

воспалительные процессы кишечника. Поэтому эти бактерии являются достаточно интересными и перспективными для дальнейших исследований.

Ключевые слова: сульфат-восстановительные бактерии, *Desulfovibrio piger*, сульфаты, водород сульфид, язвенный колит, воспалительные заболевания кишечника

Рекомендує до друку
О.Б. Столяр

Надійшла 16.10.2013

УДК 547.915: 639.215.2

Ю.І. СЕНИК¹, Б.З. ЛЯВРИН¹, І.Ю. НАЙКО², О.Б. ОСТАПЮК¹, Д.В. ГАЙДУК¹,
В.Я. БИЯК¹, В.О. ХОМЕНЧУК¹, В.З. КУРАНТ¹

¹Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

²ПВНЗ “Буковинський університет”
вул. Дарвіна, 2а, Чернівці, 58000

ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД МІТОХОНДРІЙ КЛІТИН ГЕПАТОПАНКРЕАСУ РИБ ЗА ДІЇ ЙОНІВ Zn²⁺ ТА Cd²⁺

Досліджено вплив Zn²⁺(0,5 і 2 мг/дм³) та Cd²⁺(0,005 і 0,02 мг/ дм³) на ліпідний склад мітохондрій клітин гепатопанкреасу коропа (*Cyprinus carpio* L.) та щуки (*Esox lucius* L.). Встановлено, що підвищені концентрації йонів металів у воді викликають структурно-функціональні зміни фосфоліпідного складу мітохондрій досліджуваних риб.

Вплив 0,5 мг/дм³ йонів Zn²⁺ у обох видів риб та дія низьких концентрацій Cd²⁺ у щуки активував синтез ФХ, що призводить до зниження мікров'язкості мембрани, що, ймовірно, обумовлено збільшенням ролі фосфоліпідів у регуляції її проникності для йонів металів.

Дія обох досліджуваних концентрацій кадмію та вплив 2 мг/дм³ йонів цинку викликала зростання кількості ФЕА, ЛФХ і СМ та зменшення вмісту ФХ і ФІ. Зниження вмісту ФХ і ФІ з паралельним накопичення ЛФХ вказує на активацію лізосомальної фосфоліпази А₂ і фосфоліпази С, тобто, деструкцію ліпідного шару мембран мітохондрій. Адаптивною відповіддю на такі зміни можна вважати накопичення СМ і ФЕА, що сприяє збільшенню щільності ліпідного бішару та, відповідно, зниженню його проникності. Незважаючи на адаптивну роль ФЕА, значне його накопичення з одночасним гідролізом ФХ сприяє можливій його появі на зовнішньому шарі мембран мітохондрій, внаслідок чого спостерігається зростання її проникності, що може бути однією з причин накопичення йонів Cd²⁺ і Zn²⁺ за дії їх високих концентрацій у воді.

Ключові слова: щука, короп, цинк, кадмій, печінка, мітохондрії, мембрани, фосфоліпіди

В організмах гідробіонтів еволюційно сформувалися механізми біохімічної адаптації до хімічних чинників різного типу і рівня. Одним із таких механізмів адаптації до надлишкового надходження іонів металів є структурна перебудова ліпідного бішару мембран [8]. Проте, незважаючи на актуальність, їх вплив на ліпідний обмін у водних організмів вивчено недостатньо, оскільки, більшість досліджень проведено на вищих хребетних тваринах [3]. Щодо риб, то у них досліджено роль ліпідів в адаптації до інших екологічних чинників [2, 4].

Враховуючи те, що йони металів можуть проникати з води в організм риб і змінювати спрямованість багатьох обмінних процесів [5], предметом цього дослідження стало вивчення участі ліпідів мітохондрій гепатоцитів коропа і щуки (відповідно, представника миролюбивих риб та хижака) в адаптації їх організму до дії йонів цинку і кадмію (есенціального та токсичного металу) механізм надходження яких в організм риб є подібним [12]. Також ці

метали обрано внаслідок аналізу попередніх досліджень [1], які показали, що вміст цинку у поверхневих водах річок Західного Поділля серед біогенних металів є одним з найбільших, тоді як кадмій – основний забруднювач водних екосистем серед металів [10].

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus carpio* L.) та щуки (*Esox lucius* L.), масою 400 – 500 г, яких утримували в акваріумах об'ємом 200 дм³ з відстояною водопровідною водою, яку змінювали щодобово, за таких умов: уміст O₂ – 7,5±0,5 мг/дм³; CO₂ – 2,5±0,3 мг/дм³; рН – 7,8±0,1. У кожному акваріумі утримувалось по 5 риб. Риб під час експерименту не годували.

Досліджували вплив 0,5 і 2 мг/дм³ іонів Zn²⁺ та 0,005 мг/л і 0,02 мг/дм³ іонів Cd²⁺, що становить, відповідно, 0,5 та 2 рибогосподарські граничнодопустимі концентрації (відповідно, перша – допорогова, друга – сублетальна). Необхідну концентрацію йонів металу у воді створювали розчиненням ZnSO₄·5H₂O та CdCl₂·2,5H₂O кваліфікації “х.ч.”.

Період аклімації риб становив 14 днів, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-фактору.

Після зазначеного терміну риб декапітували та на холоді проводили екстирпацію передньої долі гепатопанкреасу. Досліджувану тканину гомогенізували в охолоджену розчині такого складу: 0,22 М сахароза, 10⁻⁴ М ЕДТА та 0,01 М тріс-НСІ (рН 7,2) у співвідношенні наважка тканини:об'єм розчину 1:5. Гомогенат центрифугували при 2000-2500 об./хв протягом 20 хв. Осад ядер відкидали, а надосад центрифугували 30 хв. при 12000 об./хв. Осад гістологічно ідентифікували як фракцію мітохондрій. Виділення субклітинних компонентів проводили при температурі +4°C.

Для екстрагування загальних ліпідів до мітохондріальної фракції додавали хлороформ-метанолову суміш у відношенні 2:1 за методом Фолча. Час екстрагування становив 12 год. Неліпідні домішки з екстракту видаляли після додаванням 1% розчину КСІ. Пробу ліпідів розчиняли у 1 мл хлороформу та проводили їх розділення на окремі фракції методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії в герметичних камерах на пластинках “Sorbfil” (Росія).

