

УДК 547.915: 639.215.2

Ю.І. СЕНИК¹, В.О. ХОМЕНЧУК¹, Б.З. ЛЯВРІН¹, Н.М. ГЛОВИН², В.З. КУРАНТ¹¹Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027²ВСП Національного університету біоресурсів і природокористування «Бережанський агротехнічний інститут»
вул. Академічна, 20, Бережани, Тернопільська область, 47501

ЛІПІДНИЙ СКЛАД ДЕЯКИХ ТКАНИН КОРОПА ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ

Досліджено ліпідний склад печінки та зябер коропа за дії підвищених концентрацій іонів кадмію. Встановлено зростання кількості триацилгліцеролів, неетерифікованих жирних кислот, холестеролу та зниження вмісту фосфоліпідів в тканинах риб дослідних груп.

Ключові слова: короп, печінка, зябра, ліпіди, кадмій

Зростання надходження важких металів у довкілля із антропогенних джерел та унаслідок порушення циклів колообігу мінеральних елементів призвело до збільшення їх вмісту в середовищі існування та у самих організмах, що веде до зниження продуктивності екосистем та становить потенціальну небезпеку для людини [11].

Функціонально сполуки металів, входячи до складу живого, визначають його фізіологічні функції та є регуляторами багатьох біохімічних процесів [8]. Роль металів подвійна: з одного боку в низьких концентраціях вони необхідні для нормального протікання фізіолого-біохімічних процесів, а з іншого - токсичні при їх підвищеному вмісті. Тому нормальне функціонування організму визначається наявністю у клітинах оптимальної кількості металів та формою їх знаходження в організмі.

Надмірне надходження іонів важких металів в клітину модифікує всі ланки метаболізму, включно і ліпідний обмін. Тому, становить інтерес дослідження впливу важких металів, на прикладі іонів кадмію на вміст та співвідношення ліпідів у тканинах риб.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus caprio L.*) з середньою масою 300-350 г. Риб утримували в акваріумах об'ємом 200 л з відстояною водопровідною водою та стандартним гідрохімічним режимом (вміст O_2 складав $7,5 \pm 0,5$ мг/дм³; CO_2 – $2,5 \pm 0,3$ мг/дм³; рН – $7,8 \pm 0,1$).

Досліджували ліпідний склад печінки та зябер риб за дії іонів кадмію в концентраціях, що відповідали 0,5 та 2,0 рибгосподарським ГДК ($0,005$ мг/дм³ та $0,02$ мг/дм³ Cd^{2+} відповідно) [1]. Необхідні концентрації іонів кадмію у воді створювали внесенням солі $CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$ кваліфікації “х.ч.”.

Риб під час аклімації не годували. Період аклімації у риб у токсичних умовах становив 14 діб, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-фактору [10].

Для біохімічного дослідження вмісту ліпідів та їх окремих класів були використані зразки печінки та зябер коропа. Тканину подрібнювали на холоді в скляних гомогенізаторах з наступним екстрагуванням загальних ліпідів з тканини хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2:1 за методом Фолча [14]. 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 [9]. Кількість загальних ліпідів у тканині визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [4].

Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках “Silufol UV-154” [5]. Перед роботою пластинки активували 30 хв. при температурі 105^0 С 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 повільно поміщали їх в хроматографічні камери. Рухомою фазою служила суміш гексану, диетилового ефіру і

льодяної оцтової кислоти у відношенні 70:30:1 [9]. Одержані хроматограми проявляли в камері, насиченій парами йоду. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти [4].

Кількість неполярних ліпідів визначали біхроматним методом [9]. Вміст фосфоліпідів у тканинах визначали за кількістю неорганічного фосфору за методом Васьковського [16]. Всі одержані дані оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз отриманих даних свідчить про значні зміни вмісту загальних ліпідів у печінці та незначні коливання їх кількості у зябрах риб за дії підвищених концентрацій іонів кадмію у воді. Так, за дії 0,5 ГДК Cd^{2+} вміст загальних ліпідів у печінці зростав у 1,8 раза, а за дії 2 ГДК - зменшувався у 1,3 раза. Загальна кількість ліпідів у зябрах риб зростала як за дії допорогових, так і сублетальних концентрацій іонів кадмію – у 1,3 та у 1,1 раза відповідно (рис. 1).

