

УДК 636.02:597.55:576.344

*Б. З. Ляврін, Ю. І. Сенник, В. О. Хоменчук, В. З. Курант*

**ВМІСТ НЕПОЛЯРНИХ ЛІПІДІВ У ТКАНИНАХ  
ПЕЧІНКИ ДЕЯКИХ ВИДІВ РИБ МАЛИХ РІЧОК  
ЗАХІДНОГО ПОДІЛЛЯ**

Представлено результати дослідження ліпідного складу тканин печінки найбільш поширених прісноводних риб малих річок Західного Поділля — коропа, карася, окуня та щуки. Вивчено міжвидові відмінності у вмісті ліпідів і співвідношенні ліпідних класів у клітинах печінки досліджених риб. Розглянуто зміну фракційного складу ліпідів як відповідь організму на дію чинників навколишнього середовища.

*Ключові слова:* ліпіди, короп, карась, окунь, щука, малі річки, Західне Поділля.

Зростання впливу людини на водне середовище загостило проблему виживання організмів у стресових умовах, які створюються накопиченням токсичних речовин. Відомо, що відповідь організму на дію токсиканту є результатом взаємодії двох процесів: пошкодження (деструкції) та захисту (компенсаторної адаптації) [12]. Їх співвідношення визначає рівень токсичності водного середовища щодо риб.

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. В останні роки з'явилася низка робіт, які свідчать про екологічне значення окремих сторін ліпідного обміну у гідробіонтів, особливо риб [5, 10, 19].

Ліпіди, як один з основних компонентів біологічних мембран, впливають на їх проникність, беруть участь у передачі нервового імпульсу, створюють міжклітинні контакти, виконують функції вторинних меседжерів при передачі сигналів у клітину. Солі важких металів спричиняють суттєві кількісні та якісні зміни ліпідного складу в організмі дослідних тварин. Так, йони марганцю стимулюють синтез жирних кислот при інкубації ізольованих гепатоцитів печінки щурів, суттєво впливаючи на ліпідний обмін [14]. Встановлено [15], що в адаптації риб до несприятливого впливу навколишнього середовища зменшення вмісту ліпідів відіграє роль чинника «білкового згущення» мембран клітин та зниження їх проникності для йонів. Саме тому особливий інтерес викликають особливості обміну та вмісту індивідуальних класів нейтральних ліпідів у тканинах печінки деяких прісноводних видів риб.

© Б. З. Ляврін, Ю. І. Сенник, В. О. Хоменчук, В. З. Курант, 2014

**Матеріал і методика досліджень.** Дослідження проведено на коропі лускатому *Cyprinus carpio* L., щуці звичайній *Esox lucius* L., карасі сріблястому *Carassius gibelio* Bloch та окуні звичайному *Perca fluviatilis* L. масою відповідно 290—330 г, 200—350, 150—230 і 170—230 г. Для досліджень риб відбирали в осінній період з річок Серет, Стрипа та Золота Липа безпосередньо перед експериментом. Тканину печінки подрібнювали на холоді у скляних гомогенізаторах, загальні ліпіди екстрагували хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2 : 1 за методом Фолча [10]. При цьому до однієї масової частини тканини додавали 20 частин екстрагуючої суміші і залишали на 12 год для екстракції. Неліпідні домішки видаляли відмиванням 1%-ним розчином КС1 [11]. Кількість загальних ліпідів у тканині визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [4] і виражали в міліграмах на 1 г вологої тканини.

Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках Sorbfil (Росія) [6], які перед цим активували 30 хв при температурі 105°C у сушильній шафі. Рухомою фазою була суміш гексану, диетилового ефіру і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 70 : 30 : 1 [11]. 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 [11].

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**

Відомо, що кількість загальних ліпідів свідчить про активність анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії або ж про їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму і структурних компонентах клітини [5]. Як показали результати досліджень, загальний вміст ліпідів у печінці коропа з р. Серет значно перевищував їх вміст у особин з інших річок (табл. 1). Значна трофічна пластичність цього виду та швидке пристосування до кормового раціону дозволяють йому накопичувати у печінці ліпіди, які можуть бути використані для енергетичних і пластичних потреб [13]. Схожа картина накопичення ліпідів спостерігається у карасів: їх максимальний вміст відмічено у особин з р. Серет, а найменший — з р. Золота Липа.

