

**ВЛИЯНИЕ ХОЛЕЦИСТОКИНИНА НА АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДАЗ
И ГЛИКОЗИДАЗ В КИШЕЧНИКЕ У РАЗНЫХ ВИДОВ РЫБ**^{1,2}Кузьмина В.В., ¹Куливацкая Е.А.¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок
Ярославской обл.; ²Ярославская ГСХА, Ярославль, Российская Федерация

Исследовано влияние холецистокинина (ХЦК) на активность пептидаз (протеолитическая активность, ПА) и гликозидаз (амилолитическая активность, АА) слизистой оболочки кишечника у трёх видов рыб: карп *Cyprinus carpio* L., плотва *Rutilus rutilus* (L.) и окунь *Perca fluviatilis* L. Показано, что через 1 ч. после внутрибрюшинного введения ХЦК увеличивается АА слизистой оболочки кишечника у карпа незначительно, в 1.3 раза ($P<0.05$). у плотвы, но снижается в 4.9 раза ($P<0.05$) у окуня. Характер модификации протеолитической активности (ПА) слизистой оболочки кишечника под влиянием ХЦК у тех же особей был близок к таковому АА: у карпа ПА изменялась слабо, увеличивалась в 8.2 раза у плотвы и уменьшалась в 6 раз у окуня. При этом в химусе у окуня ПА увеличивалась ($P<0.05$), а АА химуса снижалась ($P<0.05$). Относительная активность обеих групп ферментов в слизистой оболочке кишечника после введения ХЦК у карпа увеличивалась, АА – на 6% ($P<0.05$) и ПА на 10% ($P<0.05$) в сравнении с контролем. У плотвы введение ХЦК вызывало увеличение относительной активности гликозидаз и пептидаз на 32 и 724% соответственно. В отличие от бентофагов, у окуня ХЦК снижал АА и ПА в слизистой кишечника на 80 и 83% соответственно, а в химусе выявлены противоположные эффекты ХЦК – увеличение АА и снижение ПА ($P<0.05$). Обсуждаются механизмы влияния ХЦК на активность пептидаз и гликозидаз в кишечнике у разных видов рыб.

Ключевые слова: карп, плотва, окунь, кишечник, химус, пищеварение, холецистокинин, гликозидазы, пептидазы

Проблемы биологии продуктивных животных, 2020, 1: 44-51

Введение

Процессы пищеварения у рыб находятся под сложным нейро-гуморальным контролем, при этом холецистокинин (ХЦК) – один из пептидов, участвующих в регуляции пищевого поведения, пищеварения и метаболизма (Кузьмина, 2005, 2015; Volkoff et al., 2005, 2009; Volkoff, 2016; Rønnestad et al., 2017; Soengas et al., 2018; Velasco et al., 2019). В мозге ХЦК функционирует как нейротрансмиттер, в желудочно-кишечном тракте – как гормон. У рыб ХЦК блокирует желудочную секрецию (Holstein, 1982), влияет на гладкую мускулатуру и вызывает задержку опорожнения желудка (Olsson, Holmgren, 2001), снижает или увеличивает подвижность желчного пузыря (Rajjo et al., 1988; Aldman et al., 1992), а также стимулирует секрецию липазы (Honkanen et al., 1988), трипсина и химотрипсина (Einarsson et al., 1997; Rønnestad, 2002; Tillner et al., 2014; Кузьмина, 2015; Volkoff, 2016; Le et al., 2019).

Секреция ХЦК стимулируется появлением пищи в кишечнике. Важную роль играют поступающие из желудка пептиды и аминокислоты, особенно L-фенилаланин и триптофан (Wang et al., 2011), жиры, отличающиеся высоким содержанием длинноцепочных жирных кислот (McLaughlin et al., 1998), а также ХЦК-рилизинг фактор (ХЦК-рилизинг пептид) (Wang et al., 2002). У рыб ХЦК выявляется при переходе личинок на экзогенное питание, однако уровень его низок и, как правило, составляет <10% от обнаруженного в целых личинках. Однако уже через 1 мес. его содержание превышает 60% (Rønnestad, 2002). Вместе с тем, сведения о влиянии ХЦК на активность пищеварительных пептидаз рыб немногочисленны (Einarsson et al., 1997; Tillner et al., 2013, 2014). Данные о влиянии ХЦК на активность кишечных ферментов у рыб разных видов, полученные в одних и тех же условиях опыта, в доступной литературе отсутствуют.

