

УДК: 576+577

Б. З. ЛЯВРІН, О.О. РАБЧЕНЮК, В. О. ХОМЕНЧУК, В. З. КУРАНТ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ НЕПОЛЯРНИХ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)

Ключові слова: короп, неполярні ліпіди, фосфоліпіди, зябра, печінка, м'язи

Зростання антропогенного впливу на водне середовище загострило проблему виживання гідробіонтів в стресових умовах. Відомо, що відповідь організму на дію токсиканту є результатом взаємодії двох процесів – пошкодження (деструкція) та захисту (компенсаторна адаптація) [13]. Їх співвідношення визначає рівень токсичності водного середовища щодо риб.

Відомо, що організм гідробіонтів має багато засобів біохімічної адаптації різного ступеня складності, які дозволяють йому успішно пристосовуватися до дії токсикантів. Одним із них є перебудова ліпідного метаболізму. В останні роки з'явилася низка робіт, в яких підтверджено значення окремих ланок ліпідного обміну у гідробіонтів, особливо риб, у формуванні токсикорезистентності цих організмів [2, 17, 21]. Як одні з основних компонентів біологічних мембран, ліпіди впливають на їх проникність, беруть участь у передачі нервового імпульсу, створюють міжклітинні контакти, виконують функції вторинних месенджерів у передачі сигналів у клітину. Суттєві кількісні та якісні зміни ліпідного складу в організмі дослідних тварин спричиняють також і солі важких металів. Так, іони марганцю стимулюють синтез жирних кислот при інкубації ізольованих гепатоцитів печінки щурів, суттєво впливаючи на ліпідний обмін [15].

Встановлено, що в адаптації риб до несприятливих факторів навколишнього середовища зменшення вмісту ліпідів відіграє роль фактора “білкового згущення” мембран клітин, зниження їх проникності та підвищення контролю за проникністю іонів [16].

Саме тому особливий інтерес викликає вивчення особливостей обміну та вмісту індивідуальних класів нейтральних ліпідів в тканинах коропа, як основного промислового виду прісних водойм.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження був короп лускатий – *Cyprinus carpio L.* масою 290-330 г. Для біохімічного аналізу брали печінку, зябра та спинні м'язи. Тканини подрібнювали на холоді в скляних гомогенізаторах з наступним екстрагуванням загальних ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2:1 за методом Фолча [11]. При цьому до однієї масової частини тканини додавали 20 частин екстрагуючої суміші і залишали на 12 год. для екстракції. Неліпідні домішки з екстракту видаляли відмиванням 1% розчином KCl [12]. Кількість загальних ліпідів у тканині визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [5].

Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках “Sorbfil” [7]. Перед роботою пластинки активували 30 хв. при температурі 105°C в сушильній шафі. Отриманий хлороформний розчин ліпідів спочатку випарювали насухо, а потім розчиняли у 1 мл хлороформу. Одержані проби ліпідів наносили на пластинку мікродозатором в кількості 40 мкл. розчину і поміщали їх в хроматографічні камери. Рухомою фазою служила суміш гексану, діетилового ефіру і льодяної оцтової кислоти у відношенні 70:30:1 [12]. Одержані хроматограми проявляли в камері, насиченій парами йоду. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти [5]. Кількість неполярних ліпідів визначали біхроматним методом [12], вміст фосфоліпідів – за кількістю неорганічного фосфору методом Васьковського [22].

Результати досліджень були статистично опрацьовані з використанням стандартного пакету програм Microsoft Office 2013, та t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що загальний вміст ліпідів свідчить про активність анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії, або про їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму і структурних компонентах клітини [6]. Як видно з результатів дослідження, загальний вміст ліпідів в печінці коропа значно перевищує їх вміст в тканинах зябер та м'язів, і становить понад 50 мкг/г (рис. 1). Із літературних даних відомо [8], що характер розподілу ліпідів в тканинах і органах різних видів і екологічних груп залежить від умов середовища, рухової активності, віку, тощо. Розміщення основних запасів жиру в м'язовій тканині характерне для хижих видів, зокрема щуки та окуня [8]. Значна трофічна пластичність та швидке пристосування в кормовому раціоні коропа дозволяють йому значною мірою накопичувати ліпіди в печінці, які можуть бути використані як для енергетичних, так і для пластичних потреб [14]. Загальний вміст ліпідів в тканинах зябер та м'язів практично не відрізняється, що дозволяє стверджувати про однаковий рівень накопичення ліпідів в неспецифічних для їх запасання тканинах.

