
doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.01.097>

УДК 547.953(639.215.2+639.214):546.723

О.О. Рабченюк, В.О. Хоменчук, В.З. Курант, В.В. Грубінко

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка

E-mail: vovanbox74@mail.ru

Фосфоліпідний склад окремих тканин коропа та щуки за умов дії іонів Fe^{3+}

(Представлено академіком НАН України В.Д. Романенком)

*Досліджено фракційний склад фосфоліпідів зябер та печінки коропа (*Syrpinus carpio* L.) і щуки (*Esox lucius* L.) за умов дії підвищених концентрацій іонів Fe^{3+} у воді. Вплив іонів Fe^{3+} (2 та 5 рибогосподарських граничнодопустимих концентрацій) спричиняє активацію ліполізу в тканинах печінки та зябер досліджуваних видів риб, про що свідчить зростання вмісту лізофосфатидилхоліну і зменшення фосфатидилхоліну, фосфатидилсерину і фосфатидилінозитулу. Зміни вмісту полярних ліпідів у печінці та зябрах риб під дією іонів Fe^{3+} є видоспецифічними і визначаються їх концентрацією у воді.*

Ключові слова: *короп, щука, печінка, зябра, фосфоліпідни, іони Fe^{3+} .*

Надходження металів у довкілля із антропогенних джерел призводить до збільшення їх вмісту у водному середовищі, що, у свою чергу, обумовлює накопичення металів у організмі гідробіонтів, внаслідок чого знижується їх опірність до екстремальних чинників зокрема та продуктивність гідроекосистем загалом [1].

Біологічна дія металів на організм риб різноваріантна: з одного боку, у незначних кількостях вони регулюють перебіг фізіолого-біохімічних процесів, а з іншого — їх підвищений рівень у воді та тканинах тварин виявляють токсичний ефект. Тому нормальне функціонування організму визначається наявністю в клітинах біологічно адекватної («оптимальної») кількості металів та формою їх знаходження в організмі [2].

Залізо є одним з найпоширеніших елементів у земній корі, але через низьку міграційну здатність концентрація заліза в природних водах дуже мала, і його прийнято відносити до мікроелементів [1].

Співвідношення між формами заліза в природних водах залежить від температури, величини рН, наявності хелатуючих агентів і вмісту кисню [3].

Залізо є необхідним металом для життя риб. Цей мікроелемент входить до складу низки гемових (гемоглобін, мітохондріальні та мікросомальні цитохроми, каталаза) і негемових (трансферин, феритин, мітоферин) білків та відіграє важливу роль в окисно-відновних процесах клітини [4].

© О.О. Рабченюк, В.О. Хоменчук, В.З. Курант, В.В. Грубінко, 2017

ISSN 1025-6415. Доп. НАН України. 2017. № 1

97

Водночас зростання вмісту заліза у водному середовищі може призводити до його концентрування в тканинах риб, що становить значний ризик для процесів метаболізму в їх організмі, а також впливає на стан популяцій [5]. Надмірне надходження до організму риб заліза спричиняє модифікування всіх ланок метаболізму, в тому числі ліпідний обмін, і може мати виражений токсичний ефект [4]. На даний час досліджено вплив низки екологічних чинників на співвідношення ліпідів у тканинах риб [6], проте особливості фосфоліпідного складу їх тканин за умов дії підвищених концентрацій заліза(III) у воді досліджені недостатньо.

Модифікація фосфоліпідів клітинних мембран риб, з одного боку, лімітує проникнення іонів металу до організму, а з іншого — забезпечує їх посилену екскрецію з організму [7]. Тому значний теоретичний та практичний інтерес становить дослідження впливу іонів Fe^{3+} на якісний склад і кількісне співвідношення фосфоліпідів у організмі прісноводних риб.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus carpio L.*) і щуки (*Esox lucius L.*) із середньою масою 300–350 г. Риб утримували в акваріумах об'ємом 200 л з відстояною водопровідною водою та стандартним гідрохімічним режимом.

Досліджували фосфоліпідний склад окремих тканин риб за умов дії іонів Fe^{3+} в концентраціях 0,2 і 0,5 мг/дм³, що відповідає 2 та 5 рибогосподарським граничнодопустимим концентраціям (ГДК) [8]. Необхідної концентрації іонів металу у воді досягали шляхом внесення солі $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ кваліфікації «х.ч.».

Риб під час аклімації не годували. Період утримування риб у токсичних умовах становив 14 діб, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-фактору [9].

Для біохімічного дослідження окремих класів фосфоліпідів були використані тканини зябер та печінки риб, які подрібнювали на холоді в скляних гомогенізаторах з подальшим екстрагуванням загальних ліпідів з тканини хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2 : 1 за методом Фолча [10].