Цель работы состояла в изучении влияния холецистокинина на активность пептидаз и гликозидаз в слизистой оболочке кишечника у трёх видов пресноводных костистых рыб, различающихся по характеру питания.

Материал и методы

Объекты исследования: бентофаги молодь карпа *Cyprinus carpio* L., масса – 9.2 ± 0.4 г. и плотва *Rutilus rutilus* (L.), масса 280 ± 40 г., а также ихтиофаг-факультативный бентофаг окунь *Perca fluviatilis* L., масса 240 ± 30 г. по 10 экз. каждого вида. До начала опытов карпы, полученные с прудовой базы «Сунога», содержались в аквариумах в течение 10 мес., плотва и окунь, отловленные в Рыбинском водохранилище, в течение 2-х суток. В 10 ч рыбам из опытной группы (5 экз.) внутривентрально вводили 0.1 мл раствора ХЦК (Sigma) в дозе 100 нг/г массы тела, приготовленного на растворе Рингера для холоднокровных животных (103 mM NaCl , 1.9 mM KCl , 0.45 mM CaCl_2 , 1.4 mM MgSO_4 , pH 7.4). Рыбам контрольной группы (5 экз.) вводили равное количество раствора Рингера. Через 1 ч рыб из опытной и из контрольной групп декапитировали, на холоде вскрывали брюшную полость, изымали висцеральные органы и помещали их на ледяную баню ($2-4^\circ\text{C}$). Кишечник изолировали, быстро очищали от жира, разрезали вдоль, изымали содержимое и специальным скребком снимали слизистую оболочку. Затем отбирали требуемое количество материала для приготовления исходного гомогената. Навески слизистой гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с небольшим количеством раствора Рингера при температуре $0-2^\circ\text{C}$, затем полученный гомогенат разводили раствором Рингера (1:99).

Протеолитическую активность (ПА, преимущественно активность трипсина, КФ 3.4.21.4, химотрипсина, КФ 3.4.21.1, карбоксипептидаз, КФ 3.4.16, аминопептидаз, КФ 3.4.11 и дипептидаз, КФ 3.4.13) определяли по приросту тирозина (Kuz'mina et al., 2019). Активность гликозидаз, АГ (суммарная активность α -амилазы, КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы, КФ 3.2.1.3 и ферментов группы мальтаз, КФ 3.2.1.20) определяли по методу Нельсона в модификации Уголева и Иезуитовой (1969). В качестве субстратов использовали 1% растворы казеина или растворимого крахмала. Инкубацию гомогената и субстрата осуществляли в течение 30 мин при непрерывном перемешивании. Активность ферментов в каждой временной точке определяли у каждой особи отдельно в двух повторностях с учетом фона (количество тирозина или гексоз в исходном гомогенате). Об уровне ферментативной активности судили по приросту продуктов реакции (тирозина или гексоз) за 1 мин. инкубации субстрата и ферментативно активного препарата в расчете на 1 г сырой массы ткани, мкмоль/(г·мин). Интенсивность окрашивания определяли на фотоколориметре (КФК-2) при красном светофильтре, $\lambda=670$ нм.

Результаты и обсуждение

Влияние холецистокинина на амилолитическую активность слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов. Уровень АА, а также влияние ХЦК на активность ферментов у рыб разных видов различно. Наибольший уровень АА отмечен у плотвы: 15.0 ± 0.16 мкмоль/(г·мин). Под действием ХЦК ферментативная активность увеличивается в 1.3 раза – до 19.82 ± 0.18 мкмоль/(г·мин) ($P < 0.05$). ХЦК слабо влияет на уровень АА слизистой кишечника карпа: значения в контроле и опыте схожи – 6.09 ± 0.09 и 6.44 ± 0.13 мкмоль/(г·мин) соответственно, что в 2.5 и 3.1 раза ниже, чем у плотвы (рис. 1). Наименьшие величины АА слизистой оболочки кишечника выявлены у окуня – 0.98 ± 0.02 мкмоль/(г·мин). Под действием ХЦК величина АА снижается в 4.9 раза – до 0.20 ± 0.02 мкмоль/(г·мин) ($P < 0.05$).

