

УДК 639.21:577.115

Б. З. ЛЯВРІН

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

МІЖВИДОВІ ВІДМІННОСТІ ВМІСТУ ТА СПІВВІДНОШЕННЯ ФРАКЦІЙ ФОСФОЛІПІДІВ ДЕЯКИХ ВИДІВ РИБ МАЛИХ РІЧОК ЗАХІДНОГО ПОДІЛЛЯ

Представлено результати дослідження фосфоліпідного складу тканин печінки найбільш поширених прісноводних видів риб малих річок Західного Поділля – коропа, карася, окуня, та щуки. Вивчені міжвидові відмінності у вмісті фосфоліпідів в тканинах досліджених видів риб. Виявлена різниця у співвідношенні фосфоліпідних класів в клітинах печінки риб взятих з різних малих річок. Розглянуто зміну фракційного складу фосфоліпідів як відповідь організму на дію факторів навколишнього середовища, що може бути використано для біомоніторингу водних екосистем.

Ключові слова: ліпіди, риби, малі річки, Західне Поділля

Антропогенний вплив на навколишнє середовище в наш час став вирішальним фактором його екологічного стану. Водне середовище з гідробіонтами, що там проживають, зазнає чи не найбільшого тиску збоку забруднюючих факторів. 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 шляхів ліпідного метаболізму, що засвідчує велике екологічне значення окремих сторін ліпідного обміну у гідробіонтів, особливо риб [2, 3, 11].

Відомо, що відповідь організму на дію токсиканту є результатом взаємодії двох процесів: пошкодження (деструкція) та захисту (компенсаторна адаптація) [5]. Їх співвідношення визначає рівень токсичності водного середовища щодо риб.

Будучи одним 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 [7].

Автор [8] встановив, 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.

Саме тому особливий інтерес викликає вивчення особливостей обміну та вмісту індивідуальних класів нейтральних ліпідів в тканинах печінки деяких прісноводних видів риб.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами дослідження були короп лускатий – *Cyprinus carpio* L., щука звичайна – *Esox lucius* L., карась сріблястий – *Carassius gibelio* Bloch, та окунь звичайний – *Perca fluviatilis* L. масою 290–330 г, 200–350 г, 150–230 г, та 170–230 г. відповідно. Для дослідження риб відбирали з річок Серет, Стрипа та Золота Липа безпосередньо перед експериментом, в осінній період. Для біохімічного дослідження вмісту ліпідів та їх окремих класів були використані зразки печінки. Тканину подрібнювали на холоді в скляних гомогенізаторах з наступним екстрагуванням загальних ліпідів з тканини хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2:1 за методом Фолча [3]. 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%-ним розчином KCl [4].

Розділення фосфоліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках “Sorbfil”. Перед роботою пластинки активували 30 хв при температурі 105⁰ С в сушильній шафі, обробляли 10% спиртовим розчином фосфорномолібденового реактиву і висушували в струмені теплого повітря протягом 10-15 хв.

Для визначення фракцій фосфоліпідів пластинки елюювали у суміші хлороформ-метанол-льодяна оцтова кислота-дистильована вода у співвідношенні 60:30:7:3. Одержані хроматограми проявляли в камері, насиченій парами йоду, для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти [1]. Виявлено такі фракції: лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилхолін (ФХ), сфінгомієлін (СМ) та фосфатидилінозитол (ФІ).

Кількість фосфоліпідів визначали за методом Васьковського [12]. Мінералізацію фосфоліпідів проводили при температурі 180°C, при додаванні концентрованої хлорної кислоти. Вміст фосфатів визначали спектрофотометрично [6].

Результати досліджень були статистично опрацьовані з використанням стандартного пакету програм Microsoft Office 2013, та t-критерію Стьюдента для визначення достовірної різниці ($p < 0,05$).

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив токсикантів збоку оточуючого середовища на вміст фосфоліпідів та їх окремих фракцій має двонаправлений характер. Так незначні кількості забрудників, що не наближаються до половини їх ГДК прослідковується активація синтезу фосфоліпідів, тоді як дія токсикантів у кількості близькій до їх ГДК індукує їх деструкцію.

Як видно із результатів дослідження вміст різних фракцій фосфоліпідів у клітинах печінки різних видів риб відрізняється. Так, вміст фосфатидилхоліну достовірно відрізняється у щуки та окуня порівняно із коропом. Такі відмінності можуть бути пов'язані із більшою активністю даних видів риб та хижим способом живлення, а відповідно і меншим токсичним навантаженням. Достовірно нижчий вміст даного типу фосфоліпідів на фоні збільшеного вмісту сфінгомієліну у карася вказує на активацію процесу перетворення ФХ у СМ за участю церамідхолінфосфотрансферази [10]. Такі зміни сприяють ущільненню мембрани та, відповідно, зменшенню її проникності для йонів металів [9].

