

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩИХ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ ЛИПАЗЫ В НЕКОТОРЫХ ТКАНЯХ КАРПА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КСЕНОБИОТИКОВ

М. Г. ЯЧНАЯ, О. П. ТРЕТЯК

Национальный университет «Черниговский колледж» имени Т. Г. Шевченко
г. Чернигов, Украина, 14000

(Поступила в редакцию 03.01.2019)

*Повышение антропогенного воздействия на водную среду в наше время приобретает характер угрозы. В первую очередь это представляет опасность гидробионтам. Изучение адаптации гидробиологических организмов к токсическим факторам окружающей среды является одной из основных проблем современной науки. В связи с этим актуальным является изучение липидного и энергетического обмена рыб. Известно, что эти процессы принимают активное участие в механизмах защиты организмов от токсикантов. Изучена активность ферментов и содержание общих липидов в тканях и крови двухлеток карпа (*Cyprinus carpio*) под влиянием токсикантов различной природы и концентрации. Обнаружена обратная зависимость между содержанием липидов и активностью фермента.*

Ключевые слова: липидный и энергетический обмен, общие липиды, карп, кровь, мозг, печень, мышцы, жабры, фосфаты, фосфонаты, лаурилсульфат натрия.

*Increased anthropogenic impact on the aquatic environment in our time is becoming a threat. First of all, it represents a danger to hydrobionts. The study of the adaptation of hydrobiological organisms to toxic environmental factors is one of the main problems of modern science. In this regard, the study of lipid and energy metabolism of fish is relevant. It is known that these processes take an active part in the mechanisms of protection of organisms from toxicants. The activity of enzymes and the content of general lipids in the tissues and blood of two-year-old carp (*Cyprinus carpio*) under the influence of toxicants of different nature and concentration were studied. An inverse relationship between lipid content and enzyme activity was found.*

Key words: lipid and energy metabolism, general lipids, carp, blood, brain, liver, muscles, gills, phosphates, phosphonates, sodium lauryl sulfate.

Введение

В последние годы масштабы антропогенного воздействия на водные экосистемы приобретают угрожающий характер. Загрязнение водоемов поверхностно-активными веществами (ПАВ) – один из самых распространенных видов антропогенного прессинга. В связи с этим изучение метаболических реакций организмов и тканей гидробионтов на интоксикацию различными соединениями фосфора привлекает особое внимание [8].

Адаптация к стресс-факторам среды включает молекулярные и биохимические механизмы приспособления к различным, иногда экстремальным условиям существования. Чрезвычайно высокая адаптационная пластичность у рыб вызывает определенный интерес, что обусловлено еще и их широким видовым разнообразием [5].

Изменения условий водной среды вызывают в первую очередь изменение содержания метаболитов. Их накопление, а также различные биохимические особенности трансформации во многом определяют выживаемость и успешное воспроизведения популяций. Также это свидетельствует об общем уровне адаптивных возможностей гидробионтов.

Липиды, благодаря своей структурной гетерогенности, являются наиболее информативными показателями процесса адаптации. Они играют важную роль в развитии адаптивных реакций рыб за счет различия в строении и выполняемых функциях. Реакция гидробионтов на степень и характер техногенного загрязнения может варьировать от неспецифического ответа, носящего адаптивный характер, до патологических изменений, вплоть до гибели организма [9]. В связи с этим изучение особенностей обмена липидов в крови и тканях гидробионтов в условиях загрязнения воды токсическими веществами различной концентрации становится все более актуальным.

Целью данной работы было исследование токсического воздействия поверхностно-активных веществ на активность липазы и содержание общих липидов в тканях и крови карповых рыб.