Дослідження вмісту полярних ліпідів та їх окремих фракцій. Рухомою фазою для розділення фракцій фосfolіпідів була суміш хлороформ-метанол-льодяна оцтова кислота-дистильована вода у співвідношенні 60:30:7:3. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти. Виявлено такі фракції: лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилхолін (ФХ), сфінгомієлін (СМ) та фосфатидилінозитол (ФІ).

Вміст фосfolіпідів визначали за кількістю неорганічного фосфору за методом Васьковського [32].

Вміст металів визначали у спалених в перегнаній нітратній кислоті мітохондріях у співвідношенні (1:5 - маса:об'єм) на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 і виражали в нг/мг білка.

Всі одержані дані оброблено статистично з використанням критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Вміст металів у мітохондріальній фракції риб. Високий рівень цинку в мітохондріальній фракції гепатопанкреасу досліджуваних риб, можливо, є наслідком його важливої біологічної ролі в їх організмі [7]. Крім того, існує гіпотеза про використання йонів цинку в нервових синапсах як нейромедіатора [16], що, в свою чергу, вимагає підтримання його концентрації у вузькому діапазоні.

Встановлена міжвидова відмінність вмісту цинку в мітохондріальній фракції гідробіонтів (рис. 1). Так, вміст цього металу в організмі коропа у декілька раз вищий, ніж у щуки, що пов'язано зі здатністю цього виду риб акумулювати йони Zn²⁺ у декілька разів більше, порівняно з їх кількістю у навколишньому середовищі [10].

Вірогідні зміни вмісту цинку в мітохондріях гепатопанкреасу встановлено лише у риб, аклімованих до дії 2 мг/дм³ металу, при цьому його кількість зросла, відповідно, у 1,40 раза в

коропа та у 1,71 раза в щуки. Акумулявання йонів Zn^{2+} , ймовірно, є наслідком його надходження через Ca^{2+} -канали [6].

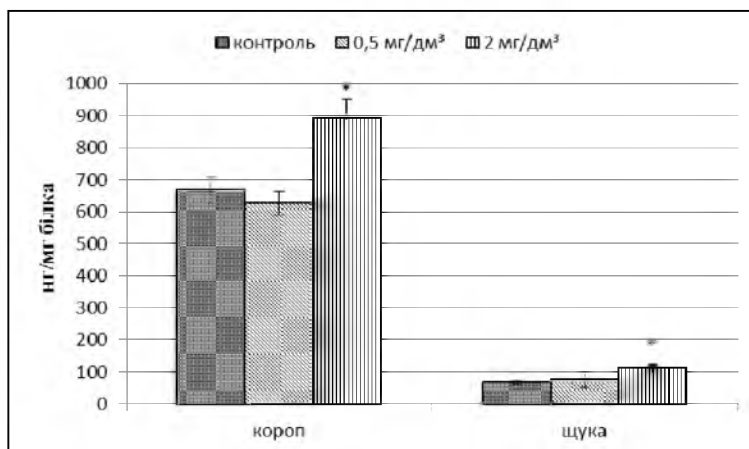


Рис. 1. Вміст цинку в мітохондріальній фракції клітин гепатопанкреасу досліджуваних видів риби ($M \pm m$, $n=5$)

Примітка: * - різниця дослідних показників щодо контролю статистично достовірна

Накопичення йонів кадмію в мітохондріях риби є дозозалежним та видоспецифічним (рис. 2). Так, за експозиції допорогової кількості кадмію у мітохондріях щуки його вміст практично не відрізняється від контрольних значень, що може бути обумовлено особливостями перерозподілу цього металу в організмі риби [14]. Натомість, за експозиції обох дослідних концентрацій йонів цинку в коропа та за впливу сублетальної концентрації токсиканту в щуки встановлено його зростання, відповідно, у 1,20 і 1,60 та 1,46 раза ($p < 0,05$). Накопичення металу в мітохондріях риби, очевидно, є наслідком надходження йонів Cd^{2+} через Ca^{2+} -канали [11] та утворення нерозчинних сполук з фосфат-аніоном [15].

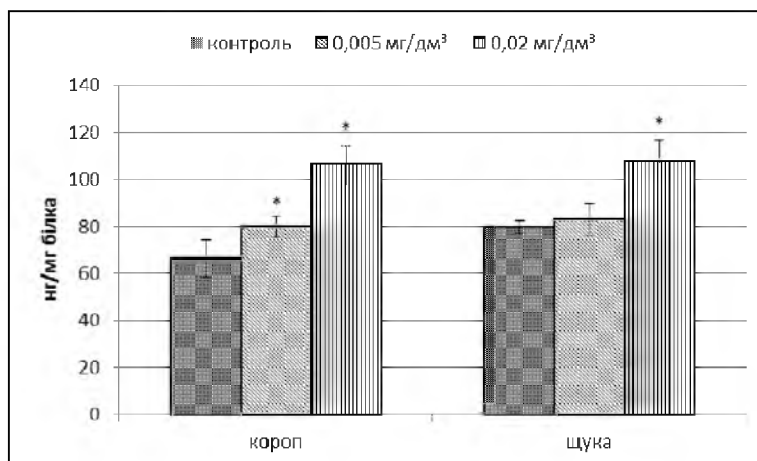


Рис. 2. Вміст кадмію в мітохондріальній фракції клітин гепатопанкреасу досліджуваних видів риби ($M \pm m$, $n=5$)

Враховуючи зміни вмісту акумуляваного металу значний інтерес представляють адаптаційні перебудови фосфоліпного складу мітохондрій.

Співвідношення окремих фракцій фосфоліпідів у мітохондріях гепатопанкреасу риби за дії йонів цинку. З метою вивчення ролі окремих фосфоліпідів у адаптації до дії підвищених концентрацій йонів цинку, проведено дослідження фосфоліпидного складу мітохондрій досліджуваних видів риби (рис. 3).

За дії допорогової концентрації Zn^{2+} спостерігається активація анаболічних перетворень, підтвердженням цього є достовірне зростання у 1,16 і 1,25 раза вмісту ФХ, відповідно, в

клітинах печінки коропа та щуки. Опосередкованим підтвердженням активації синтезу фосфатидилхоліну є зниження у 1,48 і 1,73 раза вмісту ЛФХ.

