

ВПЛИВ ГЕРБИЦИДІВ НА ПРОМІЖНИЙ ОБМІН ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА

Досліджувався проміжний обмін ліпідів коропа лускатого за умов впливу гербицидів. При дії гербицидів різної хімічної будови спостерігалися зміни вмісту фосфоліпідів, холестерину і його ефірів, вільних жирних кислот та тригліцеридів в крові, жовчі та тканині печінки коропа, що вказує на можливі порушення в процесах їх біосинтезу та транспорту через плазматичну мембрану гепатоцитів.

Ключові слова: фракції ліпідів, гербициди, проміжний обмін

Изучался межуточный обмен липидов карпа чешуйчатого при воздействии гербицидов. При воздействии гербицидов разного химического строения наблюдались изменения в содержании фосфолипидов, холестерина и его эфиров, свободных жирных кислот и триглицеридов в крови, желчи и тканях печени карпа, что указывает на возможные нарушения процессов их биосинтеза и транспорта через плазматическую мембрану гепатоцитов.

Ключевые слова: фракции липидов, гербициды, межуточный обмен

Interstitial Exchange of Lipids in Scaly Carp in Herbicides Action. Interstitial exchange of lipids in herbicides of different chemical structure action was studied in scaly carp. The changes in phospholipids, cholesterol and its ethers, free fatty acids and threeglycerols content in blood, bile and liver tissue were observed. It may testify in favour of some disturbances of the processes of their biosynthesis and transport through the membrane of hepatic cells.

Key words: lipids, lipid's component, herbicides.

Ліпіди в організмі тварин представлені неоднорідною групою органічних сполук для котрих характерною є низька їх розчинність у воді. Разом з тим, окремі фракції ліпідів відіграють важливу роль в біологічних рідинах, обумовлюючи певні фізико-хімічні характеристики створеної за їх участю системи та активно впливаючи на колоїдостійкість жовчі та крові. В механізмах, які підтримують гомеостатичні характеристики крові, включаючи і участь ліпідів, вирішальне значення має діяльність печінки [1].

Цьому ж органу належить головна роль і в детоксикації ксенобіотиків. В залежності від хімічної будови останніх, в процесі їх перетворення можуть

залучатися різні ланки обміну речовин, в тому числі пов'язані з обміном ліпідів. Це знаходить часткове підтвердження в попередніх дослідженнях, спрямованих на вивчення обміну ліпідів в організмі коропа при дії раундапа та зенкора [2]. Було встановлено, що під дією даних гербіцидів змінюється активність ліпази та рівень сумарних ліпідів в окремих тканинах коропа. Проте, залишається нез'ясованим питання про особливості проміжного обміну основних фракцій ліпідів в організмі коропа за умов перебування його в середовищі з підвищеним рівнем окремих гербіцидів.

Матеріали та методи дослідження.

Об'єктом дослідження слугував лускатий короп-дворічка (*Syrpinus carpio* L.) масою 210-245 г. Рівень досліджуваних гербіцидів задавали у 200-літрових акваріумах з розрахунку 0,08 мг/дм³ для раундапа (гліфосата) та 0,4 мг/дм³ зенкора, що дорівнює чотирьом гранично допустимим концентраціям (ГДК) для риб. Дослід проводився в осінньо-зимовий період впродовж 14 діб при температурі води в межах 8-10°C.

Відбір досліджуваних проб біорідин та тканин для визначення вмісту речовин ліпідної природи проводили за методикою, розробленою в лабораторії [3]. Екстракцію загальних ліпідів з підготовлених проб проводили за допомогою однофазної системи органічних розчинників: хлороформ-ацетон-етанол у співвідношенні 7:2:1. Основні фракції ліпідів визначали в препаратах загальних ліпідів, отриманих з проб крові, міхурової жовчі та безпосередньо з тканини печінки риб за допомогою методу тонкошарової хроматографії [4]. Цей метод дозволяє в мікропробах біоматеріала виявити, ідентифікувати та кількісно визначити безпосередньо на хроматограмах такі складові як фосфоліпіди, вільний та ефірозв'язаний холестерин, неетерифіковані жирні кислоти та тригліцериди. Це забезпечується особливою методикою підготування біопроб коропа для визначення даного класу метаболітів у поєднанні з хроматографією на пластинах Sylufol (Чехословачія) при використанні найчастіше вживаної

системи розчинників, котра включає гексан, диетиловий ефір та концентровану льодяну оцтову кислоту в об'ємному співвідношенні 76:23:1.