Розділення фосфоліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одновимірної тонкошарової хроматографії на пластинках «Sorbfil». Для визначення вмісту фракцій фосфоліпідів пластинки елюювали в 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 [11]. Було ідентифіковано такі фракції фосфатидів: лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилінозитол (ФІ) та сфінгомієлін (СМ).

Кількість фосфоліпідів визначали за методом Васьковського [12].

Усі одержані експериментальні дані піддавали статистичній обробці з використанням пакета «Microsoft Excel».

Результати досліджень. Аналіз отриманих даних свідчить про значні зміни у співвідношенні полярних ліпідів у тканинах риб під дією підвищених концентрацій іонів Fe^{3+} (табл. 1, 2). Необхідно відзначити, що вміст ФХ та ФЕА становить більш ніж 50 % загальної кількості полярних ліпідів (див. табл. 1). У зябрах обох видів риб відмічається достовірне зростання вмісту ЛФХ. При цьому у щуки вміст ЛФХ зростає пропорційно збільшенню концентрації іонів Fe^{3+} у воді. Кількість фракцій ФХ та ФС як у зябрах коропа, так і щуки зменшується ($p < 0,05$). Такі зміни можуть бути пов'язані з інтенсифікацією гідролізу ФХ внаслідок активації іонами металу лізосомальної фосфоліпази A_2 [13].

Таблиця 1. Відносний вміст фосфоліпідів у клітинах зябер риб за умов дії іонів Fe³⁺ (% , $M \pm m$, $n = 5$)

Клас полярних ліпідів	Контроль	Вміст іонів Fe ³⁺ у воді	
		2 ГДК	5 ГДК
<i>Короп</i>			
ЛФХ	5,74 ± 0,64	17,21 ± 0,30 *	10,93 ± 0,52 *
ФХ	16,90 ± 0,81	24,76 ± 0,31 *	7,04 ± 0,30 *
ФС	8,83 ± 0,22	5,38 ± 0,61 *	2,26 ± 0,38 *
ФІ	8,11 ± 0,84	11,38 ± 0,85 *	2,47 ± 0,37 *
ФЕА	53,73 ± 1,27	36,03 ± 0,74 *	75,00 ± 0,99 *
СМ	6,71 ± 0,46	5,25 ± 0,46	2,30 ± 0,38 *
<i>Щука</i>			
ЛФХ	7,38 ± 1,05	14,39 ± 0,56 *	22,87 ± 1,55 *
ФХ	24,59 ± 1,48	16,00 ± 0,84 *	19,77 ± 0,67 *
ФС	6,26 ± 1,00	3,12 ± 0,37 *	4,99 ± 0,93
ФІ	9,75 ± 0,78	5,02 ± 0,88 *	5,35 ± 0,53 *
ФЕА	41,31 ± 2,20	56,55 ± 2,08 *	37,82 ± 2,50
СМ	10,72 ± 0,77	4,93 ± 0,29 *	9,21 ± 0,81

* Тут і в табл. 2 зміни порівняно з контролем достовірні.

Таблиця 2. Відносний вміст фосфоліпідів у клітинах печінки риб за умов дії іонів Fe³⁺ (% , $M \pm m$, $n = 5$)

Клас полярних ліпідів	Контроль	Вміст іонів Fe ³⁺ у воді	
		2 ГДК	5 ГДК
<i>Короп</i>			
ЛФХ	3,22 ± 0,49	8,99 ± 0,66 *	18,30 ± 0,95 *
ФХ	11,97 ± 0,57	31,71 ± 0,23 *	20,37 ± 0,66 *
ФС	8,61 ± 0,58	10,65 ± 0,12 *	1,79 ± 0,24 *
ФІ	5,57 ± 0,52	9,57 ± 1,08 *	1,82 ± 0,11 *
ФЕА	64,53 ± 1,12	28,97 ± 0,87 *	44,79 ± 1,71 *
СМ	6,11 ± 0,35	10,11 ± 0,38 *	12,94 ± 0,65 *
<i>Щука</i>			
ЛФХ	4,82 ± 0,87	9,79 ± 0,23 *	15,18 ± 1,08 *
ФХ	15,32 ± 0,79	4,84 ± 0,35 *	11,11 ± 0,51 *
ФС	5,69 ± 0,82	3,01 ± 0,38 *	2,37 ± 0,57 *
ФІ	2,51 ± 0,52	8,83 ± 0,63 *	6,52 ± 0,85 *
ФЕА	61,45 ± 1,46	71,33 ± 1,09 *	61,07 ± 2,42
СМ	10,22 ± 0,62	2,21 ± 0,35 *	3,77 ± 0,73 *