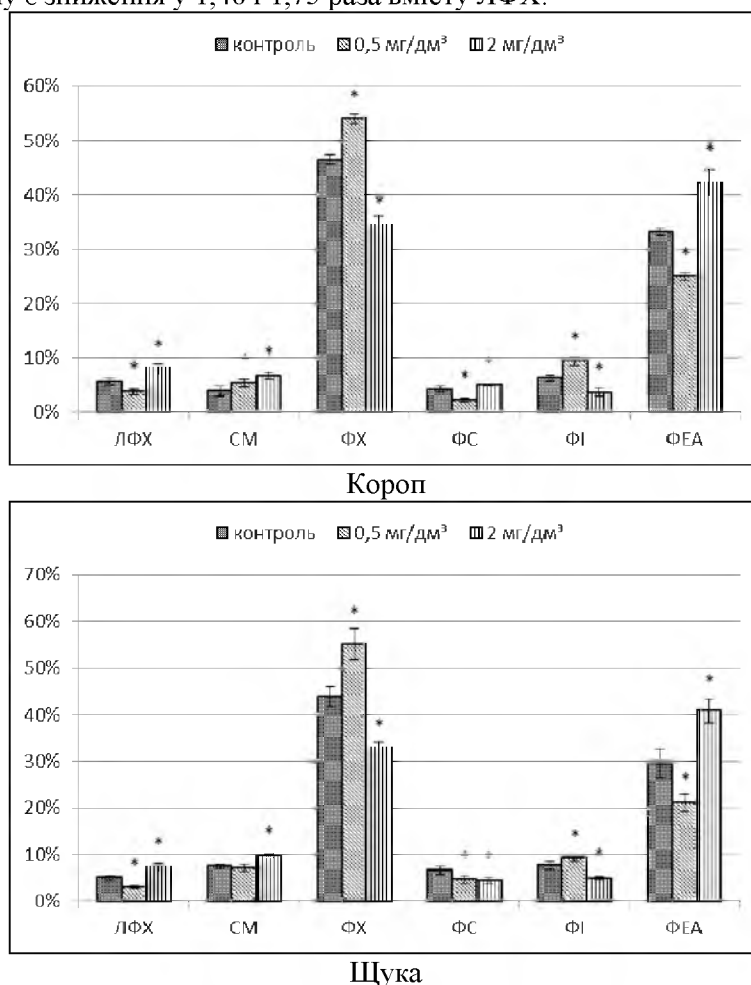


Рис. 3. Вміст окремих фракцій фосфоліпідів в мітохондріях гепатоцитів риб за дії йонів цинку ($M \pm m$, $n=5$)

Синтез ФХ, ймовірно, обумовлений активацією йонами Zn^{2+} як метилтрансфераз [17], про що свідчить достовірне зниження кількості ФЕА, відповідно, у 1,33 і 1,39 раза, так і збільшенням ферментативної активності фосфохолінцитидилтрансферази [18], що підтверджується достовірним зниженням кількості ДАГ.

Зменшення вмісту ФС у 1,86 раза в коропа та у 1,43 раза в щуки, ймовірно, є результатом активації фосфатидилсериндекарбоксилази [19], що сприяє відновленню пулу фосфатидилетаноламіну.

Достовірне зростання кількості ФІ, відповідно, у 1,48 раза в коропа та у 1,19 раза в щуки, може бути обумовлено зростанням функціональної активності у МХ, бо відомо, що допорогові концентрації йонів Zn^{2+} виступають у ролі активаторів мітохондріальних ферментів [20].

За дії сублетальної концентрації йонів цинку встановлено достовірне зниження у 1,48 раза в коропа і у 1,41 раза в щуки вмісту ФХ та збільшення вмісту ЛФХ, відповідно, у 1,42 та 1,44 раза. Такі зміни вмісту цих фракцій фосфоліпідів вказують на зростання активності фосфоліпаз [21].

Збільшення кількості ФЕА, відповідно, у 1,27 та 1,39 раза ($p < 0,05$), спричинене інгібуванням йонами цинку метилаз [17], внаслідок чого має місце зниження інтенсивності його використання у синтетичних процесах [22].

Зміни кількості ФС є видоспецифічними, що пов'язано з різним характером впливу йонів Zn^{2+} на активність фосфатидилсериндекарбоксилази. Так, у мітохондріях коропа кількість

фосфатидилсерину достовірно зростає у 1,19 раза, тоді як у гепатоцитах щуки відмічено зниження вмісту фосфоліпиду у 1,50 раза ($p < 0,05$).

Зниження вмісту ФІ у складі мітохондрій клітин печінки коропа і щуки, відповідно, у 1,74 та 1,56 раза ($p < 0,05$) можна пояснити зростанням активності фосфоліпази A_2 , для якої фосфатиділінозитол є неспецифічним субстратом [23] та фосфоліпази С [24].

Достовірно зростання вмісту СМ у складі мітохондрій гепатоцитів коропа і щуки, очевидно, є результатом активації йонами металу перетворення ФХ у СМ за участю церамідхолінфосфотратсфери [22]. Такі зміни покликані збільшити мікрів'язкість мітохондріальної мембрани та знизити її проникність для токсиканту.

Оцінку біологічних змін фосфоліпідного спектру здійснили на основі коефіцієнтів відношення вмісту фракцій цих фосфоліпідів (рис. 4).

