

Ribogospod. nauka Ukr., 2016; 3(37): 111-122
DOI: <http://dx.doi.org/10.15407/fsu2016.03.122>
УДК [597-1/05:577.115]:597.554.3

ЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИН ЛУСКАТОГО КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) ЗА УМОВ ШТУЧНОГО ВУГЛЕКИСЛОТНОГО ГІПОБІОЗУ

С. В. Сисолятин, sergiy_sv@ukr.net, Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Мета. Визначити та зробити порівняльний аналіз ліпідного складу печінки, скелетних м'язів, зябер і головного мозку лускатого коропа в стані активної життєдіяльності та за умов штучно створеного вуглекислотного гіпобіозу.

Методика. Досліди проводились на українській лускатій породі коропа (*Cyprinus carpio L.*) масою 250–270 г. Для проведення досліджень сформовано дві групи (контрольна та дослідна). Введення риби в гіпобіотичний стан проводили за використання запатентованої моделі штучного гіпобіозу. Відбір матеріалу здійснювали шляхом розтину лускатого коропа першої (контрольної) і другої груп (на 3-ю, 6-ту та 24-ту годину експозиції), з подальшим замороженням та зберіганням в рідкому азоті. Екстракцію ліпідів після гомогенізації тканин головного мозку, печінки, зябер та скелетних м'язів проводили за методом Фолча. Вміст загальних ліпідів визначали за допомогою гравіметричного методу. Розділення ліпідів проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках «Silufol». Кількісне визначення загальних фосфоліпідів — гідроксаматним методом; загального холестеролу — колориметричним методом. Результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати. Отримані результати досліджень свідчать, що вміст загальних ліпідів, фосфоліпідів та холестеролу в тканинах лускатого коропа в стані за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу та активної життєдіяльності суттєво відрізняється.

Встановлено, що вміст загальних ліпідів у печінці, скелетних м'язах, зябрах та головному мозку лускатого коропа за умов введення в стан штучного вуглекислотного гіпобіозу (гіпоксигіперкапічного середовища) зменшується в порівнянні з контролем. За цих умов відмічено незначне зростання в тканинах вмісту фосфоліпідів, а також достовірне зростання вмісту холестеролу та величини коефіцієнта ХЛ/ФЛ, особливо в печінці, що свідчить про використання ліпідів в енергетичних та адаптаційних процесах.

Наукова новизна. Досліджено ліпідний склад печінки, скелетних м'язів, зябер і головного мозку лускатого коропа в стані активної життєдіяльності та за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу. Встановлено, що вміст загальних ліпідів в дослідних тканинах коропа протягом усієї експозиції штучного вуглекислотного гіпобіозу зменшується, що свідчить про використання ліпідів в енергетичних процесах. Зростання вмісту фосфоліпідів та холестеролу в тканинах коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу обумовлює активізацію адаптаційних механізмів його організму.

Практична значимість. Отримані результати дають можливість оцінити залучення ліпідів тканин до пристосування організму коропа до змін умов зовнішнього середовища (штучного вуглекислотного гіпобіозу).

Ключові слова: лускатий короп, штучний вуглекислотний гіпобіоз, ліпіди, фосфоліпіди, холестерол.



ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

На шляху еволюції риби набули пристосувальні механізми, які забезпечили можливість їх існування за несприятливих умов зовнішнього середовища (холод, дефіцит води та їжі, гіперкапнія тощо). Одним з таких механізмів є зворотне пригнічення життєдіяльності організму що має назву гіпобіоз [1, 2]. Перехід організму в стан зниженої життєдіяльності — гіпобіозу — характеризується перебудовою фізіологічних функцій та біохімічних процесів, у розвитку яких задіяні молекулярні механізми адаптації [3, 4].

Дослідження стану гіпобіозу викликає поширений інтерес у науковців. Проведена велика наукова робота з вивчення фундаментальних основ механізму розвитку як природного, так і штучного гіпобіозу [3, 4, 5]. У Національному університеті біоресурсів і природокористування України розроблено та запатентовано модель штучного переведення коропа у гіпобіотичний стан із використанням гіпокси-гіперкапнічного газового середовища при зниженні температури тіла [5]. Формування штучного гіпобіотичного стану веде до гіпометаболізму і супроводжується низкою адаптаційних пристосовань, в розвитку яких беруть активну участь ліпіди [6, 7].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Оскільки ліпіди в організмі виконують не лише енергетичну функцію, але й беруть участь у перебудові реактивності організму під впливом факторів зовнішнього середовища, дослідження ліпідного профілю в різних органах і тканинах у риб, які знаходяться в гіпобіотичному стані, є перспективним [7, 8].

Відомо, що ліпіди беруть участь у процесі розвитку адаптаційного процесу, однак питання щодо їх складу та обміну в різних органах та тканинах риб в гіпобіотичному стані залишаються недостатньо з'ясованими і потребують більш глибокого вивчення. Це дозволить розширити існуючі уявлення про розвиток адаптаційних процесів в організмі живих істот до змін параметрів навколишнього середовища, в основі яких лежить захисна роль ліпідів.