Зміни кількості ФІ та ФЕА за умов дії заліза мають виражену концентраційну та видову специфіку. Так, вміст ФІ у зябрах щуки зменшується в обох варіантах застосованих концентрацій іонів заліза, а в коропа зростає під впливом 2 ГДК і знижується у разі дії 5 ГДК металу ($p < 0,05$). Підвищення вмісту ФЕА у зябрах коропа за умов дії 5 ГДК і щуки у разі застосування 2 ГДК, ймовірно, сприяє ущільненню ліпідного шару, що, в свою чергу, забезпечує зниження проникності клітинних мембран зябер для іонів Fe^{3+} [7]. Кількість СМ зменшується в зябрах коропа в 2,9 раза під дією 5 ГДК і щуки в 2,2 раза ($p < 0,05$) за умов впливу 2 ГДК іонів Fe^{3+} .

Характер змін фосфоліпідного складу печінки досліджуваних видів риб за умов дії заліза(III) має як ряд спільних, так і відмінних рис порівняно із зябрами (див. табл. 2). Як у зябрах, так і в печінці обох видів риб під дією сполук металу вміст ЛФХ підвищується ($p < 0,05$), а в печінці зростання вмісту цих фосфатидів пропорційне концентрації заліза(III) у воді.

Відзначимо, що зміни вмісту СМ та ФХ у печінці за умов дії іонів Fe^{3+} у обох досліджуваних видів риб відрізняються: у коропа зростає, а у щуки знижується. Кількість ФС у печінці коропа зростає в 1,3 раза за умов дії 2 ГДК і знижується в 4,8 раза у разі дії 5 ГДК іонів Fe^{3+} . У печінці щуки вміст ФС знижується пропорційно зростанню кількості металу у воді. Зміни вмісту ФІ у печінці коропа подібні до таких у зябрах: у варіанті дії 2 ГДК іонів металу — зростає, а у разі впливу 5 ГДК — зменшується. У гепатоцитах щуки кількість полярних ліпідів цієї фракції зростає за умов впливу як 2, так і 5 ГДК іонів металу ($p < 0,05$).

Вміст ФЕА у печінці коропа достовірно знижується за умов дії обох досліджуваних концентрацій іонів Fe^{3+} , що може сприяти підвищенню проникності мембрани гепатоцитів і забезпечує певною мірою активацію процесів виведення надлишкових кількостей металу з організму коропа [7].

Отже, зміни вмісту і, відповідно, співвідношення фосфоліпідів риб за умов дії іонів Fe^{3+} визначаються видовими особливостями риб, тканинними відмінностями і залежать від концентрації іонів заліза у воді. У відмінних за трофікою видів риб (короп — всеїдний, щука — хижак) зміни фосфоліпідного складу клітин зябер та печінки спрямовані на протидію впливу токсичного чинника, але відбувається це по-різному. Проте загальна стратегія адаптації досліджуваних видів риб до дії іонів Fe^{3+} полягає в зростанні вмісту тих фракцій фосфоліпідів (ФЕА), які сприяють зменшенню проникності мембран клітин зябер і зниженню надходження металу в організм риб.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals* / Eds. С.М. Wood, А.Р. Farrel, С.Ј. Brauner. — London: Academic Press, 2012. — 497 p.
2. *Chapman P.M., Wang F., Janssen C.R., Goulet R.R., Kamunde C.M.* Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: current status // *Hum. Ecol. Risk Assess.* — 2003. — **9**. — P. 641–697.
3. *Jackson T.A., Kipphut G., Hesslein R.H., Schindler D.W.* Experimental study of trace metal chemistry in soft-water lakes at different pH levels // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* — 1980. — **37**, No 3. — P. 387–402.
4. *Gurzau E.S.* Essential metals—case study on iron // *Ecotox. Environ. Safe.* — 2003. — **56**. — P. 190–200.
5. *Bury N., Grosell M.* Waterborne iron acquisition by a freshwater teleost fish, zebrafish *Danio rerio* // *J. Exp. Biol.* — 2003. — **206**. — P. 3529–3535.
6. *Грициняк І.І., Смолянінов К.Б., Янович В.Г.* Обмін ліпідів у риб. — Львів: Тріада плюс, 2010. — 336 с.