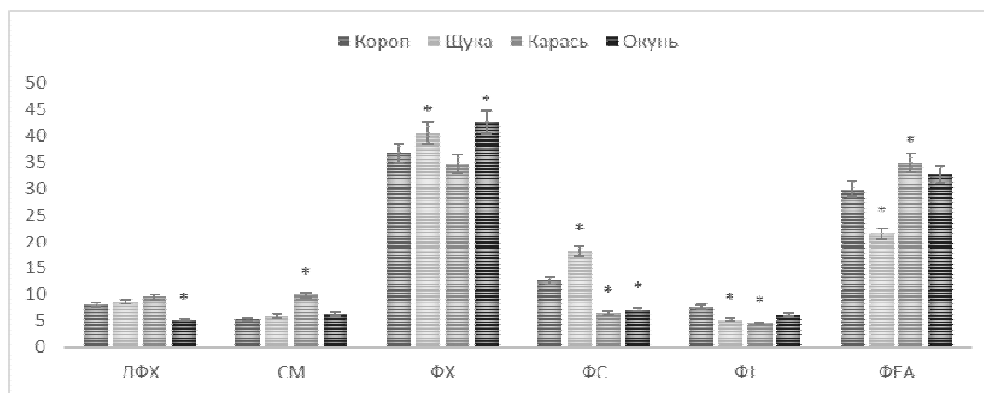


Рис 1. Вміст фракцій фосфоліпідів в клітинах печінки досліджених риб ($M \pm m$, $n=5$). * - різниця відносно показників коропа достовірна ($p < 0,05$)

Достовірна різниця вмісту фосфатидилетаноламіну у досліджених видів риб ймовірно пояснюється різною швидкістю утворення ФХ із ФЕА, а також відновлення вмісту ФЕА з ФС.

Різний вміст ФЕА можна розглядати як один з механізмів адаптації клітин риб до дії токсикантів середовища існування, бо відомо, що накопичення цього ліпиду веде до ущільнення мембрани та зниженню її проникності [9].

Функціональний стан клітинних мембран є відображенням загального функціонального стану організму в цілому, тому оцінка біологічного стану клітинних мембран є важливим діагностичним фактором не тільки загального стану організму риб, а і стану середовища їх існування.

Оцінку біологічних змін фосфоліпідного спектру здійснили на основі коефіцієнтів відношення вмісту фракцій цих фосфоліпідів (Рис 2).

Співвідношення $[\text{ФХ}/(\text{ФЕА}+\text{ФІ}+\text{ФС})]$ у печінки коропа, щуки, карася та окуня, відповідно, що вказує на збільшення частки ліпідів зовнішнього шару мембрани. Подібна асиметрія розміщення фосфоліпідів сприяє модуляції проникності біомембрани.

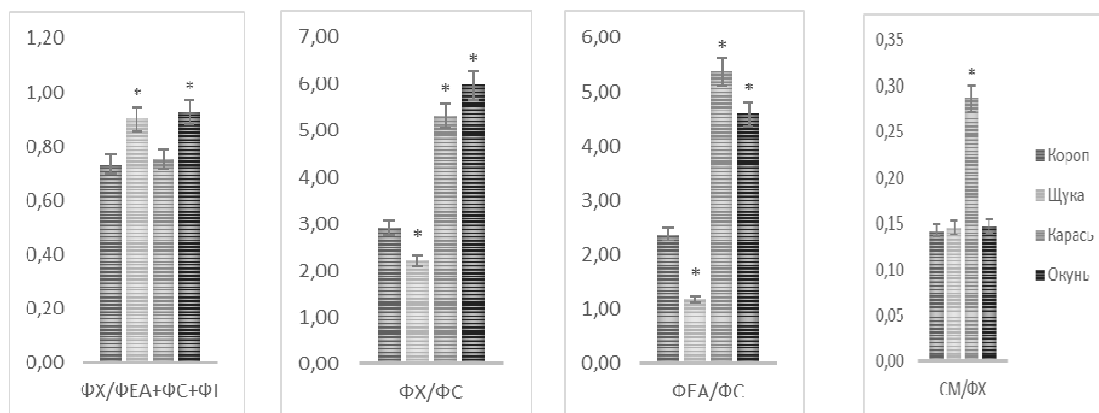


Рис 2. Співвідношення фракцій фосфоліпідів в клітинах печінки досліджених риб ($M \pm m$, $n=5$). * - різниця відносно показників коропа достовірна ($p < 0,05$).

Достовірна зміна показників $\text{ФХ}/\text{ФС}$ і $\text{ФЕА}/\text{ФС}$ у всіх досліджених видів риб порівняно із коропом свідчить про різну інтенсивність синтезу фосфатидилхоліну з його попередників – фосфатидилетаноламіну і фосфатидилсерину. Тут найбільшого значення співвідношення $\text{ФХ}/\text{ФС}$ набуває у окуня та знижується у ряді видів окунь→карась→короп→щука.