Мета досліджень — здійснити порівняльний аналіз ліпідного складу печінки, скелетних м'язів, зябер і головного мозку ставового коропа в стані активної життєдіяльності та за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проводились на українській лускатій породі коропа (*Cyprinus caprio L.*) масою 250–270 г. Матеріал для дослідження використовували з Іванківського рибокомбінату Київської області. Риба відбиралася в осінній період і протягом трьох днів в приміщенні віварію утримувалася в басейні об'ємом 2000 л для адаптації. Аерація та очищення води відбувались згідно встановлених норм з утримання риби у рибних господарствах [9].

Для проведення досліджень було сформовано дві групи. В першу групу, контрольну, входили риби, які знаходились в активному стані життєдіяльності.



Другу групу формували риби, які перебували в стані штучного вуглекислотного гіпобіозу. Для штучного введення риби в гіпобіотичний стан використовували існуючу запатентовану модель [10].

Відбір матеріалу проводили шляхом розтину особин першої (контролю) і другої груп (на 3-ю, 6-ту та 24-ту год. експозиції штучного вуглекислотного гіпобіозу) [11]. Весь відібраний матеріал заморожували та зберігали в рідкому азоті.

Гомогенізацію відібраного матеріалу проводили шляхом ретельного подрібнення замороженого матеріалу в фарфоровій ступці до дрібного порошку, постійно додаючи рідкий азот, щоб уникнути відтанення, та гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Ельвейема [12]. З подрібненого матеріалу екстрагували ліпіди. Екстракцію ліпідів проводили за методами Фолча [13] у суміші хлороформ — метанол (2:1, об./об.). Кількість загальних ліпідів у тканинах визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [14].

Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках розміром 15×15 см із нанесеним на них силікагелем марки «*Silufol*» (Чехія) [15].

Пластинки з підсушеними плямами ліпідів розташовували в герметично зачинені скляні хроматографічні камери, в яких знаходилась рухома фаза. Рухомою фазою була система гексан – діетиловий етер – оцтова кислота (90:10:1, об./об.) [16]. Після проходження розчинника пластинку підсушували та піддавали дії проявника. Проявник — пари кристалічного йоду, які забарвлювали ліпіди в коричневий колір [17]. Проявлені плями були ідентифіковані за допомогою *R_f* [18] і шляхом порівняння з відомими маркерами ліпідів (для фосфоліпідів — *фосфатидилхолін* або *фосфатидилетаноламін*; для холестеролу — *чистий холестерол*) фірми «*Reanal*» (Угорщина), «*Sigma-Aldrich*» (Німеччина).

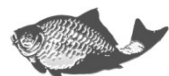
Кількісне визначення загальних фосфоліпідів проводили за допомогою гідроксаматного методу [19]; холестеролу — колориметричного методу з хлорним залізом [20].

Усі отримані результати обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням t-критерію Стьюдента [21].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальний вміст ліпідів свідчить про активність анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів у якості джерела енергії, а також про їх використання в адаптивних перебудовах структурних компонентів клітин, тканин та органів [22, 23]. Характер розподілу ліпідів в тканинах і органах коропа залежить від виду, умов середовища, рухової активності, віку тощо [24].

Виходячи з результатів, які представлено на рис. 1, можна відмітити, що вміст загальних ліпідів в тканинах та органах коропа в стані активної життєдіяльності суттєво відрізняється. За вмістом загальних ліпідів ці тканини можна розмістити таким чином: головний мозок → печінка → зябра → скелетні м'язи (рис. 1).



ЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИН КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)
ЗА УМОВ ШТУЧНОГО ВУГЛЕКИСЛОТНОГО ГІПОБІОЗУ

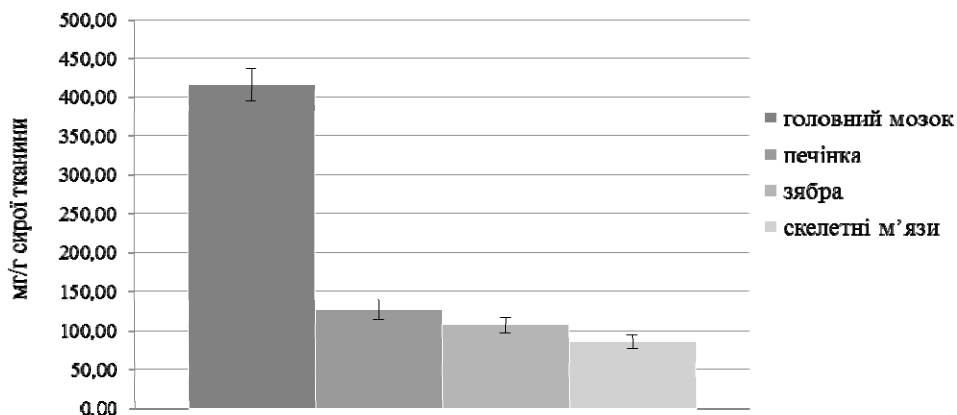


Рис. 1. Вміст загальних ліпідів в тканинах лускатого коропа в стані активної життєдіяльності ($M \pm m$, $n=5$)

Головний мозок коропа характеризується високим вмістом ліпідів, оскільки містить унікальні мембранні структури — мієлінові оболонки, які мають найвищий вміст ліпідів порівняно з іншими тканинами. Завдяки значній трофічній пластичності організм коропа здатний значною мірою накопичувати ліпіди в печінці, які можуть бути використані як для енергетичних, так і для пластичних потреб [25]. Найменший вміст загальних ліпідів (ЗЛ) в тканинах зябер та скелетних м'язів.