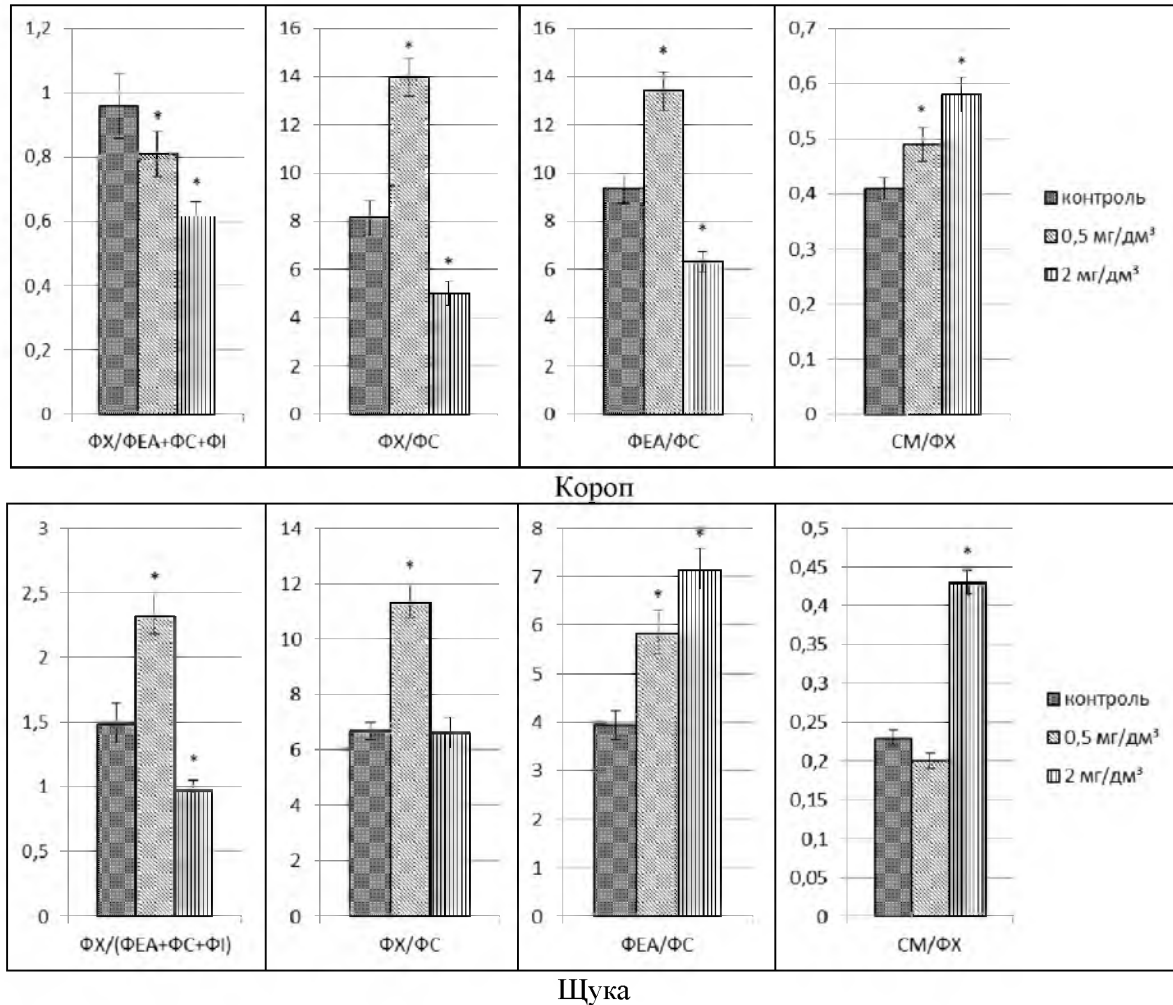


Рис. 4. Співвідношення фракцій фосфоліпідів в мітохондріях гепатоцитів риб за дії йонів цинку ($M \pm m$, $n=5$)

Зміни досліджуваних співвідношень фосфоліпідів є дозозалежними. Так, за впливу допорогової концентрації йонів цинку відмічається зростання у 1,39 і 1,50 раза коефіцієнта $[ФХ/(ФЕА+ФІ+ФС)]$, відповідно, у мітохондріях клітин гепатопанкреасу коропа та щуки. Одержані результати вказують на збільшення вмісту ліпідів зовнішнього шару мембран, що сприяє їх упорядкованості та зростанню регуляції мітохондріального метаболізму. За експозиції сублетальної кількості йонів цинку спостерігається достовірне зниження цього співвідношення у досліджуваних риб, відповідно, у 1,63 раза в коропа та у 1,54 раза в щуки. Такі зміни коефіцієнту $[ФХ/(ФЕА+ФІ+ФС)]$ свідчать про зростання вмісту фосфоліпідів внутрішнього шару мембрани, що сприяє зростанню мікрів'язкості мембран [25].

Співвідношення ФХ/ФС та ФЕА/ФС є не лише концентраційнозалежними, а й видоспецифічними. За дії 0,5 ГДК йонів цинку дані показники у клітинах епітелію зябер зростають, відповідно, у 1,87 і 1,51 раза в коропа та у 1,48 і 1,52 раза в щуки ($p < 0,05$), що вказує на інтенсифікацію шляху перетворення ФС у ФЕА та ФХ.

За впливу сублетальної кількості токсиканту спостерігається зниження активності синтезу фосфатидилхоліну із фосфатидилсерину у мітохондріях обох досліджуваних видів риби, на що вказує достовірне зниження показника ФХ/ФС, відповідно, у 1,62 та 1,34 раза. Одночасно зростання відношення ФЕА/ФС в щуки у 2,08 раза підтверджує активацію йонами Zn^{2+} фосфатидилсериндекарбоксілази.

За дії підвищених концентрацій цинку в коропа встановлено зростання співвідношення СМ/ФХ. Натомість у щуки це співвідношення збільшилося лише за впливу сублетальної концентрації Zn^{2+} , що вказує на інтенсифікацію перетворення ФХ у СМ [29].

Співвідношення окремих фракцій фосfolіпідів у складі мітохондрій клітин гепатопанкреасу досліджуваних тканин риби за дії підвищених концентрацій йонів кадмію носять різнонаправлений характер (рис. 5).