В химусе у контрольных окуней АА в 3 раза выше, чем в слизистой оболочке кишечника – 2.82 ± 0.09 мкмоль/(г·мин). При введении ХЦК АА увеличивается в 1.3 раза до – 3.78 ± 0.09 мкмоль/(г·мин) ($P < 0.05$).

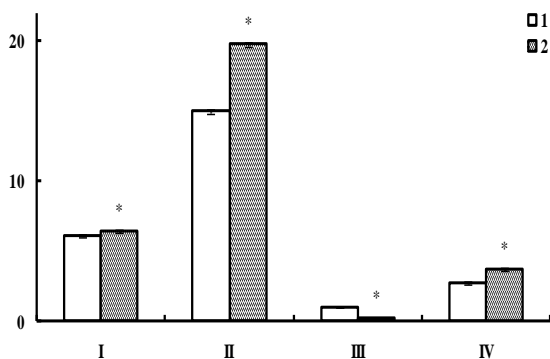


Рис. 1. Влияние холецистокинина на активность гликозидаз в слизистой оболочке кишечника у карпа (I), плотвы (II), окуня (III) и в химусе окуня (IV). Обозначения: здесь и на рис. 2, 3: по горизонтали – виды рыб, по вертикали – ферментативная активность, мкмоль/(г·мин), 1 – контроль, 2 – опыт.

*Здесь и на рис. 2: $P < 0.05$ по t -критерию при сравнении с контролем.

Влияние холецистокинина на уровень пептидаз в слизистой оболочке кишечника у рыб разных видов. После введения ХЦК наблюдалось незначительное, но статистически значимое увеличение ферментативной активности в слизистой оболочке кишечника у карпа – до 4.36 ± 0.07 против 3.96 ± 0.11 мкмоль/(г·мин) у контрольных особей (рис. 2).

У контрольных особей плотвы ПА исключительно низка (0.46 ± 0.12 мкмоль/(г·мин)). При этом ХЦК вызывает наиболее выраженное увеличение ферментативной активности по сравнению с другими видами рыб: активность увеличивается до 3.79 ± 0.08 мкмоль/(г·мин) – в 8.2 раза в сравнении с контролем. В химусе контрольных особей окуня выявлен более высокий уровень ПА, чем в слизистой – 4.58 ± 0.10 и 1.37 ± 0.05 мкмоль/(г·мин) соответственно. Под действием ХЦК наблюдается снижение ПА до 3.35 ± 0.11 и 0.2 ± 0.04 мкмоль/(г·мин) в химусе и слизистой соответственно. При этом под действием гормона ПА в химусе снижается в 1.3 раза ($P < 0.05$), в слизистой оболочке кишечника – в 6 раз ($P < 0.05$).

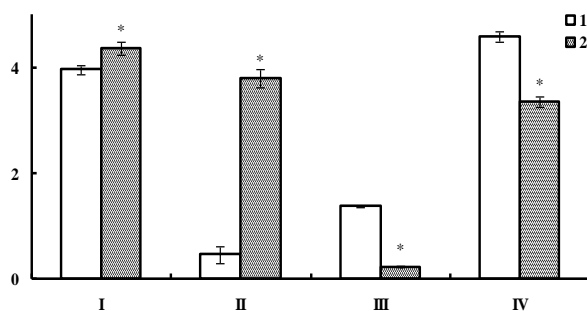


Рис. 2. Влияние холецистокинина на активность пептидаз в слизистой оболочке кишечника у карпа (I), плотвы (II), окуня (III) и в химусе окуня (IV). 1 – контроль, 2 – опыт.

Относительная активность гликозидаз и пептидаз в кишечнике у карпа, плотвы и окуня. Для выявления особенностей влияния ХЦК на активность ферментов цепи гликозидаз и пептидаз у рыб разных видов удобно сопоставлять данные по их относительной активности (% от контроля, принятого за 100). Расчёты показали, что через 1 ч после введения ХЦК незначительно, но статистически значимо ($P < 0.05$) увеличивает относительную активность обеих групп ферментов в слизистой оболочке кишечника карпа на 5.7 (АА) и 10.1% (ПА) в сравнении с контролем (рис. 3).