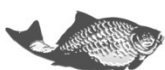
Важлива особливість метаболізму ліпідів в організмі коропа виявляється в значній амплітуді складу і інтенсивності накопичення ліпідів — внаслідок перерозподілу ліпідних запасів між тканинами і органами, витрачання чи накопичення ліпідів та зміни інтенсивності цих процесів [26].

Встановлено, що вміст загальних ліпідів у печінці, скелетних м'язах, зябрах та головному мозку коропа зменшується за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу (*гіпероксично-гіперкапічного середовища*) порівняно зі станом активної життєдіяльності. Найбільші зміни спостерігаються на 24 год. експозиції (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст загальних ліпідів тканин лускатого коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу, мг/г сирової тканини ($M \pm m$, $n=5$)

Тканини	Стан активної життєдіяльності (контроль)	Стан штучного вуглекислотного гіпобіозу		
		3 год. експозиції	6 год. експозиції	24 год. експозиції
Печінка	128,00±1,92	124,60±0,72	119,40±0,79	117,00±0,92*
Скелетні м'язи	86,00±2,51	84,60±2,34	83,90±1,21	80,10±2,05*
Зябра	108,00±0,92	106,80±0,75	105,50±1,25	102,80±0,92*
Головний мозок	416,00±1,02	412,80±0,54	411,00±0,33	409,60±0,33

Примітка. вірогідно щодо контрольної групи; * — $P < 0,05$.



Зокрема, на 24 год. експозиції штучного вуглекислотного гіпобіозу вміст ЗЛ в печінці (основне місце синтезу та використання ліпідів) коропа знижується на 8,6% ($P<0,05$), скелетних м'язів — на 6,9% ($P<0,05$), зябрах — на 4,8% ($P<0,05$) порівняно зі станом активної життєдіяльності. Відсутність змін вмісту загальних ліпідів головного мозку обумовлена посиленням захистом клітин від факторів зовнішнього середовища.

Головними ліпідними фракціями, що відіграють важливу роль в організмі коропа, є фосфоліпіди (ФЛ) та холестерол (ХС), які є основними структурними складовими біологічних мембран та беруть участь у всіх фізіологічних та біохімічних процесах [27].

Згідно результатів наших досліджень, які представлено на рис. 2, можна відмітити, що вміст ФЛ вищий в головному мозку і печінці, а нижчий — в зябрах і в м'язів.

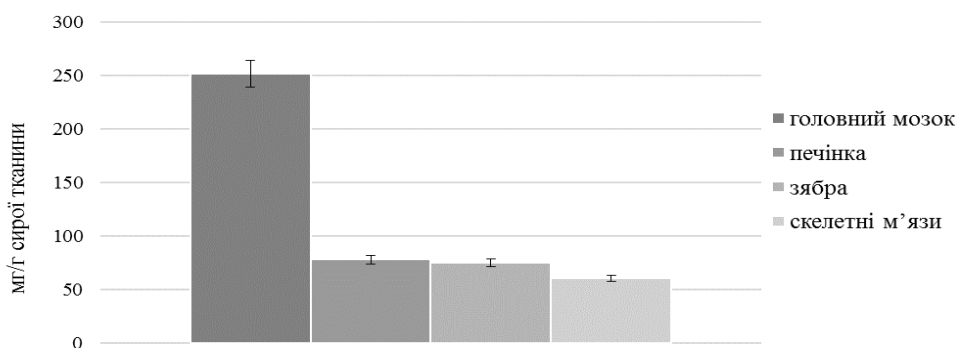


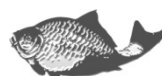
Рис. 2. Вміст загальних фосфоліпідів в тканинах лускатого коропа в стані активної життєдіяльності ($M \pm m$, $n=5$)

Відомо, що інтенсивність синтезу фосфоліпідів, а, відповідно, і їх вміст в тканинах, може бути своєрідним захистом клітин тканин організму шляхом їх ущільнення під впливом факторів зовнішнього середовища [29].

Вміст ФЛ у печінці, скелетних м'язів, зябрах та головному мозку коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу вищий, ніж у стані активної життєдіяльності. Найбільше зростання спостерігається на 24 год. експозиції (табл. 2). Зокрема, вміст ФЛ в печінці зростає на 6,0% ($P<0,05$), а в скелетних м'язів — на 5,2% ($P<0,05$).

Незначне зростання рівня ФЛ в тканинах коропа можливо пов'язано з інтенсифікацією фосфорного обміну, що є одним з проявів мобілізації адаптаційно-приспосувальних реакцій організму. Не виявлено достовірного зростання вмісту ФЛ в головному мозку, оскільки ліпідний склад мозку залишається практично незмінним навіть під впливом зовнішніх факторів [23, 25].