Встановлено, що коефіцієнт $\text{ФХ}/(\text{ФЕА}+\text{ФС}+\text{ФІ})$ у досліджених щуки та окуня достовірно переважає такий у карася та окуня. Такі міжвидові відмінності вказують на різний розподіл ліпідів зовнішнього а внутрішнього шару клітинних мембран. Відповідно до цього більша частка ліпідів зовнішнього шару мембрани у щуки та окуня вказує на асиметрію розміщення фосфоліпідів та сприяє проникності біомембрани. Опосередкованим підтвердженням цього є відмінність у співвідношенні $\text{ФЕА}/\text{ФС}$ у клітинах печінки окуня порівняно із коропом. Дослідження фосфоліпідного складу показало достовірне високу кількість ФЕА та знижений вміст ФХ карася, тому очевидним є активація перетворення фосфатидилсерину у фосфатидилетаноламін, внаслідок його декарбоксілювання, а зростання показника $\text{ФХ}/\text{ФС}$ обумовлене зниженням концентрації ФС.

Достовірно нижчий коефіцієнт $\text{ФХ}/(\text{ФЕА}+\text{ФС}+\text{ФІ})$ у коропа та карася вказує на активніші процеси деструкції зовнішнього шару біологічних мембран порівняно із хижими дослідженими видами, що в свою чергу може бути результатом різного токсичного навантаження на організм. Для прикладу короп та щука є відповідно, донною та пелагічною рибами.

Достовірна відмінність співвідношенні $\text{СМ}/\text{ФХ}$ спостерігається тільки у карася, що вказує на високу каталітичну активність керамідхолінфосфотрансферази та на перерозподіл фракцій фосфоліпідів зовнішнього шару мембрани. У інших досліджених видів достовірної відмінності у співвідношенні $\text{СМ}/\text{ФХ}$ не виявлено.

Висновки

Таким чином, досліджений вміст та співвідношення окремих класів фосфоліпідів має видову залежність і може змінюватися під впливом факторів оточуючого середовища. Підтверджено зміну фракційного складу фосфоліпідів як відповідь організму на дію факторів навколишнього середовища, що може бути використано для біомоніторингу водних екосистем.

1. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов /М. Кейтс — М.: Мир., 1975. — 322 с.
2. Климов А. Н., Никульчева А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. — СПб.: Питер-ком., 1999. — 512 с.

3. Орел Н. М. Биохимия липидов. — Минск, 2007. — 37 с.
4. Прохорова М. И. Методы биохимического исследования. — Л.: Изд.ЛГУ, 1982. — 222 с.
5. Романенко В. Д., Арсан О. М., Соломатина В. Д. Механизмы температурной акклимации рыб. — К.: Наукова думка, 1991. — 192 с.
6. Стефаник М.Б. Тонкослойная и газожидкостная хроматография липидов /М.Б. Стефаник, В.И. Скороход, О.П. Елисеева — Л.: Мир., 1985. — 27 с.
7. Шахмаев Н. К. Влияние марганца на обмен липидов // Химическое и биохимическое окисление систем, содержащих элементы. — Челябинск. — 1979. — С. 40—41.
8. Шульман Г. Е., Юнева Т. Г. ДГК и ненасыщенность липидов у рыб // Гидробиол. журнал. — 1990. — Т. 26, № 6. — С. 50—55.
9. *Functional tethered lipid bilayers* /W. Knoll, C.W. Frank, C. Heibel [et al.] // *J. Biotechnol.* — 2000. — Vol. 74. — P. 137—158.
10. *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.* — 2006. — Vol. 53B, № 3. — P. 335—337.
11. *Lewis R.N.A.H., McElhane R. N. 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* // *Biophys. J.* — 2000. — Vol. 79, № 3. — P. 1455—1464.
12. *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.

Б. З. Ляврин

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

МЕЖВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ СОДЕРЖАНИЯ И СООТНОШЕНИЕ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ МАЛЫХ РЕК ЗАПАДНОГО ПОДОЛЬЯ

Представлены результаты исследования фосфолипидного состава тканей печени наиболее распространенных пресноводных видов рыб малых рек Западного Подолья – карпа, карася, окуня и щуки. Изучены межвидовые различия в содержании фосфолипидов в тканях исследованных видов рыб. Обнаружено межвидовое отличие в соотношении классов фосфолипидов в клетках печени рыб и разница в особей взятых из различных малых рек. Рассмотрено изменение фракционного состава фосфолипидов как ответ организма на действие факторов окружающей среды, что может быть использовано для биомониторинга водных экосистем.

Ключевые слова: липиды, рыбы, малые реки, Западное Подолье

B. Z. Lyavrin

Ternopil Volodimir Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

INTERSPECIES DISTINCTIVITY OF THE CONTENT AND RELATIONS BETWEEN THE PHASE OF PHOSPHOLIPIDS OF SOME SPECIES OF FISH OF SMALL RIVERS OF WESTERN PODILLIA

The results of research of the phospholipids composition of liver tissues of the most common freshwater species of the small rivers of Western Podillia – carp, crucian carp, perch, and pike are presented. The interspecies differences in the content of phospholipids in the tissues of the investigated species of fish were studied. The intersubjective difference between the classes of phospholipids in fish liver cells, and the difference in fish taken from various small rivers, is revealed. The change in the fractional composition of phospholipids is considered as the response of the organism to the action of environmental factors, which can be used for biomonitoring of aquatic ecosystems.

Key words: lipids, fish, small rivers, West Podillya

Рекомендує до друку

Надійшла 06.03.2018

В. З. Курант