обследованных экологических групп. В икре хамсы и морского дракончика (морские пелагофильные рыбы) имеет место один резкий подъем гиалуронидазной активности, приуроченный непосредственно к моменту вылупления, а во все остальное время гиалуронидазная активность равна нулю (см. рис. 1). В перивителлиновой жидкости белорыбицы и лососевых гиалуронидаза появляется задолго до выклева, причем появление этого энзима точно совпадает во времени с возникновением эритроцитов и железок вылупления. Гиалуронидазная активность постепенно нарастает, причем первый максимум ее совпадает с высшей степенью развития сосудистой сети желточного мешка, являющейся главным из провизорных органов дыхания. Вслед затем происходит спад гиалуронидазной активности до нуля. Второй максимум как у белорыбицы, так и у лососевых приурочен к вылуплению и по величине значительно превосходит первый. У белорыбицы (литофильная осенне-нерестующая рыба) второй максимум отодвинут на несколько дней от момента вылупления (см. рис. 2), так что, когда в перивителлиновой жидкости появляется фермент вылупления, активной гиалуронидазы там уже не имеется. У лососевых (литофильные осенне-нерестующие рыбы, закапывающие икру в грунт) второй максимум гиалуронидазной активности совпадает с моментом вылупления, так что перивителлиновая жидкость содержит одно-

* Классификация экологических групп дана по С. Г. Крыжановскому (5).

временно гиалуронидазу и энзим вылупления, а вода вылупления, т. е. вода, в которой находилась икра в момент вылупления, имеет высокую гиалуронидазную активность. Кроме того, вылупившиеся эмбрионы лососевых продолжают в течение нескольких дней продуцировать гиалуронидазу.

Так как железки вылупления у эмбрионов белорыбицы и лосося-тайменя появляются одновременно с обнаружением гиалуронидазы в перивителлиновом пространстве, допустимо, что источником этого энзима служат названные железки. Однако необходима экспериментальная проверка этого допущения.

Интенсивность дыхательного газообмена у эмбрионов рыб резко возрастает с появлением эритроцитов и дыхательных сосудистых сетей. Необходимость повышения проницаемости яйцевой оболочки, бластодермы и сосудистых стенок возникает именно на этом этапе развития. Поэтому

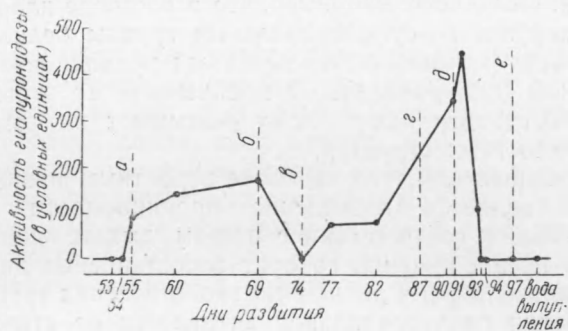


Рис. 2. Гиалуронидазная активность перивителлиновой жидкости икры белорыбицы (*Stenodus leucichthys leucichthys*). Температура инкубации 3—5°, дата оплодотворения 19 X 1952 г., дата выклева 23 I 1953 г.: а — появление железок вылупления, появление эритроцитов, начало васкуляризации желточного мешка; б — максимальное развитие сосудистой сети желточного мешка, подвижность эмбрионов невелика; в — отчетливое уменьшение размеров желточного мешка и уменьшение кровотока через его сосуды, частое и ритмичное движение грудных плавников; г — появление жаберных лепестков на 3-й жаберной дуге, значительная подвижность эмбрионов; д — начало резорбции желез вылупления; е — выклев большинства эмбрионов, полная резорбция желез вылупления, значительное ослабление кровотока через сосуды желточного мешка, значительное развитие жаберных лепестков и установление кровотока через них

факт совпадения во времени таких двух явлений, как образование провизорных органов дыхания и обнаружение «фактора проницаемости» в перивителлиновой жидкости, контактирующей как с яйцевой оболочкой, так и с бластодермой, позволяет предполагать причинную связь между ними. В пользу этого предположения говорит и то обстоятельство, что в икре хамсы и морского дракончика наблюдается только один подъем гиалуронидазной активности, приуроченный к выклеву; эмбрионы же названных рыб при нахождении в икре не имеют эритроцитов и специальных дыхательных органов, так как икра развивается в наилучших условиях аэрации.

Перед самым актом вылупления потребление кислорода эмбрионами резко возрастает, так что второй максимум гиалуронидазной активности у белорыбицы и лососевых и единственный максимум гиалуронидазной активности у хамсы и морского дракончика, возможно, связан с необходимостью повышения проницаемости поверхностных структур. Наряду с этим гиалуронидаза перивителлиновой жидкости, может быть, принимает

участие в подготовке яйцевой оболочки к разрыву, являясь таким образом одним из компонентов «энзима вылупления».

Различия заключительной части кривой гиалуронидазной активности у белорыбицы и у лососевых, повидимому, обусловлены соответствующими различиями в экологии: эмбрионы белорыбицы, вылупившись, уходят в пелагиаль, где условия аэрации наилучшие, а эмбрионы лососевых после вылупления долго еще находятся в гнезде, где ток воды очень замедлен и условия аэрации поэтому отнюдь не наилучшие. Вероятно, выделение гиалуронидазы в воду гнезда является, наряду с энергичными дыхательными движениями эмбрионов, приспособлением к данным условиям существования.

Чтобы прямо показать зависимость проницаемости поверхностных структур эмбриона от активности гиалуронидазы, нами был поставлен ряд опытов по определению чувствительности икры хамсы и белорыбицы к некоторым сильно действующим химическим веществам в различные стадии развития. Оказалось, например, что в растворе хлористого кадмия (1 : 1000), блокирующего сульфгидрильные группы белков, икра хамсы развивается вполне нормально определенный период онтогенеза, до выявления активной гиалуронидазы, с появлением же этого энзима икра мгновенно погибает. Эти опыты ясно указывают на изменение проницаемости поверхностных структур.

Итак, мы предполагаем, что наиболее вероятным назначением гиалуронидазы икры является повышение проницаемости поверхностных структур эмбрионов в соответствии с ростом дыхательного газообмена. В пользу этого предположения говорит сопоставление динамики активности гиалуронидазы икры у различных экологических групп, а также сопоставление уровня гиалуронидазной активности со степенью развития провизорных органов дыхания у разновозрастных эмбрионов одного вида. В пользу этого предположения говорят также результаты опытов с действием хлористого кадмия и некоторых других веществ на развивающуюся икру. Возможно предположить участие гиалуронидазы и в подготовке самого акта вылупления, который следует рассматривать как процесс, совершающийся в результате последовательного или одновременного действия на яйцевую оболочку сложной энзимо-химической системы, в которой энзим гиалуронидаза занимает определенное место.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова и
Институт морфологии животных
Академии наук СССР

Поступило
19 X 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. М. Бычков, Усп. совр. биол., 25, в. 1 (1948). ² Н. И. Соколовская, Журн. общ. биол., 14, № 2 (1953). ³ Х. С. Коштованц, ДАН, 60, № 6 (1948). ⁴ П. Светлов, Zs. wiss. Biol., 114, № 4—5 (1929). ⁵ С. Г. Крыжановский, Тр. ИМЖ, в. I (1949).