Одержані дані щодо вмісту ХС в тканинах печінки, зябер, скелетних м'язів та головного мозку ставового коропа в стані активної життєдіяльності свідчать, що його вміст найвищий в головному мозку (рис. 3).



Таблиця 2. Вміст загальних фосфоліпідів печінки, скелетних м'язів, зябра та головного мозку лускатого коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу, мг/г сирової тканини ($M \pm m$, $n=5$),

Тканини	Стан активної життєдіяльності (контроль)	Стан штучного вуглекислотного гіпобіозу		
		3 год. експозиції	6 год. експозиції	24 год. експозиції
Печінка	78,00±2,09	79,60±0,92	81,60±0,34*	82,70±0,56*
Скелетні м'язи	60,20±0,63	61,00±0,67	61,90±0,59	63,30±0,34*
Зябра	74,80±3,51	75,20±0,13	76,40±0,22	77,10±0,13
Головний мозок	251,70±0,84	252,50±0,88	253,00±0,72	254,10±0,94

Примітка. вірогідно щодо контрольної групи; * — $P < 0,05$.

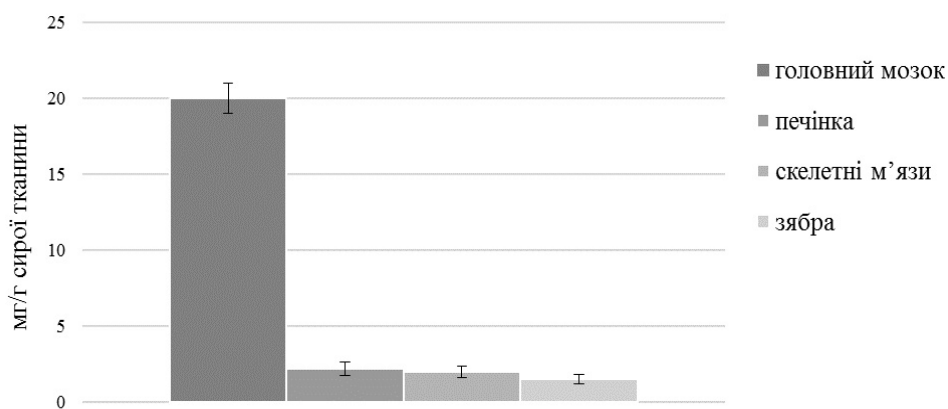


Рис. 3. Вміст холестеролу в тканинах лускатого коропа в стані активної життєдіяльності ($M \pm m$, $n=5$)

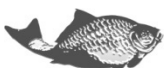
Наведені у таблиці 3 дані свідчать про зростання вмісту ХС в досліджуваних тканинах коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу порівняно з коропом в стані активної життєдіяльності.

Таблиця 3. Вміст холестеролу в печінці, скелетних м'язах, зябрах та головному мозку коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу, мг/г сирової тканини ($M \pm m$, $n=5$)

Тканини	Стан активної життєдіяльності (контроль)	Стан штучного вуглекислотного гіпобіозу		
		3 год. експозиції	6 год. експозиції	24 год. експозиції
Печінка	2,20±0,13	3,00±0,25*	3,80±0,33*	4,10±0,38*
Скелетні м'язи	2,00±0,25	2,50±0,13*	2,80±0,13*	3,20±0,29*
Зябра	1,50±0,25	1,80±0,29	2,10±0,29*	2,60±0,33*
Головний мозок	20,00±0,63	21,20±0,37	22,20±0,49*	23,30±0,50*

Примітка. вірогідно щодо контрольної групи; * — $P < 0,05$

Найбільше зростання вмісту ХС спостерігається на 24 год. експозиції гіпобіозу: в печінці вміст ХС вірогідно збільшується в 1,86 раза ($P < 0,05$), в



скелетних м'язях — в 1,60 раза ($P<0,05$), в зябрах — в 1,73 раза ($P<0,05$) і в головному мозку — в 1,17 раза ($P<0,05$) в порівнянні з коропом в стані активної життєдіяльності. Враховуючи те, що холестерол входить до складу клітинних мембран [6, 20, 23] і відіграє роль модифікатора мембранного бішару, надаючи йому певну жорсткість за рахунок збільшення щільності «упаковки» молекул фосфоліпідів, зростання його вмісту у дослідних тканинах, можливо, супроводжується зменшенням плинності мембран, що свідчить про розвиток адаптаційних процесів в організмі.

Не менш важливим показником стану клітинної мембрани є ліпідний коефіцієнт Д'єрді (ХС/ФЛ). Відомо, що від величини цього показника залежить щільність «пакування» ліпідних молекул в мембрані, а також її рідинність і фазовий стан. Збільшення його значення призводить до збільшення мікров'язкості плазматичної мембрани і, відповідно, до зменшення її плинності і проникності [31, 32].

В стані активної життєдіяльності коропа коефіцієнт Д'єрді більший в головному мозку та скелетних м'язях, порівняно з печінкою і зябрами. Величина коефіцієнта ХС/ФЛ у печінці, скелетних м'язях, зябрах та головному мозку коропа за умов штучного вуглекислого гіпобіозу збільшується в порівнянні з коропом в стані активної життєдіяльності (табл. 4).