Відомо, що характер розподілу ліпідів у тканинах і органах різних видів і екологічних груп залежить від умов середовища, рухової активності, віку тощо. Розміщення основних запасів жиру у м'язовій тканині характерне для хижих видів, зокрема щуки та окуня [7]. Найвищий вміст ліпідів зареєстрований у печінці щуки і окуня з р. Стрипа, дещо нижчий — з р. Серет і найнижчий — з р. Золота Липа (див. табл. 1).

Вміст триацилгліцеролів (ТАГ) був найбільший у коропа із р. Серет, дещо нижчий у особин з р. Золота Липа, найнижчий — із р. Стрипа (рис. 1). Відомо, що ТАГ є одними із чинників стабілізації клітинних мембран і у

### 1. Вміст загальних ліпідів у тканинах печінки досліджуваних видів риб, мг/г тканини

Риби	Серет	Стрипа	Золота Липа
Короп	71,27 ± 6,13	64,60 ± 4,69*	40,80 ± 7,82*
Щука	49,60 ± 5,14	52,87 ± 2,60	41,47 ± 2,13*
Карась	28,26 ± 1,19	22,53 ± 2,24*	13,33 ± 0,67*
Окунь	39,39 ± 3,93	42,13 ± 3,01*	24,40 ± 1,87*

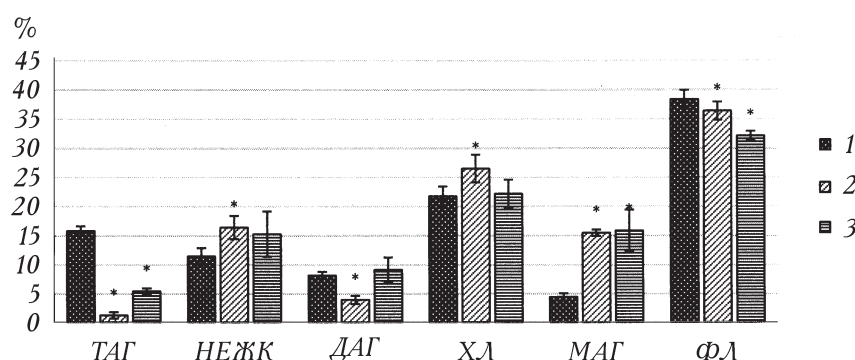
\* Тут і далі різниця з особинами з р. Серет статистично достовірна ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ ).

стресових умовах попередниками утворення диацилгліцеролів (ДАГ) і неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) [19]. Вміст НЕЖК відрізнявся лише у особин із р. Стрипа. ДАГ та моноацилгліцероли (МАГ) є посередниками у синтезі ТАГ і фосфоліпідів. Низький вміст цих фракцій у тканинах печінки коропа з р. Серет, на фоні високого вмісту фосфоліпідів, вказує на спрямування ліпідного метаболізму у бік синтезу структурних ліпідів [18]. Вміст холестеролу (ХЛ) та НЕЖК у окуня з річок Серет та Золота Липа не відрізнявся, а у особин з р. Стрипа він був дещо вищим.

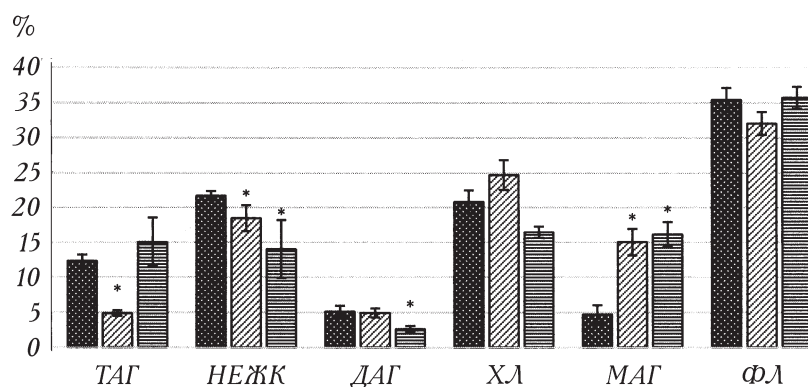
Розподіл окремих класів ліпідів у тканинах печінки щуки був схожим (рис. 2). Вміст ТАГ у особин з річок Серет і Золота Липа не відрізнявся, а з р. Стрипа — був значно меншим, у останніх виявлено високий вміст НЕЖК. Це свідчить про переважання у метаболізмі процесів ліполізу. Вміст ФЛ не відрізнявся у особин з усіх водойм, що вказує на сталість складу структурних елементів клітини — біомембран. У літературі є дані про те, що інтенсивність синтезу ФЛ, а відповідно і їх вміст у тканинах, може виступати як своєрідний захист клітин організму від проникнення токсикантів через мембрану завдяки її ущільненню [1, 8]. Кількість вільного ХЛ, який поряд з ФЛ впливає на проникність мембран і забезпечує їх ультраструктуру і функціональну активність, є практично рівною у особин з усіх річок. Вміст МАГ у щук з річок Стрипа та Золота Липа був більш як у два рази вищим, ніж з р. Серет. У той же час частка ДАГ у щук з р. Золота Липа була вдвічі нижчою, ніж з інших річок.