У плотвы введенный гормон вызывает увеличение относительной активности гликозидаз и пептидаз на 32 и 724 % соответственно. В отличие от бентофагов, у окуня ХЦК снижает АА слизистой кишечника на 79.6%, ПА – на 83.3%. В отношении химуса выявлены противоположные эффекты ХЦК: увеличение АА на 34% и уменьшение ПА на 27%.

Следует отметить, что соотношение уровней ПА и АА у рыб разных видов согласуется с данными о влиянии характера питания на активность гликозидаз и пептидаз (Кузьмина, 2015). Величина коэффициента Г/П (гликозидазы/пептидазы) у бентофагов > 1 , у ихтиофага-факультативного

бентофага <1. При этом у плотвы коэффициент Г/П равен 32.6, у карпа, получавшего в лабораторных условиях корм с высоким содержанием белка, – 1.5, у окуня – 0.7 (слизистая) и 0.6 (химус).

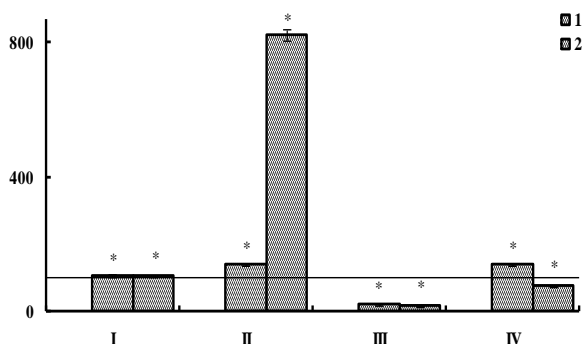


Рис. 3. Влияние холецистокинина на относительную активность ферментов (% от контроля) в слизистой оболочке кишечника у карпа (I), плотвы (II), окуня (III) и в химусе у окуня (IV). 1 – гликозидазы, 2 – пептидазы, * $P < 0.05$ по t -критерию при сравнении с контролем. Горизонтальная линия – уровень контроля.

Полученные нами данные о влиянии ХЦК, введенного внутривентриально, на активность ферментов поджелудочной железы, согласуются с данными литературы о том, что активность ХЦК положительно коррелирует с активностью трипсина (Einarsson et al., 1997; Rønnestad, 2002; Tillner et al., 2014). Эта связь устанавливается после перехода личинок на экзогенное питание. Так, у личинок лаврака *Dicentrarchus labrax*, отличающегося отсутствием желудка до начала экзогенного питания, через 23 сут. после вылупления эндогенный ритм ХЦК в течение дня не зависит от диеты или кратковременного голодания (Tillner et al., 2014). Однако у личинок атлантической трески *Gadus morhua* через 21 сут. сразу после начала экзогенного питания выявляется обратная взаимосвязь между ХЦК и активностью трипсина (Tillner et al., 2013). Такая взаимосвязь выявлена и у взрослых рыб (Murashita et al., 2008). Поскольку секреция ХЦК стимулируется появлением в кишечнике пептидов и аминокислот, особенно L-фенилаланина и триптофана (Wang et al., 2011), можно было ожидать, что экзогенный ХЦК будет снижать уровень ПА.

Вместе с тем, в случае пептидаз ингибирующий эффект выявлен только при исследовании влияния ХЦК на ферменты слизистой оболочки у окуня. Разный характер влияния ХЦК на активность одноименных ферментов у рыб разных видов частично может быть обусловлен различиями в динамике ферментов. Так, показано, что у карпа наибольшее стимулирующее влияние ХЦК на ПА наблюдается через 0.25, 3, 144 и 168 ч, а на АА – через 3 и 24 ч после введения. Наибольший ингибирующий эффект ХЦК на ПА у рыб этого вида наблюдается через 0.5 и 120 ч, на АА – через 0.5, 48, 96, 120 и 144 ч после его введения (Кузьмина, 2019). Поскольку определение активности проводили в одно и то же время, не исключено, что мы фиксировали разное состояние эндокринной системы у рыб разных видов. Однако наиболее вероятным представляется сочетанное влияние низких значений рН содержимого желудка, повышающих экспрессию ХЦК в переднем отделе кишечника (Nadermann et al., 2019), и более высокого содержания белка в пище окуня, так как оно стимулирует секрецию ХЦК в кишечнике (Babaei et al., 2016). Также не исключено более выраженное стимулирование кальцием ХЦК-релизинг-фактора, оказывающего прямое влияние на клетки кишечника, секреторные этот гормон (Wang et al., 2002).