Таблиця 4. Коефіцієнт Д'єрді печінки, м'язової тканини, зябер, головного мозку лускатого коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу

Тканини	Стан активної життєдіяльності (контроль)	Стан штучного вуглекислотного гіпобіозу		
		3 год. експозиції	6 год. експозиції	24 год. експозиції
Печінка	0,028	0,038	0,047	0,050
Скелетні м'язи	0,033	0,041	0,045	0,051
Зябра	0,020	0,024	0,027	0,034
Головний мозок	0,079	0,084	0,087	0,092

Найбільше зростання коефіцієнта ХЛ/ФЛ спостерігається на 24 год. експозиції штучного вуглекислотного гіпобіозу: в печінці в 1,79 раза, в скелетних м'язях — в 1,55 раза, в зябрах — в 1,70 раза та в головному мозку — в 1,16 раза порівняно з коропом в стані активної життєдіяльності.

Збільшення коефіцієнта Д'єрді може свідчити про підвищення мікров'язкості клітинних мембран тканин коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Отримані результати досліджень свідчать, що вміст загальних ліпідів в печінці, скелетних м'язях, зябрах і головному мозку коропа в стані активної життєдіяльності суттєво відрізняється і залежить від типу тканини та інтенсивності метаболічних процесів.

Встановлено, що в досліджуваних тканинах коропа за умов штучно створеного вуглекислотного гіпобіозу вміст загальних ліпідів зменшується протягом всієї експозиції гіпобіозу, що свідчить про використання ліпідів в енергетичних та адаптаційних процесах. Найбільші зміни ліпідного складу



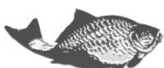
спостерігаються на 24 годину експозиції.

В печінці коропа на 24 годину експозиції гіпобіозу вміст ЗЛ зменшується на 8,6% ($P < 0,05$), вміст ФЛ зростає на 6,0% ($P < 0,05$), вміст ХЛ збільшується в 1,86 рази ($P < 0,05$), коефіцієнта ХЛ/ФЛ — в 1,79 раза порівняно зі станом активної життєдіяльності. В скелетних м'язах вміст ЗЛ зменшується на 6,9% ($P < 0,05$), вміст ФЛ зростає на 5,2% ($P < 0,05$), вміст ХЛ збільшується в 1,60 рази ($P < 0,05$), коефіцієнта ХЛ/ФЛ — в 1,55 раза. В зябрах коропа вміст ЗЛ зменшується на 4,8% ($P < 0,05$), вміст ФЛ зростає на 3,1%, вміст ХЛ збільшується в 1,73 рази ($P < 0,05$), коефіцієнта ХЛ/ФЛ — в 1,70 раза. В головному мозку зміни вмісту ЗЛ та ФЛ відсутні, але відмічено зростання вмісту холестеролу в 1,17 рази ($P < 0,05$) та збільшення коефіцієнта ХЛ/ФЛ — в 1,16 раза порівняно з коропом в стані активної життєдіяльності.

Виявлені зміни кількісного вмісту ліпідних фракцій в тканинах коропа можна пояснити участю ліпідів у перебудові системи реактивності організму під впливом факторів зовнішнього середовища та розвитком адаптаційних процесів. Враховуючи виявлені зміни у вмісті холестеролу і фосfolіпідів, це свідчить про важливість дослідження окремих фосfolіпідних фракцій та нейтральних ліпідів тканин коропа за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Measurement and seasonal variations of black bear adipose lipoprotein lipase activity / D. Herminghuysen, M. Vaughan, R. M. Pace [et al.] // *Physiology and Behavior*. — 1995. — Vol. 57, iss. 2. — P. 271—275.
2. Талпош В. С. Зоологія. Словник-довідник. Поняття, терміни / Талпош В. С. — Тернопіль : Навчальна книга-Богдан, 2000. — 240 с.
3. Тимофеев Н. Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее / Тимофеев Н. Н. — М. : Информ-Знание, 2005. — 256 с.
4. Денков В. Д. На грани жизни / Денков В. Д.; [пер. с болг. И. М. Сабуровой]. — М. : Знание, 1988. — 192 с.
5. Мельничук Д. О. Гіпобіоз тварин — молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини : монографія / Д. О. Мельничук, С. Д. Мельничук. — К. : НАУ, 2007. — 220 с.
6. Lovern J. A. The lipids of marine organisms / J. A. Lovern // *Oceanogr. Mar. Biol.* — 1964. — Vol. 2. — P. 169—191.
7. Guschina L. A. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms / L. A. Guschina, J. L. Harwood // *FEBS Lett.* — 2006. — Vol. 580, iss. 23. — P. 5477—5483.
8. Aloia R. S. Brain lipid composition of the hibernating & ground squirrel, *Citellus lateralis* / R. S. Aloia // *J. Therm. Biol.* — 1979. — Vol. 4, № 3. — P. 223—231.
9. Сабодаш В. М. Рыбоводство / Сабодаш В. М. — Д. : Издательство Сталкер, 2004. — 304 с.
10. Пат. 37303 Україна, 7 А01К63/02, А01К63/04, А01К61/00, G09В23/28. Спосіб переведення та зберігання риби в стані штучного гіпобіозу і установка для його здійснення / Мельничук С. Д., Мельничук Д. О., Терещенко С. В. — Опубл. 15.05.01, Бюл. № 4.
11. Фізіологія риб: практикум : навч. посіб. / [Дехтярьов П. А., Шерман І. М., Пилипенко Ю. В. та ін.]. — К. : Вища школа, 2001. — 128 с.
12. Манько В. В. Основи техніки лабораторних робіт у фізіологічних дослідженнях : навч. посіб. / Манько В. В., Гальків М. О., Клевець М. Ю. — Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2005. — 135 с.