Кількісну оцінку ліпідів проводили за допомогою прямої денситометрії (ДО–1М) у відповідності до калібрувальних кривих, побудованих з використанням чистих стандартних речовин. Денситометрія окремих фракцій ліпідів здійснювалась після фарбування хроматограм комплексним барвником, який містив 15 мл льодяної оцтової кислоти, 1 г фосфорномолібденової кислоти, 1 мл концентрованої сірчаної кислоти та 5 мл 50%-ного водного розчину трихлороцтової кислоти.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою аналітичного пакета «Statistika-6», використовуючи t критерій Стьюдента для даних, які мали нормальний розподіл згідно критерію Шапіро-Уїлка.

Результати та їх обговорення

Перебування коропа впродовж 14 діб у акваріумі із заданими концентраціями гербіцидів призводило до суттєвих змін в обміні та розподілі окремих фракцій ліпідів між різними біорідинами та тканиною печінки. Зокрема, концентрація домінуючої фракції, фосфоліпідів, у тканині печінки коропа при дії зенкора та раундапа зростала відповідно на 21,8% та 57,9% ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольними тваринами (Табл.1). Одночасно концентрація фосфоліпідів зростала під дією зенкора в крові на 26,1% ($p < 0,05$) та 27,7% ($p < 0,05$) в жовчі. Майже протилежний ефект обумовлював раундап, який достовірно знижував на 25,4% ($p < 0,05$) концентрацію фосфоліпідів у жовчі і значно менше в крові (3,9%). Останнє свідчить, що даний препарат знижує ефективність роботи транспортних систем мембран гепатоцитів, які забезпечують транслокацію фосфоліпідів із внутрішньоклітинного простору гепатоцитів у канікулярному та синусоїдальному напрямках.

Своєрідні зміни реєструвались в обміні та, особливо, етерифікації холестерину в організмі коропа при дії досліджуваних гербіцидів. Так, під впливом зенкора рівень етерифікованого холестерину в тканині печінки риб

Концентрація основних фракцій ліпідів в біорідинах та в тканині печінки коропа (в мг%) при дії гербіцидів

Варіант досліджу		ФЛ	ХЛ	ВЖК	ТГ	ЕфХЛ	загальні ліпіди
кров							
контроль	М	359,8	68,7	41,4	108,2	78,6	656,7
	m	11,9	3,8	2,3	6,3	3,4	27,2
зенкор	М	453,6*	86,7	32,6	56,5*	104,6*	734,1*
	m	14,6	4,5	1,8	3,2	4,7	34,4
раундап	М	345,9	51,5	128,8*	47,8*	98,4	672,4
	m	9,5	2,9	6,5	2,9	4,3	29,8
жовч							
контроль	М	182,9	47,8	37,9	32,6	12,8	313,8
	m	7,4	2,1	1,8	1,8	0,9	11,9
зенкор	М	233,6*	42,5	68,7*	14,6*	8,3*	367,7
	m	9,2	2,3	2,7	1,2	0,5	14,6
раундап	М	136,1*	45,2	63,2*	41,4	15,5	301,4
	m	6,5	1,8	2,3	2,1	1,2	12,8
печінка							
контроль	М	1983,8	201,8	81,8	318,3	131,8	2717,5
	m	64,9	8,3	4,3	14,6	5,6	92,9
зенкор	М	2416,3*	232,4	92,9	285,6	221,6*	3248,8*
	m	72,2	9,2	5,2	12,8	8,3	121,7
раундап	М	3132,4*	196,5	72,2	421,4*	171,2*	3993,7*
	m	83,8	7,4	3,8	18,2	6,5	142,4

Примітка: * - $P < 0,05$; (n=27)

ФЛ – фосфоліпіди; ХЛ – холестерин; ВЖК – вільні жирні кислоти; ТГ – тригліцериди; ЕфХЛ – ефіри холестерину

зріс на 68,1% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. При цьому спостерігалось підвищення його концентрації на 33,1% ($p < 0,05$) в крові з одночасним зниженням етерифікованого холестерину у жовчі на 35,2% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами. При дії раундапа рівень етерифікованого холестерину зростав як у тканині печінки на 29,9% ($p < 0,05$), так і в крові на 25,2% і жовчі на 21,9%.