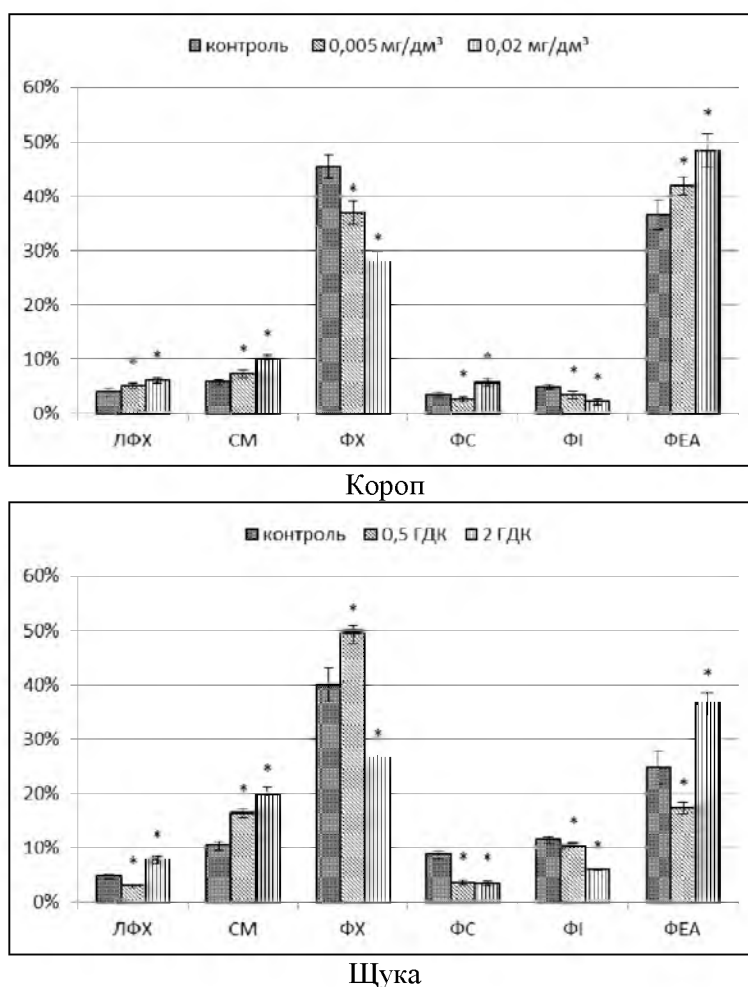


Рис. 5. Вміст індивідуальних фракцій фосfolіпідів в мітохондріях гепатоцитів риби за дії йонів кадмію ($M \pm m$, $n=5$)

За експозиції допорогової кількості металу у мітохондріях гепатопанкреасу щуки вміст ФХ достовірно зріс у 1,18 раза, а кількість ФЕА знизилася у 1,42 раза, що, може бути наслідком інтенсифікації синтезу холінвмісного ліпиду за участю метилтрансфераз [18]. Опосередкованим підтвердженням активації синтезу фосфатидилхоліну в біліпідному шарі мітохондрій гепатоцитів риби є зниження вмісту лізофосфатидилхоліну у 1,59 раза ($p < 0,05$) [20].

Зменшення вмісту фосфатидилсерину у 2,36 раза ($p < 0,05$), ймовірно, спричинене активацією фосфатидилсериндекарбоксилази [29], що сприяє поповненню пулу фосфатидилетаноламіну [13].

За впливу обох дослідних концентрацій йонів Cd^{2+} у мітохондріях гепатопанкреасу коропа та у щуки, аклімованої до дії $0,02 \text{ мг/дм}^3$ йонів металу, відмічається достовірне зниження вмісту ФХ, відповідно, у 1,23, 1,63 і 1,51 раза. Одержані результати, очевидно, викликані зростанням активності фосфоліпази A_2 [27], підтвердженням цього є накопичення лізофосфатидилхоліну. З іншого боку зниження вмісту фосфатидилхоліну може бути обумовлено інтенсифікацією його використання у синтезі сфінгомієліну [32], вміст якого зріс в коропа у 1,27 і 1,72 раза, в щуки – у 1,91 раза.

Зростання вмісту ФЕА у гепатопанкреасі коропа та щуки, відповідно, у 1,15, 1,33 та 1,48 раза ($p < 0,05$), очевидно, є наслідком інгібування йонами Cd^{2+} перетворення ФЕА у ФХ шляхом його метилювання [9].

Зміни вмісту фосфатидилсерину є видоспецифічними. Так, достовірне збільшення вмісту цього фосфоліпиду у 1,66 раза в гепатопанкреасі коропа щуки за дії $0,02 \text{ мг/дм}^3$ металу, очевидно, є результатом гальмування перетворення ФС \rightarrow ФЕА за участю фосфатидилсериндекарбоксилази [33]. За впливу $0,005 \text{ мг/дм}^3$ кадмію в коропа та за дії $0,02 \text{ мг/дм}^3$ в щуки, спостерігається зниження вмісту ФС, відповідно, у 1,34 і 2,51 раза, що, ймовірно, є результатом інтенсифікації декарбоксилювання цього фосфоліпиду.

Достовірне зниження ФІ у досліджуваних тканинах риб можна пояснити зростання активності фосфоліпаз [27, 28].

Оцінку біологічних змін фосфоліпідного спектру здійснили на основі коефіцієнтів відношення вмісту фракцій досліджених фосфоліпідів (рис. 6.).

Зміни цього співвідношення у мітохондріях гепатоцитів коропа та щуки носять концентраційно залежний і видоспецифічний характер. Так, у клітинах гепатопанкреасу щуки за дії $0,005 \text{ мг/дм}^3$ йонів кадмію спостерігається достовірне зростання співвідношення $[ФХ/(ФЕА+ФС+ФІ)]$ у 1,82 раза. Це вказує на збільшення вмісту ліпідів зовнішнього шару мембрани, що сприяє її упорядкованості та зростанню регуляції мітохондріального метаболізму. Підтвердженням активації синтезу фосфатидилхоліну з його попередників є зростання співвідношень ФХ/ФС і ФЕА/ФС, відповідно, у 2,91 і 1,85 раза.

За дії обох досліджених концентрацій кадмію у коропа та у щуки, аклімованої до впливу сублетальної кількості Cd^{2+} , відмічається подібна спрямованість змін досліджуваних показників. При цьому спостерігається зниження співвідношення $[ФХ/(ФЕА+ФС+ФІ)]$, що обумовлено накопиченням фосфоліпідів внутрішнього шару мембран та гідролізом фосфотидилхоліну фосфоліпазою A_2 . Внаслідок таких змін фосфоліпідного профілю зростає мікрів'язкість біліпідного шару мембрани та знижується її проникність для йонів кадмію [30].

Достовірне збільшення показників співвідношення ФЕА/ФС у мітохондріях гепатопанкреасу коропа за впливу $0,005 \text{ мг/дм}^3$ Cd^{2+} та у щуки за впливу $0,02 \text{ мг/дм}^3$ токсиканту обумовлене активацією перетворення фосфатидилсерину у фосфатидилетаноламін, внаслідок його декарбоксилювання, у той же час зростання показника ФХ/ФС викликане значним зниженням концентрації ФС. Разом з тим за дії сублетальної концентрації металу у коропа спостерігаються достовірне зниження співвідношення ФХ/ФС і ФЕА/ФС, що вказує на інгібування йонами Cd^{2+} фосфатидилсериндекарбоксилази [25].