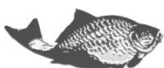
13. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Sloane-Stanley // *J. Biol. Chem.* — 1957. — Vol. 226. — P. 497—509.
14. Kates M. *Techniques of lipidology* / Kates M. — Amsterdam : Elsevier, 1986.
15. Рівіс Й. Ф. Кількісні хроматографічні методи визначення ліпідів і жирних кислот у біологічному матеріалі. Методичний посібник / Й. Ф. Рівіс, Р. С. Федорук. — Львів : СПЛОМ, 2010. — 109 с.
16. Копытов Ю. П. Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов / Ю. П. Копытов // *Экология моря.* — 1983. — Вып. 12. — С. 76—80.
17. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен : учеб. пособ. / Прохорова М. И. — Л. : Изд. ЛГУ, 1982. — 222 с.
18. Куліков А. Ю. Тонкошарова хроматографія: теоретичні основи та практичне використання : навчально-методичний посібник / Куліков А. Ю. — Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2011. — 260 с.
19. Петровский В. И. Экстракция, разделение и количественное определение липидных фракций сыворотки крови / В. И. Петровский, Т. И. Регеранд, Е. И. Лизенко // *Лабораторное дело.* — 1986. — № 6. — С. 339—343.
20. Engelbrecht F. M. Cholesterol determination in serum. A rapid direct method / F. M. Engelbrecht, F. Mori, I. T. Anderson // *S. A. Med. J.* — 1974. — Vol. 48. — P. 250—256.
21. Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // *Укр. биохим. журн.* — 1975. — Т. 47, № 6. — С. 776—790.
22. Климов А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева. — СПб. : Питер Ком, 1999. — 512 с.
23. Попова Е. М. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу / Е. М. Попова, І. В. Кошій // *Рибогосподарська наука України.* — 2007. — № 1. — С. 49—56.
24. Лав Р. М. Химическая биология рыб / Лав Р. М. — М. : Пищевая промышленность, 1976. — 349 с.
25. Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб / Строганов Н. С. — М. : Московский ун-т, 1962. — 443 с.
26. Коломийцева И. К. Липиды в гibernации искусственном гипобиозе млекопитающих: обзор / И. К. Коломийцева // *Биохимия.* — 2011. — Т. 76, № 12. — С. 1604—1614.
27. Крепс Е. М. Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира / Крепс Е. М. — Л. : Наука, 1967. — 74 с.
28. Сидоров В. С. Экологическая биохимия рыб. Липиды / Сидоров В. С. — Л. : Наука, 1983. — 240 с.
29. Меерсон Ф. З. Основные закономерности индивидуальной адаптации. Физиология адаптационных процессов / Меерсон Ф. З. — М. : Наука, 1986. — 76 с.
30. Bloom M. The evolution of membranes / M. Bloom, O. G. Mouritsen // *Can. J. Chem.* — 1988. — Vol. 66. — P. 706—712.
31. Finean J. Membrane — bound enzymes. Membrane structures / J. Finean, P. Michele // North. : Holland Biomed. Press, 1991. — P. 161—214.
32. Daleke D. L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry / D. L. Daleke // *J Lipid Res.* — 2003. — Vol. 44. — P. 233—242.

REFERENCES

1. Herminghuysen, D., Vaughan, M., Pace, R. M., Bagby, G., & Cook, C. B. (1995). Measurement and seasonal variations of black bear adipose lipoprotein lipase activity. *Physiology and Behavior.*, 57, 2, 271-275.



