

УДК 577.115 : 597.593

ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИН ЩУКИ ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ КОБАЛЬТУ

Марків В. С., Хоменчук В. О., Росовський Т. А., Курант В. З.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: markiv@chem-bio.com.ua

Фосфоліпіди (ФЛ) є широко поширеними і амфіпатичними функціональними сполуками, які відіграють життєво важливу роль у формуванні біологічних мембран та регуляції сигнальних шляхів у клітинах [7]. ФЛ найчастіше складаються з жирних кислот, приєднаних до молекул гліцерину і фосфатів, але вони можуть містити й інші замісники, що веде до створення різних видів ФЛ, необхідних для різних біологічних функцій [1]. Особливістю риб є те, що кількість ненасичених жирних кислот, а також відносна кількість подвійних зв'язків у їх клітинних мембранах значно вища, ніж у ссавців [8].

Ліпіди риб відіграють важливу роль у адаптації їх організму до токсичних рівнів металів, оскільки як складові компоненти біомембран вони забезпечують їх оптимальну плинність і проникність.

Серед важких металів кобальт є мікроелементом необхідним для наземних і водних організмів, оскільки він входить до складу вітаміну В₁₂ і виконує роль кофактора для багатьох ферментів, таких як дегідрогенази, дегідратази, гідратази, мутази і трансферази [4]. Проте, підвищений рівень кобальту може викликати низку токсичних ефектів, включаючи структурні та функціональні зміни біомембран. Негативно заряджені ліпіди є мішенями для зв'язування іонів Со²⁺, оскільки їхня взаємодія спричиняє ригідність мембран та агрегацію ліпосом [6].

Тому актуальними є дослідження впливу сублетальних концентрацій іонів кобальту на фракційний склад фосфоліпідів тканин прісноводних риб. Експеримент було проведено на дворічках щуки (*Esox Lucius L.*) із середньою масою 150-170 г. Досліджували вплив кобальту у двох концентраціях, які в

перерахунку на іони становили 0,1 та 0,25 мг/дм³. Метал у вигляді $\text{CoCl}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ вносили у воду акваріумів об'ємом 200 літрів, у яких розміщувалися досліджувані риби (по 5 особин в кожному). Вміст кисню у воді складав 7,0 – 8,0 мг/л, $\text{CO}_2 - 2,5 \pm 0,3$ мг/дм³; рН – $7,8 \pm 0,1$; загальна твердість – $6,8 \pm 0,1$ ммоль/л. Термін утримання щук у токсичних умовах тривав 14 діб, що є достатнім для розвитку адаптивної реакції на дію стрес-чинника.

Для дослідження вмісту ліпідів та окремих класів фосфоліпідів використовували зразки зябер, печінки та спинних м'язів риб. Тканини подрібнювали на холоді в скляних гомогенізаторах з наступним екстрагуванням загальних ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2:1 за методом Фолча [2].

Розділення полярних ліпідів здійснювали методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках «Merck», Німеччина. Рухомою фазою служила суміш розчинників хлороформ : метанол : льодяна оцтова кислота : вода у співвідношенні 60:30:7:3. Отримані хроматограми проявляли у камері, насиченій парами йоду. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти. Вміст фосфоліпідів у тканинах визначали за кількістю неорганічного фосфору за методом Васьковського [3]. Результати досліджень були статистично опрацьовані з використанням пакету Microsoft Office Excel та із використанням t-критерію Стьюдента.

Аналіз отриманих результатів показав, що найвища концентрація ліпідів у щуки спостерігалася у печінці. За впливу 0,1 мг/дм³ іонів кобальту вміст ліпідів у даній тканині збільшився на 7,3 %, проте зменшився на 5,2 % за впливу 0,25 мг/дм³ у порівнянні із контрольними значеннями.

У зябрах щуки за дії 0,1 мг/дм³ іонів Co^{2+} кількість ліпідів не призводила до достовірних змін, тоді як вплив 0,25 мг/дм³ металу сприяв їх зменшенню на 39,4 % відносно контролю. У м'язах за ефекту 0,1 мг/дм³ іонів кобальту сумарний вміст ліпідів підвищився на 10,4 %, а за дії 0,25 мг/дм³ - знизився на 27,8 %.

Збільшення загального вмісту ліпідів за впливу 0,1 мг/дм³ кобальту, ймовірно, свідчить про активацію анаболічних процесів, а також про їх використання в адаптивних перебудовах

метаболізму. Натомість, зниження їх кількості у всіх тканинах за дії $0,25 \text{ мг/дм}^3$, очевидно, обумовлено активацією іонами металу ліполізу та мобілізацією ліпідів як резервного джерела енергії.