7. Сенік Ю.І. Зміни ліпідного складу тканин прісноводних риб за дії цинку та кадмію: Дис ... канд. біол. наук: 03.00.04. — Тернопіль, 2015. — 198 с.
8. *Обобщенный* перечень предельно-допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно-безопасных уровней воздействия вредных веществ (ОБУВ) для воды рыбохозяйственных водоемов / Минрыбхоз СССР. — Москва, 1990. — 44 с.
9. Хлебович В.В. Акклимация животных организмов. — Ленинград: Наука, 1981. — 135 с.
10. Hokin L.E., Hexum T.D. Studies on the characterization of the sodium-potassium transport adenosine triphosphatase: IX. On the role of phospholipids in the enzyme // Arch. Biochem. Biophys. — 1972. — **151**, Iss. 2. — P. 453–463.
11. Кеймс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. — Москва: Мир, 1975. — 322 с.
12. Vaskovsky V.E., Kastetsky E.V., Vasedin I.M. A universal reagent for phospholipids analysis // J. Chromatogr. — 1985. — **114**. — P. 129–141.
13. Lindahl M., Tagesson Ch. Zinc (Zn^{2+}) binds to and stimulates the activity of group I but not group II phospholipase A_2 // Inflammation. — 1996. — **20**. — P. 599–611.

Надійшло до редакції 13.05.2016

REFERENCES

1. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals, C. M. Wood, A. P. Farrel, C. J. Brauner, Eds., London: Academic Press, 2012.
2. Chapman P.M., Wang F., Janssen C.R., Goulet R.R., Kamunde C.M. Hum. Ecol. Risk Assess., 2003, **9**: 641–697.
3. Jackson T.A., Kipphut G., Hesslein R.H., Schindler D.W. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 1980, **37**, No 3: 387–402.
4. Gurzau E.S. Ecotox. Environ. Safe., 2003, **56**: 190–200.
5. Bury N., Grosell M.J. Exp. Biol., 2003, **206**: 3529–3535.
6. Gritsinyak I.I., Smolyaninov K.B., Yanovich V.G. Metabolism of lipids in fishes, Lviv: Triada plus, 2010 (in Ukrainian).
7. Senyk Yu.I. Changes in lipid composition of tissues of freshwater fish by the action of zinc and cadmium: Diss. of cand. of biol. sci., Ternopil, 2015 (in Ukrainian).
8. General list of maximum permissible concentration (MPC) and the temporary safe reference action level (TSRAL) for water in fishery ponds, Ministry of Fisheries of the USSR, Moscow, 1990 (in Russian).
9. Khlebovich V.V. Acclimation of animal organisms, Leningrad: Nauka, 1981 (in Russian).
10. Hokin L.E., Hexum T.D. Arch. Biochem. and Biophys., 1972, **151**, Iss. 2: 453–463.
11. Kates M. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids, Moscow: Mir, 1975 (in Russian).
12. Vaskovsky V.E., Kastetsky E.V., Vasedin I.M. J. Chromatogr., 1985, **114**: 129–141.
13. Lindahl M., Tagesson Ch. Inflammation, 1996, **20**: 599–611.

Received 13.05.2016

Е.А. Рабченко, В.А. Хоменчук, В.З. Курант, В.В. Грубинко

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка

E-mail: vovanbox74@mail.ru

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ОТДЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ КАРПА И ЩУКИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ Fe^{3+}

Исследован фракционный состав фосфолипидов жабр и печени карпа (*Cyprinus carpio* L.) и щуки (*Esox lucius* L.) при действии повышенных концентраций ионов Fe^{3+} в воде. Влияние ионов Fe^{3+} (2 и 5 рыбохозяйственных предельно допустимых концентраций) вызывает активацию липолиза в тканях печени и жабр исследуемых видов рыб, о чем свидетельствует увеличение содержания лизофосфатидилхолина и уменьшение — фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола. Изменения содержания полярных липидов в печени и жабрах рыб при действии ионов Fe^{3+} имеют видоспецифический характер и определяются их концентрацией в воде.

Ключевые слова: карп, щука, печень, жабры, фосфолипиды, ионы Fe^{3+} .

O.O. Rabchenuk, V.O. Khomenchuk, V.Z. Kurant, V.V. Grubinko

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University

E-mail: vovanbox74@mail.ru

PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF SOME TISSUES OF CARP
AND PIKE UNDER THE INFLUENCE OF Fe^{3+} IONS

Fractional composition of liver and gills phospholipids of carp (*Cyprinus carpio* L.) and pike (*Esox lucius* L.) under the influence of elevated concentrations of Fe^{3+} ions in water is investigated. The effect of Fe^{3+} ions (2 and 5 maximum permissible concentrations) causes the activation of lipolysis in tissues of liver and gills of studied fish species testified by an increase of the lysophosphatidylcholine content and a decrease of phosphatidylcholine, phosphatidylserine, and phosphatidylinositol contents. Changes of polar lipids contents in liver and gills of fish under the influence of Fe^{3+} ions are species-specific and determined by the concentration of Fe^{3+} ions in water.

Keywords: *carp, pike, liver, gills, phospholipids, Fe^{3+} ions.*