Кроме того, следует отметить, что у всех исследованных видов рыб, особенно у бентофага плотвы, отличающейся более высоким содержанием углеводов в пище, ХЦК значительно стимулирует активность гликозидаз слизистой оболочки. Эти данные хорошо согласуются со сведениями о влиянии углеводов на синтез ХЦК в кишечнике. Действительно, у дорады *Sparus aurata* высокоуглеводная диета ингибирует синтез ХЦК (Babaei et al., 2016). Снижение уровня эндогенного ХЦК уменьшает общий пул гормона, следовательно, он не подавляет синтез и транслокацию α -амилазы, находящейся в начале цепи гликозидаз. Стимуляцию АА в настоящее время объяснить сложно, поскольку синтез и функционирование ХЦК зависит от многих факторов.

Стимулирующее влияние ХЦК на АА и, особенно, на ПА слизистой оболочки кишечника у бентофагов и ингибирующий эффект на аналогичные ферменты у окуня, возможно, обусловлены различиями в объеме крови (он больше у бентофагов). Поскольку часть секреторных поджелудочной

железой ферментов инкретируется, увеличение активности пептидаз в слизистой оболочке кишечника может быть обусловлено поступлением ферментов из крови в поджелудочную железу (Коротько, 2005). При этом меньший объем крови у окуня мог вызвать более быстрое, чем у бентофагов, наступление фазы стимуляции с последующей сменой эффекта. Различный характер влияния ХЦК на ферменты химуса окуня (сильный ингибирующий эффект ХЦК на АА и стимулирующий эффект на ПА) объяснить сложнее ввиду исключительной сложности его состава, включающего микробиоту и частично разрушенные ткани объектов питания.

Заключение

При внутрибрюшинном введении холецистокинина через 1 ч после введения выявлены сдвиги в активности гликозидаз и пептидаз у всех исследуемых видов рыб – амилалитическая активность (АА) в слизистой оболочке кишечника увеличивалась у карпа и плотвы, но снижалась у окуня. Характер модификации протеолитической активности (ПА) в слизистой оболочке кишечника под влиянием ХЦК у тех же особей близок к модификации амилалитической активности (АА) – она слабо изменяется у карпа, увеличивается у плотвы и уменьшается у окуня. В химусе у окуня ХЦК повышает АА и снижает ПА. Относительная активность обеих групп ферментов слизистой оболочки кишечника карпа после введения ХЦК увеличивалась на 6 (АА) и 10% (ПА) в сравнении с контролем. У плотвы ХЦК вызывает увеличение относительной активности гликозидаз и пептидаз на 32 и 724 % соответственно. В отличие от бентофагов, у окуня ХЦК снижает АА и ПА в слизистой кишечника. В отношении химуса выявлены противоположные эффекты ХЦК – увеличение АА и уменьшение ПА. ХЦК стимулирует АА и в большей степени – ПА у бентофагов карпа и плотвы, но ингибирует у окуня (ихтиофага-факультативного бентофага).

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690102-9).