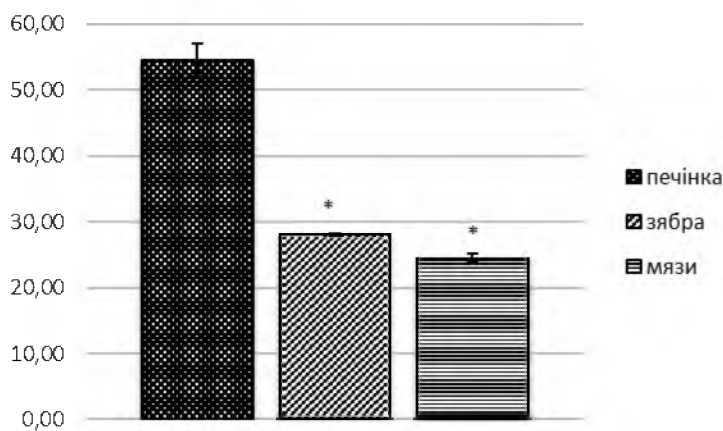


Рис. 1. Вміст загальних ліпідів в тканинах коропа (мкг/г тканини).

Отримані дані щодо вмісту нейтральних ліпідів в тканинах печінки, зябер та м'язів коропа вказують на те, що вміст триацилгліцеролів (ТАГ) найбільший в печінці, нижчий – в зябрах, і найнижчий – в м'язах (рис. 2). Відомо, що ТАГ є одним із чинників стабілізації клітинних мембран і у стресових умовах вони є попередниками утворення диацилгліцеролів (ДАГ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) [21] і фосфоліпідів [18]. Накопичення ТАГ може бути типовою реакцією на дію токсикантів, оскільки можливий єдиний механізм участі ТАГ у стабілізації мембран за токсичної дії. Збільшення вмісту їх співвідноситься з ущільненням і зменшенням плинності мембран [20], що свідчить про їх участь у формуванні бар'єру проникнення токсиканту у клітину.

Вміст НЕЖК зростає в ряді: печінка→зябра→мязи. Відомо, що триацилгліцероли є джерелом формування пулу неестерифікованих жирних кислот, вміст яких, як показали наші дослідження, в тканинах коропа є оберненопропорційним вмісту ТАГ [18]. Зміна загального вмісту неестерифікованих жирних кислот, як попередників синтезу ліпідів, так і продуктів їх розпаду в тканинах риб, є одним із критеріїв оцінки спрямування ліпідного метаболізму: зниження їх кількості є свідченням активації синтезу ліпідів, а збільшення – ліполізу. Значне зростання кількості неестерифікованих жирних кислот свідчить про формування катаболічного стрес-синдрому в умовах інтоксикації. Так, найвищий вміст НЕЖК виявлено в клітинах м'язів, що може бути ознакою переважання тут ліполітичних процесів порівняно з іншими тканинами.

Відомо, що вільний холестерол поряд з фосфоліпідами впливає на проникність мембран, забезпечує їх ультраструктуру і функціональну активність – плинність біомембран, забезпечує активність багатьох мембранозв'язаних ферментів [4] та систем пасивного транспорту [17], а також механічну щільність бішару мембрани.