Слід зазначити, що під впливом зенкора концентрація вільного холестерину також незначно зростала в тканині печінки (на 15,2%) при одночасному зниженні його рівня в жовчі (на 11,1%) та значному зростанні цього метаболіта в крові на 26,2% у порівнянні з показниками в контролі. Раундап практично не впливав на рівень вільного холестерину в тканині печінки та жовчі і лише в крові знизив його концентрацію на 25,1% ($p < 0,05$).

Відомо, що основна маса холестерину, необхідного для ендогенних потреб організму, синтезується безпосередньо в печінці тварин, а виявлене нами значне підвищення його концентрації в цій тканині, особливо в етерифікованій формі, не стільки свідчить про посилений біосинтез, а скоріше всього є наслідком блокування його подальших перетворень у жовчні кислоти. Суттєве зниження рівня останніх, в тому числі у жовчі, ми спостерігали у попередніх дослідженнях при з'ясуванні особливостей впливу раундапа і зенкора на жовчнокислотний обмін в організмі коропа (5).

Жирні кислоти інтенсивно використовуються організмом тварин для біосинтезу ефірів холестерину, тригліцеридів, фосфоліпідів та в енергетичному обміні (6,7). Проведені нами дослідження показали, що рівень жирних кислот в тканині печінки коропа значно не відрізнявся в даних експериментах, в той час як у жовчі концентрація даних метаболітів зросла на 81,2% ($p < 0,05$) при дії зенкора та на 66,6% ($p < 0,05$) під впливом раундапа. Під дією останнього концентрація жирних кислот в крові коропа зросла в три рази ($p < 0,05$) з одночасним зниженням удвічі ($p < 0,05$) концентрації тригліцеридів в цій біорідині. По-іншому складалось співвідношення у крові між рівнем вільних жирних кислот та тригліцедами за умов впливу на

організм коропа зенкора. Останній знижував в цій біорідині концентрацію як вільних жирних кислот на 21,3%, так і ще більше тригліцеридів на 47,8% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними показниками. При дії цього препарата концентрація тригліцеридів у жовчі піддослідних риб також знизилась на 55,1% ($p < 0,05$).

Отримані за допомогою тонкошарової хроматографії дані дозволили нам більш повно охарактеризувати особливості проміжного обміну окремих фракцій ліпідів в організмі коропа при навантаженні їх організму зенкором та раундапом. Різноманітність реакцій, а в ряді випадків явно протилежні ефекти у впливі досліджуваних чинників на зміни рівня окремих фракцій ліпідів у біологічних рідинах та тканині печінки при визначенні лише сумарного вмісту ліпідів могла б не виявлятися. Останнє підтверджується аналізом змін загальної концентрації даних метаболітів в досліджуваних тканинах при дії даних гербіцидів. Зміни в сумарному вмісті ліпідів у жовчі коропа були не вірогідними, а в крові достовірними лише при дії зенкора. Найбільш вагомими змінами були в тканині печінки, де обидва препарати суттєво підвищували концентрацію загальних ліпідів (Табл. 1).

Порівнюючи вплив різних за хімічною будовою гербіцидів на співвідношення окремих фракцій ліпідів в тканинах коропа слід зазначити, що кожен з апробованих чинників виявляв характерний для нього вплив на тканинспецифічний розподіл основних фракцій ліпідів та деякі особливості їх обміну. Ця відмінність проявлялась вже на розподілі основних фракцій фосфоліпідів, незважаючи на те, що раундап найбільш вагомо підвищував їх вміст в тканині печінки, але на відміну від зенкора він сприяв зниженню їх рівня у жовчі і, частково, у крові порівняно з контролем. Можна припустити, що раундап змінює функціональний стан мембран гепатоцитів і гальмує трансмембранний транспорт як на канікулярній, так і на синусоїдальній мембрані. Разом з тим, цей препарат не впливав на трансмембранний транспорт з гепатоцитів ефірозв'язаного холестерину, сприяючи помірному підвищенню його рівня в тканині печінки, крові та жовчі, в той час як зенкор

виражено гальмував процес переносу ефірозв'язаного холестерину з гепатоцита у жовч.