ЛИТЕРАТУРА

1. Коротько Г.Ф. Секрция поджелудочной железы. – Краснодар: изд. Куб. гос. мед. унив., 2005. – 312 с.
2. Кузьмина В.В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации. – М.: Полиграф-Плюс, 2015. – 260 с.
3. Кузьмина В.В. Влияние холецистокинина на активность пептидаз и гликозидаз слизистой оболочки кишечника карпа *Cyprinus carpio* // Изв. РАН. – 2019. – № 2. – С. 189–196. DOI: 10.1134/S0002332919020097.
4. Aldman G., Grove D., Holmgren S. Duodenal acidification and intra-arterial injection of CCK8 increase gallbladder motility in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Gen. Comp. Endocrinol. – 1992. – Vol. 86. – P. 20-25.
5. Einarsson S., Davies P.S., Talbot C. Effect of exogenous cholecystokinin on the discharge of the gallbladder and the secretion of trypsin and chymotrypsin from the pancreas of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // Comp. Biochem. Physiol. – 1997. – Vol. 117. – P. 63-67.
6. Holstein B. Inhibition of gastric acid secretion in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, by sulphated and desulphated gastrin, caerulein, and CCK-octapeptide // Acta Physiol. Scand. – 1982. – Vol. 114. – P. 453-459.
7. Honkanen R.E., Crim J.W., Patton J.S. Effects of cholecystokinin peptides on digestive enzymes in killifish *in vivo* // Comp. Biochem. Physiol. – 1988. – Vol. 89A. – P. 655-660.
8. Le H.T.M.D., Lie K.K., Giroud-Argoud J., Rønnestad I., Sæle Ø. Effects of Cholecystokinin (CCK) on Gut Motility in the Stomachless Fish Ballan Wrasse (*Labrus bergylta*) // Front. Neurology. – 2019. – Vol. 13. – P. 553. DOI: 10.3389/fnins.2019.00553. 2019 ecology.
9. McLaughlin J., Grazia L.M., Jones M.N., D'Amato M., Dockray G.J., Thompson D.G. Fatty acid chain length determines cholecystokinin secretion and effect on human gastric motility // Gastroenterol. – 1999. – Vol. 116. – P. 46-53.
10. McLaughlin J.T., Lomax R.B., Hall L., Dockray G.J., Thompson D.G., Warhurst G. Fatty acids stimulate cholecystokinin secretion via an acyl chain length-specific, Ca²⁺-dependent mechanism in the enteroendocrine cell line STC-1 // J. Physiol. – 1998. – Vol. 513. – No. 1. – P. 11-18. DOI: 10.1111/j.1469-7793.1998.011by.x.
11. Olsson C., Holmgren S. The control of gut motility // Comp. Biochem. Physiol. – 2001. – Vol. 128. – No 3. – P. 481-503.
12. Rajjo I.M., Vigna S.R., Crim J.W. Cholecystokinin immunoreactivity in the digestive tract of bowfin (*Amia calva*), bluegill (*Lepomis macrochirus*), and a bullfrog (*Rana catesbeiana*) // Gen. Comp. Endocrinol. – 1988. – Vol. 70. – P. 133-144.

13. Rønnestad I. Control and Efficiency of Digestive Function of Marine Fish Larvae // In: Avances en Nutricion Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. (Eds. Cruz-Suarez L. E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Gaxiola-Cortes M.G., Simoes N.). – Cancun.Quintana Roo. Mexico. – 2002. – P. 152-165.
14. Rønnestad I., Kamisaka Y., Conceição L.E.C. et al. Digestive physiology of marine fish larvae: hormonal control and processing capacity for proteins, peptides and amino acids // Aquaculture. – 2007. – Vol. 268. –P. 82-97.
15. Rønnestad I., Gomes A.S., Murashita K., Angotzi R., Jönsson E., Volkoff H. Appetite-controlling endocrine systems in teleosts // Front. Endocrinol. – 2017. – Vol. 8. – P. 73. DOI: 10.3389/fendo.2017.00073.
16. Soengas J.L., Cerdá-Reverter J.M., Delgado M.J. Central regulation of food intake in fish: an evolutionary perspective // J. Mol. Endocrin. – 2018. – V. 60. – P. R171-R199.
17. Tillner R., Rønnestad I., Harboe T., Ueberschar B. Hormonal control of tryptic enzyme activity in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*): involvement of cholecystokinin during ontogeny and diurnal rhythm // Aquaculture. – 2013. – Vol. 402. – P. 133-140.
18. Tillner R., Rønnestad I., Dhert P., Ueberschar B. The regulatory loop between gut cholecystokinin and tryptic enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae is influenced by different feeding regimes and trigger substances // Aquaculture. – 2014. – Vol. 420. – P. 139-146.
19. Velasco C., Bonacic K., Soengas J.L., Morais S. Orally administered fatty acids enhance anorectic potential but do not activate central fatty acid sensing in Senegalese sole post-larvae // J. Exp. Biol. – 2017. – Vol. 220. – P. 677-685. DOI: 10.1242/jeb.150979.
20. Velasco C., Comesaña S., Conde-Sieira M., Míguez J.M., Soengas J.L. The effects of CCK-8 and GLP-1 on fatty acid sensing and regulation of food intake in trout // J. Mol. Endocrinol. – 2019. – Vol. 62. – No. 3. – P. 101-116. DOI: 10.1530 / JME-18-0212.
21. Volkoff H. The neuroendocrine regulation of food intake in fish: a review of current knowledge // Front. Neurosci. – 2016. – Vol. 10. – P. 540-571. DOI: 10.3389/fnins.2016.00540.
22. Wang Y., Prpic V., Green G.M., Reeve J.R. Jr, Liddle R.A. Luminal CCK-releasing factor stimulates CCK release from human intestinal endocrine and STC-1 cells // AJP Gastrointest. Liver Physiol. – 2002. – Vol. 282. – No. 1. – P. G16-22. DOI:10.1152/ajpgi.2002.282.1.G16.