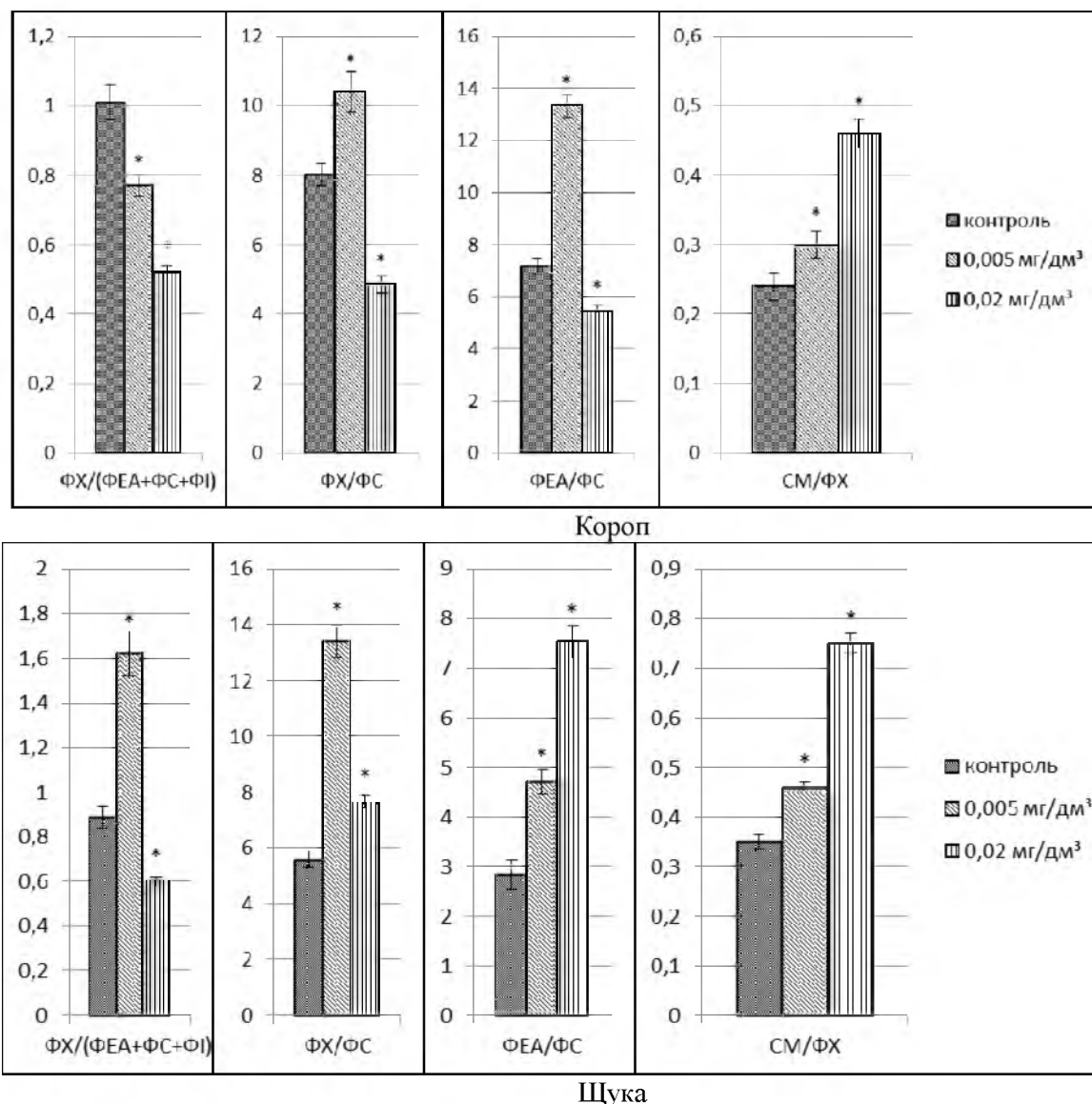


Рис. 6. Співвідношення фракцій фосфоліпідів в гепатоцитах риб за дії йонів кадмію ($M \pm m, n=5$)

Зростання співвідношення СМ/ФХ за дії підвищених концентрацій токсиканту у мембранах мітохондрій обох досліджуваних тканин риб вказує на інтенсифікацію синтезу СМ, очевидно, внаслідок перетворення ФХ за участю церамідхолінфосфотрансферази [39].

Висновки

Вплив $0,5 \text{ мг/дм}^3$ йонів Zn^{2+} у обох видів риб та дія низьких концентрацій йонів Cd^{2+} у щуки активує синтез ФХ. Ці зміни свідчать про зниження мікрров'язкості мембрани, що, ймовірно, обумовлено збільшенням ролі фосфоліпідів у регуляції проникності мембрани для йонів металів. Дія обох досліджуваних концентрацій кадмію та вплив 2 мг/дм^3 йонів цинку викликала зростання кількості ФЕА, ЛФХ і СМ та зменшення вмісту ФХ і ФІ. Зниження вмісту ФХ і ФІ з паралельним накопиченням ЛФХ вказує на активацію лізосомальної фосфоліпази A_2 і фосфоліпази С, тобто, деструкцію ліпідного шару мембран мітохондрій. Адаптивною відповіддю на такі зміни можна вважати накопичення СМ і ФЕА, що сприяє збільшенню щільності ліпідного бішару та, відповідно, зниженню його проникності. Незважаючи на адаптивну роль ФЕА, значне його накопичення, з одночасним гідролізом ФХ, сприяє можливій його появі на зовнішньому шарі мембран мітохондрій, внаслідок чого спостерігається зростання її проникності, що може бути однією з причин накопичення йонів Cd^{2+} і Zn^{2+} за дії їх високих концентрацій.

Отже, дія підвищених концентрацій йонів цинку і кадмію у воді викликає структурно-функціональні перебудови фосфоліпідного складу мітохондрій клітин гепатопанкреасу коропа та щуки. Такі зміни обумовлені як безпосереднім впливом металів на їх метаболізм, так і мобілізацією пулу відповідних фосфоліпідів з метою структурних перебудов ліпідного бішару в напрямку протидії впливу токсичного чинника.