Протилежний вплив справляли досліджувані препарати на співвідношення вільних жирних кислот та тригліцеридів в тканині печінки, в крові та жовчі. Зокрема, якщо в печінці раундап частково знижував рівень вільних жирних кислот та суттєво підвищував біосинтез тригліцеридів, то зенкор підвищував концентрацію вільних жирних кислот одночасно з незначним зниженням рівня тригліцеридів. У крові ж зміни в цих співвідношеннях при дії досліджуваних препаратів стали явно протилежними, що вказує на різнонаправлений їх вплив на перебіг процесів в ліпідному обміні. Слід підкреслити, що обмін жирних кислот та тригліцеридів тісно пов'язаний з енергозабезпеченням організму в процесі його адаптації до змінених умов існування (8). І цілком ймовірно, що виявлені нами зміни у співвідношеннях даних фракцій ліпідів в тканинах та жовчі коропа є наслідком запуску різних механізмів енергозабезпечення організму під впливом раундапа і зенкора.

Таким чином, перебування дворічного коропа у водному середовищі з підвищеним вмістом зенкора та раундапа обумовлювало суттєві перебудови в ліпідному обміні. Зенкор та раундап справляють головним чином різнонаправлені ефекти на вміст фосфоліпідів, вільного та етерифікованого холестерину, вільних жирних кислот та тригліцеридів в тканині печінки та біологічних рідинах.

Література

1 Галлер Г. Нарушения липидного обмена: Диагностика, клиника, терапия: Пер. с нем. / Г.Галлер, М.Ганефельд, В.Яросс. – М.: Медицина, 1979. – 327с.

2. Міщенко Т.В. Зміни вмісту холестеролу та активності ліпази в організмі коропа різного віку як показники токсичного впливу гербіциду зенкор / Т.В.Міщенко, А.О.Жиденко // Озера та штучні водойми України: сучасний стан й антропогенні зміни: Матер. І Міжн. наук. – практ. конф., 22 – 24 травня 2008р. – Луцьк: РВВ „Вежа” Волинського нац. ун-ту імені Лесі Українки, 2008р. – С.360 - 363

3. Патент 99031324 Україна, МБІ А61В5/14 Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: Пат. 99031324 Україна, МБІ А61В5/14/ С.П.Весельський, П.С.Лященко, С.І.Костенко, З.А.Горенко, Л.Ф.Куровська (Україна) – № 33564А; Заявл. 05.10.99; Опубл. 15.02.2001, Бюл. №1.

4. Петровский В.И. Экстракция, распределение и количественное определение липидных фракций сыворотки крови / В.И.Петровский, П.И.Регеранд, Е.И.Лизенко // Лаб. дело. – 1986, № 6. – С.339 – 343.

5. Полетай В. Особливості проміжного обміну жовчних кислот в організмі коропа при дії пестицидів. Полетай В., Жиденко А., Весельський С., Макарчук М. Вісник КНУ ім.Тараса Шевченка. Сер. Біологія.2010, №55.С.4-7.

6. Романенко В.Д. Печень и регуляция межуточного обмена (млекопитающие и рыбы) / В.Д. Романенко. – К., «Наук.думка», 1978. – 184с.

7. Минюк Г.С. Черноморский шпрот (связь динамики липидов с биологией и промыслом) / Г.С. Минюк, Г.Е. Шульман, В.Я. Щепкин, Т.В.Юнева. – Севастополь: „ЭКОСИ-Гидрофизика”, 1997. – 137с.

8. Жиденко А.О. Морфологічні адаптації різновікових груп *Surginus carpio* L. за несприятливої дії екологічних факторів: Автореферат дис. ... д-ра біол. Наук / А.О.Жиденко. – Одеса, 2009. – 40с.