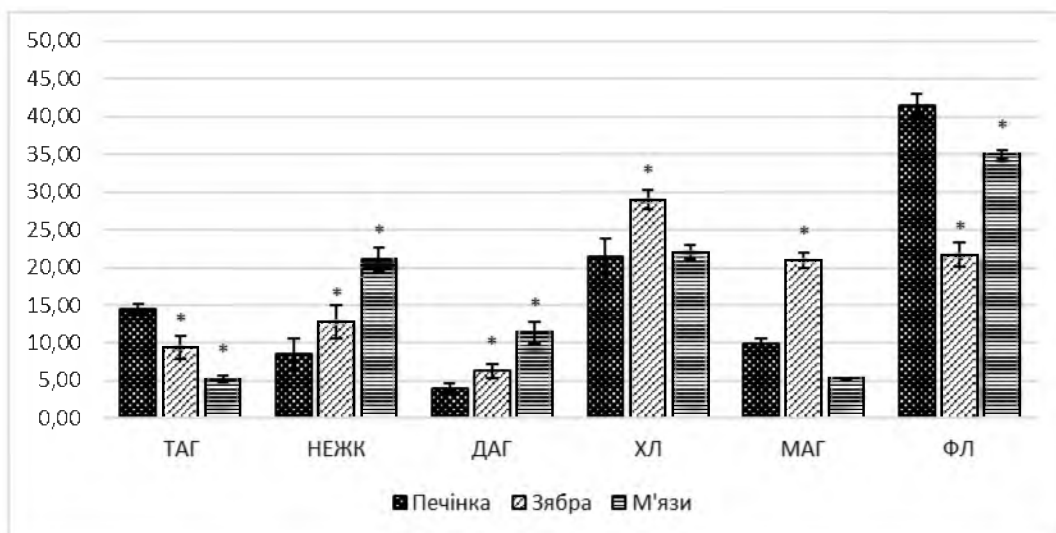


Рис. 2. Вміст неполярних ліпідів (в % від загальної кількості ліпідів) в зябрах, печінці та м'язах коропа (*-Тут і далі різниця статистично достовірна порівняно із печінкою, n=5)

Так, вміст холестеролу в досліджених тканинах найвищого рівня досягає в зябрах. Вміст його в печінці і м'язах нижчий на 7%, і є постійним. Збільшення кількості холестеролу, як правило, супроводжується зменшенням плинності клітинних ліпідів та їх вибіркової проникності, зниженням катіонної проникності мембрани, інгібуванням більшості ліполітичних ферментів [10].

Найвні в літературі факти про те, що інтенсивність синтезу фосфоліпідів, а відповідно і їх вміст в тканинах, також може бути своєрідним захистом клітин організму від проникнення через їх мембрану токсикантів шляхом її ущільнення [1, 9]. Найвища концентрація фосфоліпідів спостерігається в печінці, що свідчить про більшу активність синтезу структурних ліпідів саме в цьому органі порівняно із іншими дослідженими тканинами. Найнижчий вміст полярних ліпідів спостерігаємо в зябрах коропа.

ДАГ та моноацилгліцероли (МАГ) є посередниками синтезу ТАГ і фосфоліпідів. Низький вміст цих ліпідів в тканинах свідчить про спрямування ліпідного метаболізму в напрямку синтезу структурних ліпідів [20]. Так, вміст ДАГ зростає в ряді печінка→зябра→м'язи. Найвищий вміст МАГ спостерігаємо в зябрах, нижчий (на 10%) – в печінці, найнижчий – в м'язах. Відповідно до цих показників спрямування обміну ліпідів в печінці зміщується в бік синтезу структурних ліпідів, проте в зябрах переважають ліполітичні процеси, про що свідчить високий вміст проміжних продуктів обміну.

Стійкість мембран, пристосованих до несприятливих чинників, пов'язують з якісними і кількісними змінами у їх складі триацилгліцеролів (ТАГ), диацилгліцеролів (ДАГ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК), холестеролу (ХЛ), моноацилгліцеролів (МАГ) та фосфоліпідів (ФЛ) [3]. Інформативним функціональним показником стану мембрани є відношення холестерол/фосфоліпід [2]. Молярне відношення холестеролу до фосфоліпідів, близьке до одиниці, зазвичай стає для багатьох біологічних мембран, проте при значних підвищеннях цього співвідношення холестерол перетворюється в кристалічну форму [19]. Слід зазначити, що від величини цього показника залежить щільність влаштування ліпідних молекул в мембрані, її плинність і фазовий стан: збільшення його значення призводить до збільшення щільності та мікрров'язкості плазматичної мембрани і, відповідно, до зменшення її плинності і проникності.