1. *Аналіз гідрохімічних показників малих річок Західного Поділля.* / [В.Я. Бияк, Б.З. Ляврін, В.О. Хоменчук, В.З. Курант] // Наукові записки ТНПУ ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. — 2010. — № 4 (44). — С. 115—122.
2. *Васьковский В.Е.* Липиды / В.Е. Васьковский // Соросовский образовательный журн. — 1997. — № 3. — С. 27—32.
3. *Климов А.Н.* Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Часть 1. / А.Н. Климов — С. Пб.: Питер, 1999 — С. 55—56.
4. *Финагина О.Л.* Холестерин и биологические мембраны / О.Л. Финагина, Н.В. Печенова — М.: Мир, 1991. — 134 с.
5. *Хочачка П.* Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро — М.: Мир, 1988. — 568 с.
6. *Adiele R.C.* Reciprocal enhancement of uptake and toxicity of cadmium and calcium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver mitochondria / R.C. Adiele, D. Stevens, C. Kamunde // Aquatic Toxicology. — 2010. — Vol. 96. — P. 319—327.
7. *Amaguchi M.* Role of zinc as an activator of mitochondrial function in rat liver / M. Amaguchi, M. Ura, S. Okada // Biochem. Pharmac. — 1982. — Vol. 31, № 7. — P. 1289—1293.
8. *Baranska J.* Biosynthesis and transport of phosphatidylserine in the cell / J. Baranska // Adv. Lipids Rev. — 1988. — Vol. 19, № 1 — P. 163—184.
9. *Belyaeva E.A.* Mechanism of primary Cd²⁺-induced rat liver mitochondria dysfunction: discrete modes of Cd²⁺ action on calcium and thiol-dependent domains / E.A. Belyaeva, S.M. Korotkov // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2003. — Vol. 192. — P. 56—68.
10. **Cadmium** directly induced the opening of membrane permeability pore of mitochondria which possibly involved in cadmium-triggered apoptosis / [M. Li, T. Xia, C.S. Jiang et al.] // Toxicology. — 2003. — Vol. 194. — P. 19—33.
11. **Cadmium** toxicity in animal cells by interference with essential metals / [A. Martelli, E. Rousselet, C. Dycke et al.] // Biochim. — 2006. — Vol. 88. — P. 1807—1814.
12. **Contamination** of fish from different areas of the river Seine (France) by organic (PCB and pesticides) and metallic (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) micropollutants / [M. Chevreuil, A.M. Carru, A. Chesterikoff et al.] // Sci Total Environ. — 1995. — Vol. 162. — P. 31—42.
13. **Differential** potentiation of arachidonic acid release by rat A₂ adrenergic receptor subtypes. / [F. Audubert, E. Klapisz, M. Berguerand et al.] // Biochim. Biophys. Acta. — 1999. — Vol. 1437. — P. 265—276.
14. **Effects** of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs / [J.C. McGeer, C. Szebedinszky, D.G. McDonald, C.M. Wood] // Aquat. Toxicol. — 2000. — Vol. 50, № 3. — P. 231-243.
15. **Hagar A.F.** Changes in desaturase and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissue of thermally acclimating rainbow trout / A.F. Hagar, J.R. Hazel // J. Comp. Physiol. — 1985. — Vol. 156B, № 1. — P. 35—42.
16. **Huang E.P.** Metal ions and synaptic transmission: Think zinc / E.P. Huang // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94. — P. 13386—13387.
17. **Kharbanda K.K.** Role of transmethylation reactions in alcoholic liver disease / K.K. Kharbanda // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, № 37. — P. 4947—4954.
18. **Kodaki T.** Phosphatidylethanolamine methylation pathway / T. Kodaki, S. Yamashita // J. Biol. Chem. — 1987. — Vol. 262. — P. 15428—15435.
19. **Leslie J.M.** Phospholipid composition of gold fish (*Carassius auratus* L.) liver and brain and temperature-dependence of phosphatidylcholine synthesis / J.M. Leslie, J.T. Buckley // Comp. Biochem. Physiol. — 1986. — Vol. 53B, № 3. — P. 335—337.
20. **Li M.** Apoptosis induced by cadmium in human lymphoma U937 cells through Ca²⁺-calpain and caspase-mitochondria-dependent pathways. / M. Li, T. Kondo, Q.-L. Zhao // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275. — P. 39702—39709.
21. **Lindahl M.** Zinc (Zn²⁺) binds to and stimulates the activity of group I but not group II phospholipase A₂ / M. Lindahl, Ch. Tagesson // Inflammation. — 1996. — Vol. 20. — P. 599—611.
22. **Mahadevappa V.G.** The molecular species composition of individual diacylphospholipids in human platelets / V.G. Mahadevappa, B.J. Holub // Biochim. Biophys. Acta. — 1982. — Vol. 713. — P. 73—79.

23. **Mechanism** of cadmium-induced cytotoxicity in rat hepatocytes: cadmium-induced active oxygen-related permeability changes of the plasma membrane / [T. Koizumi, H. Shirakura, H. Kumagai et al.] // *Toxicology*. — 1996. — Vol. 114. — P. 125—134.
24. **Panfoli I.** Effects of heavy metals on phospholipase C in gill and digestive gland of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. / I. Panfoli, B. Burlando, A. Viarengo // *Comparative Biochem. and Physiol.* — 2000. — Vol. 127, Part B. — P. 391—397.
25. **Sargent J.R.** Metabolism of mevalonic acid in the liver of the dogfish *Scyliorhinus caniculus* / J.R. Sargent, I.P. Williamson, J.B. Towse // *Biochem. J.* — 1998. — Vol. 117, № 2. — P. 24—26.
26. **Satarug S.** A global perspective on cadmium pollution and toxicity in nonoccupationally exposed population. / S. Satarug, J.R. Baker, S. Urbenjapol // *Toxicol. Lett.* — 2003. — Vol. 137. — P. 65—83.
27. **Sphingosine-1-phosphate** stimulates cell migration through a Gi-coupled cell surface receptor / [F. Wang, J.R. VanBrooklyn, J.P. Hobson et al.] // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 35343—35350.
28. **The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*** / [Eds. V.S. Kennedy, R.I.E. Newell, A.F. Eble] // *A Maryland Sea Grant Book, College Park, Maryland.*, 1996. — P. 234—246.
29. **The role** of endogenous phosphatidylcholine and ceramide in the biosynthesis of sphingomyelin in mouse fibroblasts / [W.D. Marggraf, R. Zertani, F.A. Anderer, J.N. Kanfer] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1982. — Vol. 710. — P. 314—323.
30. **Vallee B.L.** The biochemical basis of zinc physiology / B.L. Vallee, K. H. Falchuk // *Physiol. Rev.* — 1993. — Vol. 73. — P. 79—118.
31. **Vance D.E.** Phospholipid biosynthesis in eukaryotes / D.E. Vance, J.E. Vance // *In Biochem. of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* — 2002. — Vol. 36. — P. 205—232.
32. **Vaskovsky V.E.** A universal reagent for phospholipids analysis / V.E. Vaskovsky, E.V. Kastetsky, I.M. Vasedin // *J. Chromatogr.* — 1985. — Vol. 114. — P. 129—141.
33. **Voelker D.R.** Phosphatidylserine function as the major precursor of Phosphatidylethanolamine in cultured BHK-21 Cells / D.R. Voelker // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1984. — Vol. 31. — P. 2669—2673.