2. Talposh, V. S. (2000). *Zoolohiya. Slovnyk-dovidnyk. Ponyattya, terminy.* Ternopil' : Navchal'na knyha-Bohdan.
3. Tymofeev, N. N. (2005). *Gipobioz i kriobioz. Proshloe, nastoyashchee, budushchee.* Moskva : Inform-Znanie.
4. Denkov, V. D. (1988). *Na hrany zhyzny.* (Y. M. Saburovoy, Trans.). Moskva : Znanie.
5. Mel'nychuk, D. O., & Mel'nychuk, S. D. (2007). *Hipobioz tvaryn – molekulyarni mekhanizmy ta praktychne znachennya dlya sil's'koho hospodarstva i medytsyny: monohrafiya.* Kyiv : NAU.
6. Lovern, J. A. (1964). The lipids of marine organisms. *Oceanogr. Mar. Biol.*, 2, 169-191.
7. Guschina, L. A., & Harwood, J. L. (2006). Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. *FEBS Lett.*, 580, 23, 5477-5483.
8. Aloia, R. S. (1979). Brain lipid composition of the hibernating & ground squirrel, *Citellus lateralis.* *J. Therm. Biol.*, 4, 3, 223-231.
9. Sabodash, V. M. (2004). *Rybovodstvo.* Donetsk : Izdatel'stvo Stalker.
10. Mel'nychuk, S. D., Mel'nychuk, D. O., & Tereshchenko, S. V. (2001). Pat. 37303 Ukrayina, 7 A01K63/02, A01K63/04, A01K61/00, G09V23/28 *Sposib perevedennya ta zberihannya ryby v stani shtuchnoho hipobiozu i ustanova dlya yoho zdiysnennya.* Ukraine Patent № 37303.
11. Dekhtyar'ov, P. A., Sherman, I. M., & Pylypenko, Yu. V. et al. (2001). *Fiziolohiya ryb : Praktykum : navch. posib.* Dekhtyar'ov P. A. (Ed.). Kyiv : Vishha shkola.
12. Man'ko, V. V., Hal'kiv, M. O., & Klevets', M. Yu. (2005). *Osnovy tekhniky laboratornykh robit u fiziolohichnykh doslidzhennyakh: Navchal'nyy posibnyk.* L'viv : LNU imeni Ivana Franka.
13. Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
14. Kates, M. (1986). *Techniques of lipidology.* Amsterdam : Elsevier.
15. Rivis, J. F., & Fedoruk, R. S. (2010). *Kil'kisni khromatografichni metody vyznachennya lipidiv i zhirnykh kislot u biologichnomu materialy. Metodychnyi posibnyk.* L'viv : SPOLOM.
16. Kopytov, Yu. P. (1983) Novyi variant tonkoslojnoj hromatografii lipidov. *Ekologia moria*, 12, 76-80.
17. Prokhorova, M. I. (1982). *Metody biokhimicheskikh issledovaniy: lipidnyy i energeticheskyy obmen: uchebnoe posobie.* Leningrad : LGU.
18. Kulikov, A. Yu. (2011). *Tonkosharova khromatografiya: teoretychni osnovy ta praktychne vykorystannya: navchalno-metodychnyj posibnyk.* Kharkiv : KhNU imeni V. N. Karazina.
19. Petrovskiy, V. I., Regerand, T. I., & Lizenko, E. I. (1986) Ekstraktsiya, rozdelenie i kolichestvennoe opredelenie lipidnykh fraktsiy syvorotki krovi. *Laboratornoe delo*, 6, 339-343.
20. Engelbrecht, F. M., Mori, F., & Anderson, I. T. (1974). Cholesterol determination in serum. A rapid direct method. *S. A. Med. J.*, 48, 250-256.
21. Kokunyn, V. A. (1975). Statystycheskaya obrabotka dannykh pry malom chysle opytov. *Ukr. byokhym. zhurn.*, 47, 6, 776-790.
22. Klymov, A. N., & Nykul'cheva, N. H. (1999). *Obmen lipidov i lipoproteidov i ego narusheniya.* Sankt-Peterburg : Piter Kom.
23. Popova, E. M., & Koshchiiy, I. V. (2007). Lipidy yak komponent adaptatsiyi ryb do ekolohichnoho stresu. *Rybohospodars'ka nauka Ukrayiny*, 1, 49-56.
24. Lav, R. M. (1976). *Khimicheskaya biologiya ryb.* Moskva : Pyshecheyaya promyshlennost'.



25. Strohanov, N. S. (1962). *Ekolohycheskaya fyzyolohyya ryb*. Moskva : Izd-vo Moskovskogo universiteta.
26. Kolomyytseva, Y. K. (2011). Lipidy v gibernatsii, iskusstvennom gipobioze mlekopitayushchikh: obzor. *Biokhimiya*, 76, 12, 1604-1614.
27. Kreps, E. M. (1967). *Fosfolipidy kletochnykh membran nervnoy sistemy v razvitii zhivotnogo mira*. Leningrad : Nauka.
28. Sidorov, V. S. (1983). *Ekologicheskaya byiokhimiya ryb. Lipidy*. Leningrad : Nauka.
29. Meerson, F. Z. (1986). *Osnovnye zakonomernosti individual'noy adaptatsii. Fiziologiya adaptatsionnykh protsessov*. Moskva : Nauka.
30. Bloom, M., & Mouritsen, O. G. (1988). The evolution of membranes. *Can. J. Chem.*, 66, 706-712.
31. Finean, J., & Michele, P. (1991). *Membrane – bound enzymes. Membrane structures*. North. : Holland Biomed. Press, 161-214.
32. Daleke, D. L. (2003). Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J Lipid Res.*, 44, 233-242.

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ ЧЕШУЙЧАТОГО КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО УГЛЕКИСЛОТНОГО ГИПОБИОЗА

С. В. Сысолятин, sergiy_sv@ukr.net, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев

Цель. Установить и сравнить липидный состав печени, скелетных мышц, жабр и головного мозга чешуйчатого карпа в состоянии активной жизнедеятельности и в условиях искусственного углекислотного гипобиоза.