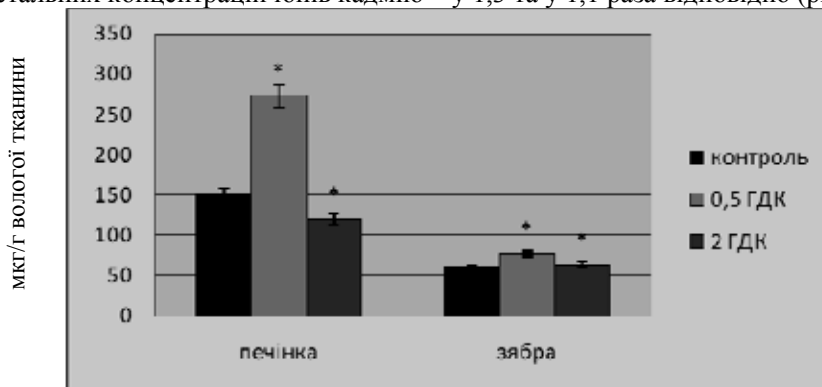


Рис. 1. Загальний вміст ліпідів у печінці та зябрах риб за дії іонів кадмію

Примітка. * – $p < 0,05$ за t-критерієм Стьюдента (по відношенню до контролю)

Збільшення кількості загальних ліпідів свідчить про активацію анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії або ж про їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму і структурних компонентах клітини. З іншого боку, кадмій не є біоелементом і здійснює стресорний вплив на гідробіонтів [7]. Його дія призводить до формування в клітинах катаболічного стрес-синдрому, який полягає в деградації клітинних структур, насамперед білків, які використовуються на енергетичні потреби при адаптаціях [10]. Компенсаторною реакцією на розпад мембранних білків є зростання кількості ліпідних компонентів мембрани, які сприяють не лише відновленню нормального функціонування мембрани, а й її ущільненню. Зменшення загальної кількості ліпідів у печінці за дії 2 ГДК токсиканту можна пояснити активацією ліпаз, а також зростанням провідної ролі ліпідів у енергетичному забезпеченні організму [13].

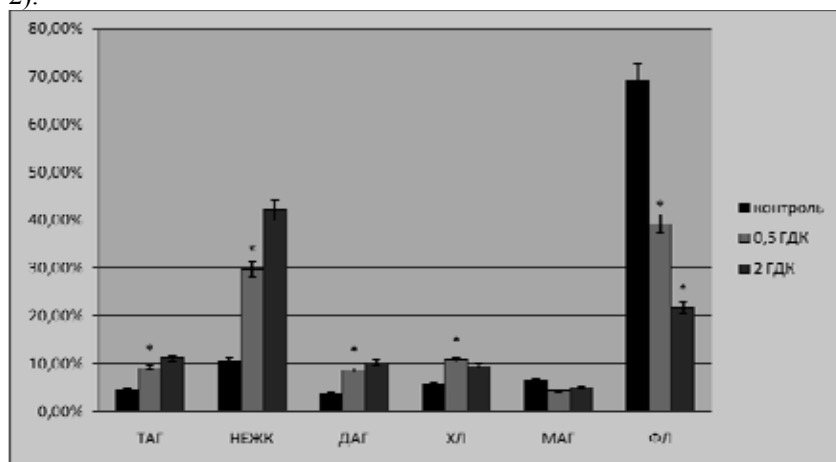
У зв'язку з виявленими закономірностями виникає необхідність встановлення змін щодо співвідношення кількості основних класів ліпідів. Стійкість мембран, пристосованих до несприятливих чинників, пов'язують з якісними і кількісними змінами у їх складі триацилгліцеролів (ТАГ), диацилгліцеролів (ДАГ), неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК), холестеролу (ХЛ), моноацилгліцеролів (МАГ) та фосфоліпідів (ФЛ) [3]

В експерименті виявлено зростання вмісту ТАГ в дослідних риб відносно контролю (рис. 2, 3). Так, за дії 0,5 ГДК іонів Cd^{2+} кількість ТАГ у печінці зростає у 1,9 раза, а в зябрах - у 2,3 раза, а за дії 2 ГДК токсиканту цей показник, як у печінки, так і в зябрах, зростає у 2,3 раза. Відомо, що ТАГ є одним із з чинників стабілізації мембран, і у стресових умовах вони є попередниками утворення ДАГ і НЕЖК [15].

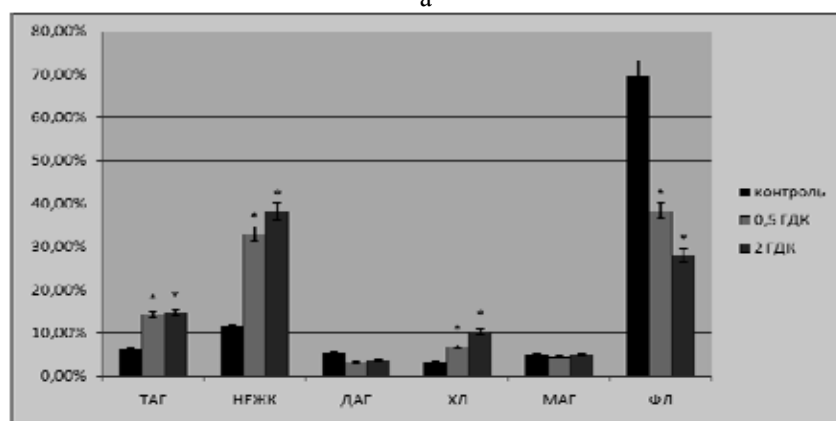
Накопичення ТАГ є типовою реакцією на дію токсикантів, бо можна припустити єдиний механізм участі ТАГ у стабілізації мембран при токсичній дії, оскільки збільшення вмісту їх співвідноситься з ущільненням і зменшенням плинності мембран [3], що свідчить про їх участь у формуванні бар'єрів, що перешкоджають проникненню токсиканту у клітину.