REFERENCES

1. Aldman G., Grove D., Holmgren S. Duodenal acidification and intra-arterial injection of CCK8 increase gallbladder motility in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1992, 86: 20-25.
2. Einarsson S., Davies P.S., Talbot C. Effect of exogenous cholecystokinin on the discharge of the gallbladder and the secretion of trypsin and chymotrypsin from the pancreas of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 1997, 117: 63-67.
3. Holstein B. Inhibition of gastric acid secretion in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, by sulphated and desulphated gastrin, caerulein, and CCK-octapeptide. *Acta Physiol. Scand.* 1982, 114: 453-459.
4. Honkanen R.E., Crim J.W., Patton J.S. Effects of cholecystokinin peptides on digestive enzymes in killifish in vivo. *Comp. Biochem. Physiol.* 1988, 89A: 655-660.
5. Korot'ko G.F. *Sekretsiya podzheludochnoi zhelezy (Pancreatic secretion)*. Krasnodar: Kuban Med. Univ. Publ., 2005, 312 p.
6. Kuz'mina V.V. *Protsessi eksotrofii u rib. Organizatsiya. Regulatsiya. Adaptatsii (Exotrophic processes in fish. Organization. Regulation. Adaptations)*. Moscow: Polygraph Plus Publ., 2015, 259 p.
7. Kuz'mina V.V. Effect of cholecystokinin on the activity of peptidases and glycosidases of the intestinal mucosa in carp *Cyprinus carpio*. *Biology Bulletin.* 2019, 46(2): 189-196. DOI: 10.1134/S1062359019020092
8. Le H.T.M.D., Lie K.K., Giroud-Argoud J., Rønnestad I., Sæle Ø. Effects of Cholecystokinin (CCK) on Gut Motility in the Stomachless Fish Ballan Wrasse (*Labrus bergylta*). *Front Neurology.* 2019, 13: 553. DOI: 10.3389 / fnins.2019.00553. 2019 ecology.
9. McLaughlin J., Grazia L.M., Jones M.N., D'Amato M., Dockray G.J., Thompson D.G. Fatty acid chain length determines cholecystokinin secretion and effect on human gastric motility. *Gastroenterol.* 1999, 116: 46-53.
10. McLaughlin J.T., Lomax R.B., Hall L., Dockray G.J., Thompson D.G., Warhurst G. Fatty acids stimulate cholecystokinin secretion via an acyl chain length-specific, Ca²⁺-dependent mechanism in the enteroendocrine cell line STC-1. *J. Physiol.* 1998, 513(1): 11-18. DOI:10.1111/j.1469-7793.1998.011by.x.
11. Olsson C., Holmgren S. The control of gut motility. *Comp. Biochem. Physiol.* 2001, 128(3): 481-503.
12. Rajjo I.M., Vigna S.R., Crim J.W. Cholecystokinin immunoreactivity in the digestive tract of bowfin (*Amia calva*), bluegill (*Lepomis macrochirus*), and a bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 1988, 70: 133-144.
13. Rønnestad I. Control and efficiency of digestive function of marine fish larvae. In: *Avances en nutricion acuicola vi. memorias del vi simposium internacional de nutricion acuicola* (Eds. Cruz-Suarez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Gaxiola-Cortes M.G., Simoes N.). Cancun.Quintana Roo. Mexico, 2002, P. 152-165.