Статистичний аналіз фракційного складу фосфоліпідів у печінці вказав на зниження кількості фосфатидилхоліну (ФХ) на 3,6 % і 15,8 % при $0,1 \text{ мг/дм}^3$ і $0,25 \text{ мг/дм}^3$ відповідно. У той час при обох дослідних концентраціях мало місце збільшення на 11,9 % і 15,2 % вмісту лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) та на 24,0 % і 58,6 % частки сфінгомієліну (СФМ). Одержані дані можуть бути обумовлені активацією іонами кобальту фосфоліпаз. За дії $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$ спостерігалось зниження фосфатидилетаноламіну (ФЕА) на 19,6 %, збільшення фосфатидилсерину (ФС) та фосфатидилінозитулу (ФІ) на 12,1 % і 21,4 % відповідно. За максимальної концентрації металу відбувалось підвищення ФЕА на 31,6 % та зниження ФС і ФІ на 31,3 % і 10,1 % відповідно. Зростання вмісту ФЕА, ймовірно, є наслідком інгібування іонами Co^{2+} перетворення його у ФХ та його синтезу із ФС за участю фосфатидилсериндекарбоксилази.

У зябрах щуки було відмічено підвищення кількості ЛФХ на 9,5 %, та зниження частки ФЕА на 11,3 % за концентрації $0,1 \text{ мг/дм}^3$ металу, тоді як при $0,25 \text{ мг/дм}^3$ спостерігалось незначне підвищення вмісту ФХ (на 7,3 %) та зниження – ЛФХ і СФМ на 18,3 % і 9,2 % щодо контролю відповідно. Під впливом обох дослідних концентрацій кобальту спостерігалось зниження кількості ФС на 27,6 % та 57,1 % відповідно.

У тканинах м'язів було відмічене достовірне зниження кількості ФХ на 17,3 % лише за концентрації $0,25 \text{ мг/дм}^3$ іонів Co^{2+} . Як і у печінці, збільшився вміст ЛФХ (на 35,6 % і 72,6 %) та СФМ (на 14,5 % і 22,3 %) при $0,1 \text{ мг/дм}^3$ і $0,25 \text{ мг/дм}^3$ відповідно. Кількість ФЕА зменшувалася при обох дослідних концентраціях на 31,0 % і 38,5 %. Вміст ФС знижувався на 17,9 % при $0,1 \text{ мг/дм}^3$ та збільшувався на 78,8 % за максимальної концентрації металу. Зниження кількості ФІ на 36,0 % і 32,3 % за обох дослідних концентраціях, ймовірно, обумовлене зростанням активності фосфоліпази A_2 , бо ФІ є неспецифічним субстратом цього ферменту та фосфоліпази С [5].

Виходячи з цих даних, слід констатувати те, що підвищені концентрації іонів кобальту у воді можуть впливати на

фосфоліпідний склад тканин шуки та модулювати ліпідний бішар тканинних біомембран, а отже, і змінювати їх функціональну активність, що призводить до зниження їх проникності для іонів металу.

Список літератури

1. Carmical J., Brown S. The impact of phospholipids and phospholipid removal on bioanalytical method performance. *Biomedical Chromatography*, 2016, 30(5), P. 710–720.
2. Folch J., Lees M., Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. 1957 Chem.* 226(1), P. 497–509.
3. Kates M. *Techniques of Lipidology: Isolation, Analysis and Identification of Lipids*. North-Holland Publishing Company, 1972, 342 p.
4. Kubrak O.I., Husak V.V., Rovenko B.M., Storey J.M., Storey K.B., Lushchak V.I. Cobalt-induced oxidative stress in brain, liver and kidney of goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 2011, 85(6), P.983–989.
5. Mahadevappa V.G., Holub B.J. The molecular species composition of individual diacyl phospholipids in human platelets. *Biochim. Biophys. Acta*. Vol. 713. 1982. P. 73-79.
6. Umbsaar J., Kerek E., Prenner E.J. Cobalt and nickel affect the fluidity of negatively-charged biomimetic membranes. *Chem. Phys. Lipids*. 2018, Vol. 210. P. 28-37.
7. Wang Z., Karrar E., Wang Y., Liu R., Chang M., Wang X. The bioactive of four dietary sources phospholipids on heavy metal-induced skeletal muscle injury in zebrafish: A comparison of phospholipid profiles. *Food Bioscience*, 2022, Vol. 47, 101630.
8. Zabelinskii S. A., Chebotareva M. A., Kostkin V. B., Krivchenko A. I. Phospholipids and their fatty acids in mitochondria, synaptosomes and myelin from the liver and brain of trout and rat: a new view on the role of fatty acids in membranes. *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, Vol. 124(2), P. 187–193.