Співвідношення класів неполярних ліпідів у печінці карася відрізняється від такого у коропа та щуки (рис. 3). Концентрація ТАГ у цього виду була найвищою у р. Стрипа. Накопичення ТАГ є типовою реакцією на дію токсикантів. Можна припустити єдиний механізм участі цих сполук у стабілізації мембран при токсичній дії, оскільки збільшення їх вмісту забезпечує ущільнення і зменшення плинності мембран [18]. Це свідчить про участь цієї групи ліпідів у формуванні бар'єрів, які перешкоджають проникненню токсиканту у клітину.

Вміст ХЛ і ФЛ у карасів з досліджених річок був близьким, лише у особин з р. Золота Липа вміст ФЛ перевищував 40% загальної кількості ліпідів. Концентрація НЕЖК була мінімальною у особин з р. Стрипа. Вміст проміжних продуктів ліпідного обміну, таких як ДАГ і МАГ, у особин з досліджених річок відрізнявся і вказував на спрямованість обміну ліпідів.



1. Вміст класів неполярних ліпідів (% загальної кількості ліпідів) у клітинах печінки коропа. Тут і на рис. 2–4: 1 — р. Серет; 2 — р. Стрипа; 3 — р. Золота Липа.

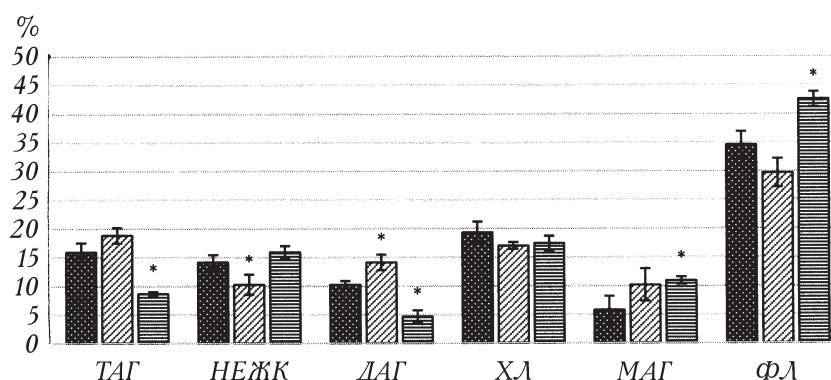


2. Вміст класів неполярних ліпідів (% загальної кількості ліпідів) у клітинах печінки щуки.

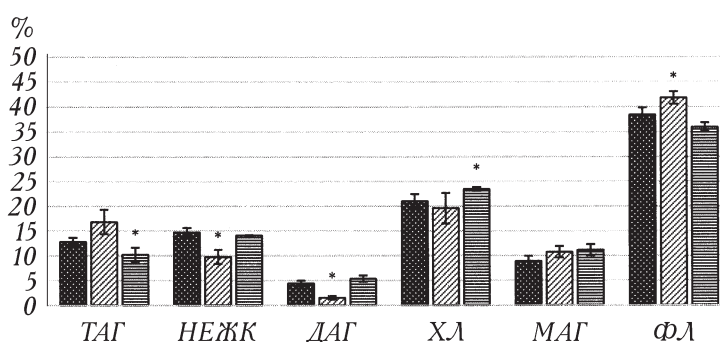
Концентрація ТАГ у клітинах печінки окуня зменшувалась у ряду Стрипа → Серет → Золота Липа (рис. 4). З літературних даних відомо [17], що ТАГ використовуються для синтезу ФЛ та збільшення пулу НЕЖК, вміст яких, як показали наші дослідження, у тканинах печінки окуня був обернено пропорційним вмісту ТАГ.