Ю.И. Сенік, Б.З. Ляврин, І.Ю. Найко, О.Б. Остапюк, Д.В. Гайдук, В.Я. Бияк, В.А. Хоменчук, В.З. Курант

Тернопольський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
 ЧВУЗ "Буковинський університет"

ФОСФОЛИПІДНИЙ СОСТАВ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ГЕПАТОПАНКРЕАСА РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ Zn^{2+} И Cd^{2+}

Исследовано влияние Zn^{2+} (0,5 и 2 мг/дм³) и Cd^{2+} (0,005 и 0,02 мг/дм³) на липидный состав митохондрий клеток гепатопанкреаса карпа (*Cyprinus carpio* L.) и щуки (*Esox lucius* L.). Установлено, что действие повышенных концентраций ионов металлов вызывает структурно-функциональные изменения фосфолипидного состава митохондрий исследуемых рыб.

Влияние 0,5 мг/дм³ ионов Zn^{2+} в обоих видов рыб и воздействие низких концентраций ионов Cd^{2+} у щуки активировал синтез ФХ, что свидетельствует о снижении плотности мембраны, что, вероятно, обусловлено увеличением роли фосфолипидов в регуляции проницаемости мембраны для ионов металлов.

Действие кадмия ионов в обеих исследуемых концентраций и влияние ионов цинка 2 мг/дм³ увеличивает количество ФЭА, ЛФХ и СМ и уменьшает содержания ФХ и ФИ. Снижение содержания ФХ и ФИ с параллельным накоплением ЛФХ указывает на активацию лизосомальных фосфолипаз, то есть, деструкцию липидного слоя мембран митохондрий. Адаптивным ответом на такие изменения можно считать накопление СМ и ФЭА, что способствует увеличению плотности липидного бислоя и, соответственно, снижению его проницаемости. Несмотря на адаптивную роль ФЭА, значительное накопление с одновременным гидролизом ФХ способствует возможному его появлению на внешнем слое мембран митохондрий, в результате чего наблюдается рост ее проницаемости. Это может быть одной из причин накопления ионов Cd^{2+} и Zn^{2+} при их высоких концентрациях.

Ключевые слова: щука, карп, цинк, кадмий, печень, митохондрии, мембраны, фосфолипиды

Yu.I. Senyk, B.Z. Lavrin, I.Yu. Nayko, O.B. Ostapyuk, D.V. Hayduk, V.Ya Byyak, V.O. Khomenchuk, V.Z. Kurant

Ternopil V. Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

Bukovina University, Chernivtsi, Ukraine

THE PHOSPHOLIPID MITOCHONDRIA COMPOSITION OF FISH LIVER IN ACTION IONS Zn^{2+} AND Cd^{2+}

The influence Zn^{2+} (0.5 mg/dm^3 and 2 mg/dm^3) and Cd^{2+} (0.005 mg/dm^3 and 0.02 mg/dm^3) on the lipid composition of the mitochondria of cells hepatopancreas of carp (*Cyprinus carpio* L.) and pike (*Esox lucius* L.). Found that the effect of elevated concentrations of metals causes structural and functional changes in mitochondrial phospholipid composition of the studied fish.

The effect of 0.5 mg/dm^3 Zn^{2+} ions in both species and effect of low concentrations of Cd^{2+} ions in the synthesis of PC of pike activated, such changes in the content of phospholipid show a decrease micro viscosity of the membrane, which is probably due to the increasing role of phospholipids in the regulation of membrane permeability for ions of metals. Accumulation of PI due to the need to increase the regulation of mitochondrial metabolism, which is undergoing a modulating effect of zinc ions.

The action of the two studied concentrations of cadmium and the effect of 2 mg/dm^3 of zinc ions caused a growing number of PEA, LPH and SM and reduction of PC and PI. Decreasing the amount of PC and PI with parallel accumulation LPC indicates the activation of lysosomal phospholipase A_2 and phospholipase C, the destruction of the lipid layer membranes of mitochondria, adaptive response to these changes can be regarded as the accumulation of SM and PEA, which increases the density of the lipid bilayer and thus reduce its permeability.

Although the role of adaptive PEA, its significant savings while hydrolysis PC promotes its possible appearance on the outer layer of the membranes of mitochondria, resulting in an increase in its permeability, which may be one reason for the accumulation of ions Cd^{2+} and Zn^{2+} on their exposure to high concentrations.

Keywords: pike, carp, zinc, cadmium, liver, mitochondria, membranes, phospholipids

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 23.08.2013

УДК 577.155.1

А.В. ЮКАЛО

Тернопільський національний технічний університет ім. Івана Пулюя

вул. Руська, 56, Тернопіль, 46001

ВИДІЛЕННЯ І ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕЇНОВОГО СКЛАДУ НАТИВНИХ КАЗЕЇНОВИХ МІЦЕЛ

Нативні казеїнові міцели було виділено в результаті повторного розшарування системи «вода – протеїни молока – полісахарид». В результаті хроматографічних і електрофоретичних досліджень показано, що виділені міцели є подібними до міцел із знежиреного молока за значенням молекулярних мас і фракційним складом протеїнів.

Ключові слова: казеїн, нативні міцели, хроматографія, електрофорез

Питання будови нативних казеїнових міцел до сьогоднішнього дня залишається відкритим. Не встановлені деталі їх структури. Як і тридцять років тому існує декілька точок зору на принципи будови казеїнових міцел [5]. Відсутнє чітке пояснення багатofракційності казеїнів [3]. Їх відомі функції не потребують такого різноманіття протеїнів казеїнового комплексу.