Із отриманих результатів видно, що щільність мембран більша в клітинах зябер та м'язів, порівняно з печінкою, в 1,5 та 1,3 раза відповідно (рис. 3).

Висновки

Виявлено, що загальний вміст ліпідів і їх окремих класів є тканиннospецифічним і залежить від фізіолого-біохімічних особливостей виду риб та токсичності середовища їх існування.

Збільшення щільності і мікрів'язкості мембран зябер може бути індикатором підвищеного токсичного впливу середовища.

1. *Воробьев В. И.* Микроэлементы и их применение в рыбоводстве / В. И. Воробьев. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 183с.
2. *Давыдов О. Н.* Роль гидробионтов в онкоэкологическом мониторинге / О. Н. Давыдов, Н. М. Исаева, Л. Я. Куровская // Наук. зап. – Тернопіл. держ. пед. ун-ту. Серія: Біологія. – 2001. – Т. 4, № 15. – С. 41–42.
3. *Дятловицкая Э. В.* Липиды как биоэффекторы. Введение / Э. В. Дятловицкая, В. В. Безуглов // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 1. – С. 3–5.
4. *Евтушенко Н. Ю.* Физиологическое значение отдельных микроэлементов в механизмах регуляции липидного обмена у рыб / Н. Ю. Евтушенко // 6-ая Всесоюз. конф. по эколог. физиол. и биохим. рыб.: тез. докл. – Вильнюс, 1985. – С. 772.
5. *Кейтс М.* Техника липидологии. Выделение анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
6. *Климов А. Н.* Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А. Н. Климов, А. Н. Никульчева. – СПб.: Питер-ком., 1999. – 512 с.
7. *Копытов Ю. П.* Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов / Ю. П. Копытов // Экология моря. – 1983. – № 12. – С.76– 80.
8. *Лав Р. М.* Химическая биология рыб / Р. М. Лав. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 349 с.
9. *Меерсон Ф. З.* Основные закономерности индивидуальной адаптации / Физиология адаптационных процессов / Ф. З. Меерсон. – М.: Наука, 1986. – 76 с.
10. *Мецлер Д.* Биохимия : Химические реакции в живой клетке / Д. Мецлер. – М.: Мир, 1990.– Т. 2. – 608 с.
11. *Орел Н. М.* Биохимия липидов / Н. М. Орел. – Минск, 2007. – 37 с.
12. *Прохорова М. И.* Методы биохимического исследования / М. И. Прохорова. – Л.: Изд.ЛГУ, 1982. – 222 с.
13. *Романенко В. Д.* Механизмы температурной акклимации рыб / Романенко В. Д., Арсан О. М., Соломатина В. Д. – К.: Наукова думка, 1991. – 192 с.
14. *Строганов Н. С.* Экологическая физиология рыб / Н. С. Строганов. – М.: Изд-во Московского ун-та., 1962. – 443 с.
15. *Шахмаев Н. К.* Влияние марганца на обмен липидов / Н. К. Шахмаев // Химическое и биохимическое окисление систем, содержащих элементы. – Челябинск. – 1979. – С. 40–41.
16. *Шульман Г. Е.* ДГК и ненасыщенность липидов у рыб / Г. Е. Шульман, Т. Г. Юнева // Гидробиол. журн. – 1990. – Т. 26, № 6. – С. 50–55.
17. **Gulik-Krzywicki T.** Structural studies of the associations between biological membrane components / T. Gulik-Krzywicki // Comp. Biochem. Physiol. – 1995. – Vol. 105, № 1. – P. 161–214.
18. **Hilmy A. M.** The toxicity to *Claris lozera* of copper and zinc applied jointly / A. M. Hilmy, N. A. Domiati, A. J. Daabees // Comp. Biochem. and Physiol. – 1987. – Vol. 2. – P. 309–314.
19. **Hokin L. E.** Studies on the characterization of the sodium-potassium transport adenosine triphosphatase IX. On the role of phospholipids in the enzyme / L. E. Hokin, T. D. Hexum // Arch. Biochem and Biophys. – 1992. – Vol. 151, № 2. – P. 58–61.
20. **Katz B.** Relationship of aquatic organisms to the letality of toxicants: a broad overview with emphasis on membrane permeability / B. Katz // Aquatic toxicology. – Philadelphia: American society for testing and materials. – 1989. – P. 62–76.
21. **Lewis R.N.A.H.** Surface charge markedly attenuates the nonlamellar phase-forming properties of lipid bilayer membranes: calorimetric and 31P-nuclear magnetic resonance studies of mixtures of cationic, anionic, and zwitterionic lipids / R.N.A.H. Lewis, R. N. McElhaney // Biophys. J. – 2000. – Vol. 79, № 3. – P. 1455–1464.
22. **Vaskovsky V. E.** A universal reagent for fosfolipid analisis / V. E. Vaskovsky, E. V. Kastetsky // J. Chromatogr. – 1985. – Vol. 144. – P. 129–141.