Збільшення кількості ХЛ, як правило, супроводжується зменшенням розрідженості клітинних ліпідів та їх вибіркової проникності, зниженням катіонної проникності мембрани та інгібуванням більшості ліполітичних ферментів [9]. Вміст ФЛ статистично відрізнявся лише у окунів із р. Стрипа, що вказує на більшу активність синтезу структурних ліпідів, ніж у особин з інших досліджених річок. Кількість вільного ХЛ була вищою у окунів з р. Золота Липа. Частка ДАГ і МАГ у тканинах окуня статистично не відрізнялась.

Аналіз вмісту окремих класів неполярних ліпідів у тканинах коропа, щуки, карася та окуня показав, що кількість ТАГ як основного джерела енергії та структурного матеріалу є видоспецифічною і зростає у ряду: ко-



3. Вміст класів неполярних ліпідів (% загальної кількості ліпідів) у клітинах печінки карася.



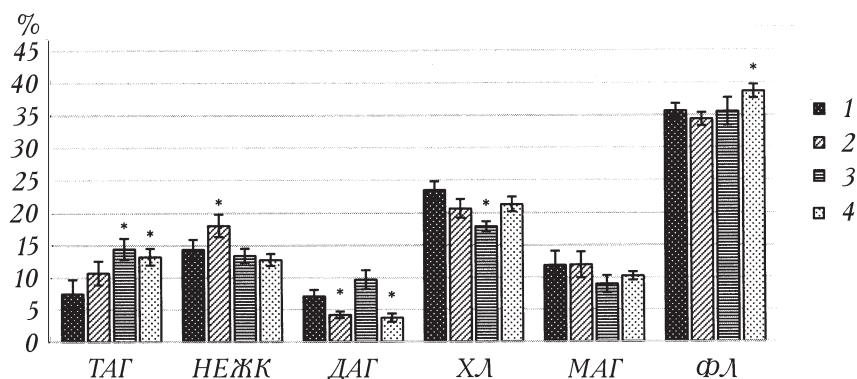
4. Вміст класів неполярних ліпідів (% загальної кількості ліпідів) у клітинах печінки окуня.

роп → щука → окунь → карась (рис. 5). Різниця, ймовірно, спричинена особливостями обмінних процесів, живлення та руховою активністю.

Відомо, що вільний ХЛ разом з ФЛ впливає на проникність мембран, забезпечує їх ультраструктуру і функціональну активність — плинність, а також активність багатьох мембранозв'язаних ферментів [3] і систем пасивного транспорту [16], механічну щільність бішару. Вміст ХЛ достовірно мінімальним був у карася, а максимальним — у коропа.

Стійкість мембран, пристосованих до несприятливих чинників, пов'язують з якісними і кількісними змінами у їх складі ТАГ, ДАГ, НЕЖК, ХЛ, МАГ та ФЛ [2].

Зміна загального вмісту НЕЖК як попередників синтезу ліпідів і продуктів їх розпаду у тканинах риб є одним із критеріїв оцінки спрямування ліпідного метаболізму: зниження їх кількості вказує на активацію синтезу ліпідів, а збільшення — ліполізу. Значне зростання кількості НЕЖК свідчить про формування катаболічного стрес-синдрому в умовах інтоксикації. Так, найвищий вміст НЕЖК визначено у клітинах печінки щуки, що може бути ознакою переважання ліполітичних процесів порівняно з іншими видами, у



5. Вміст класів неполярних ліпідів (% загальної кількості ліпідів) у клітинах печінки коропа (1), щуки (2), карася (3) та окуня (4). \* Різниця порівняно з характеристиками коропа статистично достовірна ( $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ).

яких цей показник був практично на одному рівні. Вміст ФЛ як основних структурних елементів біологічних мембран у досліджених видів вірогідно не відрізнявся, за винятком окуня. Вміст ДАГ у печінці коропа та карася знаходився на одному рівні, а у щуки та окуня він був вдвічі нижчим.