Методика. Опыты проводились на украинской чешуйчатой породе карпа (*Cyprinus carpio L.*) весом 250–270 г. Для проведения исследований сформировано две группы (контрольная — 5 экземпляров рыб и экспериментальная — каждая точка экспозиции гипобиоза по 5 экземпляров рыб). Введение рыбы в гипобиотическое состояние проводили, используя запатентованную модель искусственного гипобиоза. Отбор материала осуществляли путем вскрытия рыбы первой (контроль) и второй групп (на третьем, 6-м 24-м часу экспозиции), с последующим замораживанием и хранением в жидком азоте. Экстракцию липидов после гомогенизации тканей головного мозга, печени, жабр и скелетных мышц проводили по методу Фолча. Содержание общих липидов (по навеске сухого остатка) после извлечения определяли с помощью гравиметрического метода.

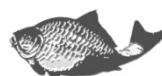
Разделение липидов на отдельные фракции проводили методом восходящей одномерной тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol». Количественное определение общих фосфолипидов — гидроксаматным методом; холестерина — колориметрическим методом с треххлорным железом.

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. Полученные результаты исследования свидетельствуют, что содержание общих липидов, фосфолипидов и холестерина в тканях карпа в состоянии активной жизнедеятельности существенно отличается.

Установлено, что содержание общих липидов в печени, скелетных мышцах, жабрах и головном мозге карпа в условиях введения в состояние искусственного углекислотного гипобиоза (гипоксо-гиперкапнической среды) уменьшается в сравнении с контролем. В этих условиях отмечены незначительный рост в тканях содержания фосфолипидов, а также достоверное повышение содержания холестерина и величины коэффициента ХЛ/ФЛ, особенно в печени, что свидетельствует об использовании липидов в энергетических и адаптационных процессах.

Научная новизна. Исследован липидный состав печени, скелетных мышц, жабр и



головного мозга карпа в состоянии активной жизнедеятельности и в условиях искусственного углекислотного гипобиоза. Установлено, что содержание общих липидов в исследованных тканях карпа в течение всей экспозиции искусственного углекислотного гипобиоза уменьшается, что свидетельствует об использовании липидов в энергетических процессах. Рост содержания фосфолипидов и холестерина в тканях карпа в условиях искусственного углекислотного гипобиоза свидетельствует об активизации адаптационных механизмов в его организме.

Практическая значимость. Полученные результаты дают возможность оценить перераспределение липидов в тканях организма рыб, обусловленное изменениями условий внешней среды (искусственный углекислотный гипобиоз).

Ключевые слова: карп, искусственный углекислотный гипобиоз, липиды, фосфолипиды, холестерол.

THE LIPID COMPOSITION OF TISSUE OF SCALY CARP (*CYPRINUS CARPIO L.*) IN THE CONDITIONS OF ARTIFICIAL CARBON HIBERNATION

S. Sysolyatin, sergiy_sv@ukr.net, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

Purpose. To establish and compare the content of the total lipids in liver, skeletal muscles, gill and brain of scaled carp in the state of active life functions and under artificial carbon dioxide hibernation.

Methodology. The experiments were conducted using Ukrainian scaled carp (*Cyprinus carpio L.*) with a weight of 250–270 g. Two groups (control group — 5 fish and experimental group — 5 fish for each hypobiosis point). Fish were induced in hypobiotic state by using a patented model of artificial hibernation. The collection of material was performed by dissecting fish of the first (control) and second groups (6 and 24 hours of exposition), then it was frozen and stored in liquid nitrogen. Lipid extraction after homogenization of brain tissue, liver, skeletal muscles and gills was performed according to Folch. The content of the total lipids (based on the weight of dry residue) after extraction was determined using gravimetric method.

The separation of lipids to individual lipid fractions was performed by thin layer chromatography using "Silufol" plates. Quantitative determination of total phospholipids was performed by hydroxamate method; cholesterol by colorimetric method with three ferric chlorides.

All the results were treated by variation-statistical method using a Student's t-test.

Findings. The obtained results suggest that the content of total lipids, phospholipids and cholesterol in the tissues of carp pond are significantly different state of active life functions.

The content of the total lipids in liver, skeletal muscles, gills and brain in carp in the state of artificial carbon dioxide hibernation (hypoxo-hypercapnic medium) is reduced in comparison with the control. Under these conditions, a slight increase in tissue phospholipids, as well as a significant increase in cholesterol and CL/PL coefficient, especially in liver was noted that indicated the use of lipids in energy and adaptation processes.

Originality. We examined lipid composition in liver, skeletal muscles, gill and brain of carp in the state of active life functions and in the conditions of carbon dioxide hibernation. The content of total lipids in fish tissues of the experimental group declines during the artificial carbon dioxide hibernation that indicates on the use of lipids in energy processes. An increase in phospholipid and cholesterol content in carp tissues in the conditions of artificial carbon dioxide hibernation leads to the development of the adaptation of fish organism to the environment.

Practical value. The obtained results allow assessing the redistribution of lipids in fish tissue due to changes in environmental conditions (artificial carbon dioxide hibernation).

Keywords: carp, artificial carbon hibernation, lipids, phospholipids, cholesterol.