Б. З. Ляврин, Е. А. Рабченко, В. А. Хоменчук, В. З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НЕПОЛЯРНЫХ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КАРПА (CYPRINUS CARPIO L.)

Исследованы особенности содержания общих липидов, и их отдельных классов в печени, жабрах и мышцах карпа. Показано соотношение содержания моно-, ди-, и триацилглицеролов, неэтерифицированных жирных кислот, холестерина и фосфолипидов в исследуемых тканях.

Ключевые слова: карп, неполярные липиды, фосфолипиды, жабры, печень, мышцы.

B. Z. Lyavrin, O.O. Rabchenuk, V. O. Khomenchuk, V. Z. Kurant

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

FEATURES OF CONTENT OF NONPOLAR LIPIDS IN CARP TISSUES (CYPRINUS CARPIO L.)

The features of total lipids and individual classes of those lipids in the liver, gills and muscle of carp were researched. Displayed value content of mono-, di-, and triacylglycerol, no etherified fatty acids, cholesterol and phospholipids in the studied tissues.

Key words: carp, nonpolar lipids, phospholipids, gills, liver, muscle

Рекомендує до друку

Надійшла 08.02.2013

В.В. Грубінко

УДК 547.915: 639.215.2

Ю.І. СЕНИК, В.О. ХОМЕНЧУК, В.З. КУРАНТ, В.В. ГРУБІНКО

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса 2, Тернопіль, 46027

РОЛЬ ЛІПІДІВ ЗЯБЕР ЩУКИ У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО ЙОНІВ ЦИНКУ

Досліджено зміни вмісту ліпідів у зябрах щуки за дії 0,5 та 2,0 рибогосподарських ГДК йонів цинку. Встановлено зміни вмісту неполярних ліпідів, фосфоліпідів та їх співвідношення у досліджуваній тканині аклімованих риб. На підставі одержаних даних встановлено концентраційнозалежні механізми адаптації ліпідного профілю клітин зябер щуки до дії йонів цинку.

Ключові слова: щука, неполярні ліпіди, фосфоліпіди, цинк

Однією з центральних проблем біології є розуміння механізмів забезпечення резистентності організму і його адаптації до чинників середовища. Адаптації забезпечуються комплексом змін, серед яких особливу роль відіграють біохімічні перетворення, що лежать в основі розвитку компенсаторних реакцій клітини [9].

Зябра риб відіграють провідну роль в регуляції гомеостазу йонів металів [20]. Надходження цинку до їх організму здійснюється по тих самих транспортних шляхах, що і кальцію [12]. Одним із адаптивних пристосувань до дії цинку при довготривалих експозиціях є синтез організмом риб таких ізоформ переносників кальцію, які характеризуються високим значенням K_m як по відношенню до йонів кальцію, так і цинку. Такі зміни не порушують транспорту кальцію в організм в зв'язку з високою його концентрацією у воді, а надходження цинку значно зменшується [19].