14. Rønnestad I., Kamisaka Y., Conceição L.E.C. et al. Digestive physiology of marine fish larvae: hormonal control and processing capacity for proteins, peptides and amino acids. *Aquaculture*. 2007, 268: 82-97.
15. Rønnestad I., Gomes A.S., Murashita K., Angotzi R., Jönsson E., Volkoff H. Appetite-controlling endocrine systems in teleosts. *Front. Endocrinol.* 2017, 8: 73. DOI: 10.3389/fendo.2017.00073.
16. Soengas J.L., Cerdá-Reverter J.M., Delgado M.J. Central regulation of food intake in fish: an evolutionary perspective. *J. Mol. Endocrin.* 2018, 60: R171-R199.
17. Tillner R., Rønnestad I., Dhert P., Ueberschar B. The regulatory loop between gut cholecystokinin and tryptic enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae is influenced by different feeding regimes and trigger substances. *Aquaculture*. 2014, 420: 139-146.
18. Tillner R., Rønnestad I., Harboe T., Ueberschar B. Hormonal control of tryptic enzyme activity in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*): involvement of cholecystokinin during ontogeny and diurnal rhythm. *Aquaculture*. 2013, 402: 133-140.
19. Velasco C., Bonacic K., Soengas J.L., Morais S. Orally administered fatty acids enhance anorectic potential but do not activate central fatty acid sensing in Senegalese sole post-larvae. *J. Exp. Biol.* 2017, 220: 677-685. DOI: 10.1242/jeb.150979.
20. Velasco C., Comesaña S., Conde-Sieira M., Míguez J.M., Soengas J.L. The effects of CCK-8 and GLP-1 on fatty acid sensing and regulation of food intake in trout. *J. Mol. Endocrinol.* 2019, 62(3): 101-116. DOI: 10.1530 / JME-18-0212.
21. Volkoff H. The neuroendocrine regulation of food intake in fish: a review of current knowledge. *Front. Neurosci.* 2016. 10: 540-571. DOI: 10.3389/fnins.2016.00540.
22. Wang Y., Prpic V., Green G.M., Reeve J.R. Jr, Liddle R.A. Luminal CCK-releasing factor stimulates CCK release from human intestinal endocrine and STC-1 cells. *AJP Gastrointest. Liver Physiol.* 2002, 282(1): 16-22. DOI:10.1152/ajpgi.2002.282.1.G16.

**Effect of cholecystokinin on the activity of intestinal peptidases
and glycosidases in fish of various species**

Kuz'mina V.V., Kulivatskaya E.A.

Papanin Institute of Inland Waters Biology, Borok, Yaroslavl oblast, Russian Federation

ABSTRACT. The effect of cholecystokinin (CCK) on the activity of peptidases (proteolytic activity, PA) and glycosidases (amylolytic activity, AA) in the intestinal mucosa in 3 fish species was studied: carp *Cyprinus carpio* L., roach *Rutilus rutilus* (L.) and perch *Perca fluviatilis* L. It has been shown that 1 hour after intraperitoneal administration, CCK slightly increases AA in the intestinal mucosa in carp and 1.3 times in roach, but decreases by 4.9 times the enzymatic activity in perch. The character of PA modification in the intestinal mucosa under the influence of CCK in the same species is close to that of AA - it changes slightly in carp, increases 8.2 times in roach and decreases 6 times in perch. In perch chyme, CCK increased AA and decreased the PA. The relative activity of both groups of enzymes in the intestinal mucosa of carp after CCK administration increases ($P < 0.05$) by 6 (AA) and 10% (PA) vs control. In roach, the introduced hormone caused an increase in the relative activity of glycosidase (by 32%) and peptidases (by 724%). Unlike benthophages, in perch CCK significantly reduced (by 80%) AA and PA in the intestinal mucosa and, the opposite effects of CCK were revealed in chyme: an increase in AA and a decrease in PA. The mechanisms of CCK effects on the activity of fish intestinal peptidases and glycosidases are discussed.

Key words: carp, roach, perch, intestines, chyme, digestion, cholecystokinin, glycosidases, peptidases

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2020, 1: 44-51

Поступило в редакцию: 20.11.2019

Получено после доработки: 21.02.2020

Кузьмина Виктория Вадимовна, д.б.н., г.н.с; тел. раб. (485)47-24-526, дом. (485)47-24-207;
vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru;

Куливацкая Екатерина Алексеевна, м.н.с., тел. 8(960)-531-14-60.