### Висновки

Таким чином, на підставі отриманих результатів щодо вмісту ліпідів і співвідношення їх класів у печінці досліджених риб можна спрогнозувати нижчий рівень адаптації до умов середовища в усіх видів з р. Золота Липа порівняно з рибами з інших річок. Спрямування ліпідного метаболізму у бік ліполізу свідчить про формування катаболічного стрес-синдрому в умовах інтоксикації.

\*\*

*Представлены результаты исследований липидного состава тканей печени наиболее распространенных пресноводных видов рыб малых рек Западного Подолья — карпа, карася, окуня и щуки. Изучены межвидовые различия в содержании липидов и соотношении липидных классов в клетках печени рыб. Рассмотрено изменение фракционного состава липидов как ответ организма на действие факторов окружающей среды.*

\*\*

*Results are presented of study of lipid composition in liver tissues of the most common freshwater fishes of small rivers of the Western Podillya — carp, crucian carp, perch and pike. Interspecific differences in lipid content and ratio of lipid classes in fish liver cells taken from various small rivers were studied. The changes of fractional composition of lipids as a response to the effect of environmental factors, useful for biomonitoring of aquatic ecosystems, were considered.*

\*\*

1. Воробьев В. И. Микроэлементы и их применение в рыбоводстве. — М.: Пищ. пром-сть, 1979. — 183 с.

2. Дятловицкая Э. В., Безуглов В. В. Липиды как биоэффекторы. Введение // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 1. — С. 3—5.
3. Евтушенко Н. Ю. Физиологическое значение отдельных микроэлементов в механизмах регуляции липидного обмена у рыб // Тез. докл 6-й Всесоюз. конф. по экол. физиологии и биохимии рыб, Вильнюс, сентябрь 1985 г. — Вильнюс 1985. — С. 772.
4. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. — М.: Мир, 1975. — 322 с.
5. Климов А. Н., Никульчева А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. — СПб.: Питер-ком, 1999. — 512 с.
6. Копытов Ю. П. Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов // Экология моря. — 1983. — № 12. — С. 76—80.
7. Лав Р. М. Химическая биология рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1976. — 349 с.
8. Меерсон Ф. З. Основные закономерности индивидуальной адаптации // Физиология адаптационных процессов. — М.: Наука, 1986. — С. 10—76.
9. Мецлер Д. Биохимия: Химические реакции в живой клетке. — М.: Мир, 1990. — Т. 2. — 608 с.
10. Орел Н. М. Биохимия липидов. — Минск, 2007. — 37 с.
11. Прохорова М. И. Методы биохимического исследования. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 222 с.
12. Романенко В. Д., Арсан О. М., Соломатина В. Д. Механизмы температурной акклимации рыб. — Киев: Наук. думка, 1991. — 192 с.
13. Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1962. — 443 с.
14. Шахмаев Н. К. Влияние марганца на обмен липидов // Химическое и биохимическое окисление систем, содержащих элементы. — Челябинск, 1979. — С. 40—41.
15. Шильман Г. Е., Юнева Т. Г. ДГК и ненасыщенность липидов у рыб // Гидробиол. журн. — 1990. — Т. 26, № 6. — С. 50—55.
16. Gulik-Krzywicki T. Structural studies of the associations between biological membrane components // Comp. Biochem. Physiol. — 1995. — Vol. 105, N 1. — P. 161—214.
17. Hilmy A. M., Domiati N. A., Daabees A. J. The toxicity to *Claris lozera* of copper and zinc applied jointly // Ibid. — 1987. — Vol. 2, N 3. — P. 309—314.
18. Katz B. Relationship of the physiology of aquatic organisms to the lethality of toxicants: a broad overview with emphasis on membrane permeability // Aquatic toxicology / Ed. by L. L. Marking, R. A. Kimerle. — Philadelphia: American society for testing and materials, 1979. — P. 62—76.
19. Lewis R.N.A.H., McElhaney R. N. Surface charge markedly attenuates the nonlamellar phase-forming properties of lipid bilayer membranes: calorimetric and <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance studies of mixtures of cationic, anionic, and zwitterionic lipids // Biophys. J. — 2000. — Vol. 79, N 3. — P. 1455—1464.
20. Vaskovsky V. E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. A. — 1975. — Vol 144, Iss. 1. — P. 129—141.