БІОХІМІЯ

Як відомо, за стресового впливу на мембрани активуються ліпази та фосфоліпази [6], тому поряд із зростанням рівня ТАГ спостерігається збільшення вмісту у мембранах ДАГ і НЕЖК (рис. 2).



а



б

Рис. 2. Вміст індивідуальних ліпідів (в % від загальної кількості ліпідів); а – печінка, б – зябра

Примітка. * – $p < 0,05$ за t -критерієм Стьюдента (по відношенню до контролю)

Збільшення кількості неполярних ліпідів при дії допорогових кількостей іонів кадмію, насамперед, пов'язане із зміною кількості неетерифікованих жирних кислот. Встановлено, що за дії 0,5 ГДК кадмію, у печінці цей показник зростає у 4,9 раза, а у зябрах – у 3,7 раза. Збільшення кількості неетерифікованих жирних кислот спостерігається у досліджуваних тканинах риб за дії 2 ГДК токсиканту. При зменшенні загальної кількості ліпідів у печінці за дії сублетальної концентрації іонів Cd^{2+} , вміст неетерифікованих жирних кислот у 3,2 раза перевищує показник в контрольній, а для зябер - у 3,4 раза.

Зміна загального вмісту неетерифікованих 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 неетерифікованих жирних кислот свідчить про формування катаболічного стрес-синдрому в умовах інтоксикації.

Дія іонів кадмію призводила до суттєвих змін у кількості холестеролу в зябрах та печінці риб. Так, при 0,5 ГДК токсиканту вміст холестеролу зростає у 2,1 раза, тоді як при 2 ГДК – у 3,2 раза. Для мембран гепатоцитів пряма залежність між кількістю іонів кадмію у воді та вмістом холестеролу не прослідковується. При допороговій концентрації токсиканту вміст холестеролу зростає у 1,8 раза, а при 2 ГДК – у 1,6 раза щодо контролю.

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 [12] та систем пасивного транспорту [13], а також механічну щільність бішару мембран. Збільшення кількості холестеролу, що спостерігали при дії іонів кадмію, як правило, супроводжується зменшенням розрідженості клітинних ліпідів та їх вибіркової проникності, зниженням катіонної проникності мембрани, інгібуванням більшості ліполітичних ферментів. Інгібує синтез холестеролу, ймовірно, обумовлений його конкуренцією з анулярними ліпідами за місця зв'язування на поверхні білкових молекул.[6]

Кількості фосфоліпідів у досліджуваних тканинах риб за 0,5 ГДК іонів кадмію знижувалася як у печінці, так і зябрах – в 1,8 раза. При аклімації до 2 ГДК іонів кадмію спостерігається зниження кількості фосфоліпідів печінки у 3,2 раз, а зябер – у 2,5 раза. Очевидно, кадмій пригнічує синтез ліпідів у печінці та зябрах коропа, викликає зміну активності ліполітичних ферментів. За інтоксикації іонами кадмію активніше функціонують метаболічні системи, які використовують ліпіди в субстратному забезпеченні енергетичних процесів організму риб [10].

Інформативним функціональним показником стану мембрани є відношення холестерол/фосфоліпіди [2]. Молярне відношення холестеролу до фосфоліпідів, близьке до одиниці, зазвичай стале для багатьох біологічних мембран, проте при значних підвищеннях цього співвідношення холестерол перетворюється в кристалічну форму [13]. Слід зазначити, що від величини даного показника залежить щільність упаковки ліпідних молекул в мембрані, її плинність і фазовий стан: збільшення його значення призводить до збільшення щільності та мікрор'язкості плазматичної мембрани і, відповідно, до зменшення її плинності і проникності. Коефіцієнт холестерол/фосфоліпіди для мембран гепатоцитів зростає у 1,3 рази за дії 0,5 ГДК та в 1,5 рази при сублетальній інтоксикації (рис. 3). Можна стверджувати пропорційну залежність між коефіцієнтом холестерол/фосфоліпіди та кількістю токсиканту. Аналогічна тенденція прослідковується і для мембран клітин зябер – при 0,5 ГДК іонів кадмію коефіцієнт холестерол/фосфоліпіди зростає, порівняно з контролем, у 1,3 рази, при 2 ГДК полютанту – у 1,5 рази.

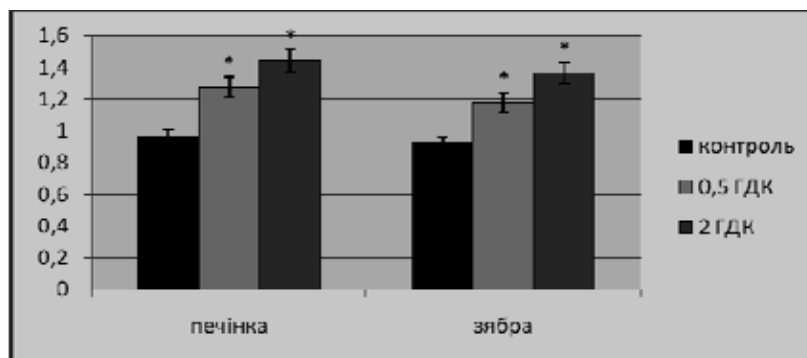


Рис. 3 Вплив іонів кадмію на співвідношення холестерол/фосфоліпіди в тканинах коропа

Примітка. * – $p < 0,05$ за t -критерієм Стьюдента (по відношенню до контролю)

В загальному можна відмітити ймовірне зростання щільності біомембран клітин печінки та зябер за інтоксикації іонами кадмію.

Висновки

Іони кадмію змінюють ліпідний синтез печінки та зябер коропа. Встановлено зростання кількості триацилгліцеролів, неетерифікованих жирних кислот, холестеролу та зниження вмісту фосфоліпідів в тканинах риб дослідних груп.

1. *Беспамятнов Г.П.* Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. Справочник / Г.П. Беспамятнов, Ю.А. Кротов. – Л.: Химия, 1985. – 304 с.
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, Вып. 1. – С. 3–5.

4. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. — М.: Мир, 1975. — 322 с.
5. Копытов Ю.П. Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов/ Ю.П. Копытов // Экология моря. — 1983. — Вып. 12. — С. 76-80.
6. Мецлер Д. Биохимия : Химическая реакция в живой клетке / Д. Мецлер. — М. : Мир, 1990. — Т. 2. — 608 с.
7. Мур Дж. Тяжелые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния / Дж. Мур, С. Рамамурти. — М.: Мир, 1987. — 228 с.
8. Ноздрюхина Л.Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / Л.Р. Ноздрюхина. — М.: Наука, 1977. — 184 с.
9. Прохорова М.И. Методы биохимического исследования / М.И. Прохорова. — Л.: Изд.ЛГУ. — 1982. — 222 с.
10. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов/ В. В. Хлебович.-Л.: Наука, 1981.—135с.
11. Eichenberger E. The interrelation between essentiality and toxicity of metals in the aquatic ecosystem / E. Eichenberger // Metal ions in biological systems. — New-York and Basel, 1982. — Vol. 20. — P.67-100.
12. Freedman R.B. Membrane – bound enzymes // Membrane structures /Ed. J. Finean, P.Michele. — North. — Holland Biomed. Press, 1991. — P. 161 – 214.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.

Ю.И. Сенюк¹, В.А. Хоменчук¹, Б.З. Ляврин¹, Н.М. Гловин², В.З. Курант¹

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина

²ОСП Национального университета биоресурсов и природопользования «Бережанский агротехнический институт», Украина

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ НЕКОТОРЫХ ТКАНЕЙ КАРПА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ

Исследовано липидный состав печени и жабр карпа при действии повышенных концентраций ионов кадмия. Установлено увеличение количества триацилглицеролов, неэтерифицированных жирных кислот, холестерина и снижение содержания фосфолипидов в тканях рыб опытных групп.

Ключевые слова: карп, печень, жабры, липиды, кадмий

Yu.I. Senyuk¹, V.O. Khomenchuk¹, B.Z. Lyavrin¹, N.M. Glovyn², V.Z. Kurant²

¹Ternopil V. Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

²Separate structural subdivision of the National university of bioresources «Berezhani agrotechnical institute», Ukraine

LIPID COMPOSITION OF SOME TISSUES OF CARP UNDER ACTION OF CADMIUM IONS

Lipid composition of liver and gills of carp under action of elevated concentrations of cadmium ions was investigated. It is established the increasing of amount of triacylglycerol, unesterified fatty acids, cholesterol and the decreasing of content of phospholipids in tissues of experimental groups of fish.

Keywords: carp, liver, gills, lipids, cadmium

Рекомендує до друку

Надійшла 20.02.2011

В.В. Грубінко