Эксперименты были проведены на двухлетках карпа (*Cyprinus carpio* L.), выращенных в ОАО «Чернигов рыбхоз» с массой тела от 300 до 500 г. Опыты на животных выполняли в соответствии с принципами Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Рыбы содержались в течение 14 дней в 200-литровых аквариумах с отстоянной аэрируемой водопроводной водой: рН – $7,6 \pm 0,3$, содержание кислорода – $5,4 \pm 0,5$ мг/л, при температуре окружающей среды. Рыб в аквариумах размещали из расчета 40 л воды на одну особь. В опытных аквариумах поддерживали концентрацию фосфатов и фосфонатов на уровне 2 и 5 предельно допустимых концентраций (ПДК), а также лаурилсульфат натрия – 2 ПДК. Контрольная группа рыб содержалась в аквариумах без добавления поллютантов.

Активность липазы в тканях и крови карпа определяли по Гольдштейну и Рою. Количество общих липидов в крови и тканях карпа определяли с сульфифосфованилиновым реактивом (по Цёлнеру-Киршу) [6].

Для исследования активности фермента и уровня общих липидов в тканях использовали гомогенат на 0,22 М сахарозе в соотношении 1:10.

Известно, что липиды используются в качестве источника энергии и при адаптивных перестройках метаболизма и структурных компонентов клетки. Поэтому количество общих липидов в крови и тканях гидробионтов позволяет судить об активности анаболических процессов и мобилизации липидов [4]. Как видно из результатов, представленных на рис. 1, общее содержание липидов в крови карпа при действии ксенобиотиков различной концентрации изменяется в зависимости от повышения концентрации токсиканта, а также от характера и силы его токсического воздействия.

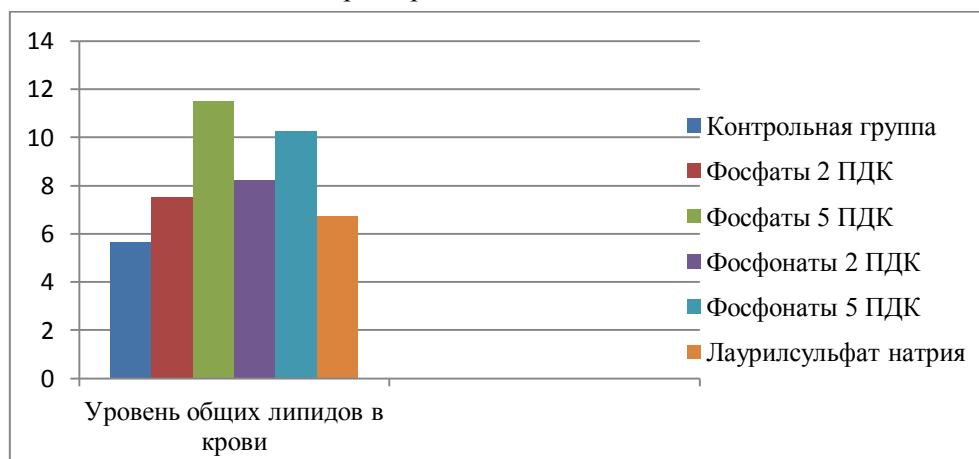


Рис. 1. Уровень общих липидов в крови рыб при действии токсикантов различной концентрации, г/л (M±m, n=5)

Исходя из рисунка, видно, что уровень общих липидов в крови возрастает под влиянием всех, без исключения, токсикантов. При воздействии фосфатов это проявляется в большей мере (2 и 5 ПДК). Наблюдаются изменения уровня общих липидов до $7,51 \pm 0,63$ г/л и $11,48 \pm 0,12$ г/л соответственно, в сравнении с контрольной группой, где количество общих липидов составляет $5,63 \pm 0,58$ г/л. Влияние же фосфонатов в тех же предельно допустимых концентрациях проявляет ту же тенденцию. Например, при концентрации фосфонатов 2ПДК мы видим, что уровень общих липидов составляет $8,23 \pm 0,98$, в то время как при 5ПДК уровень повышается до $10,27 \pm 1,84$ г/л. Действие лаурилсульфата натрия также приводит к незначительному повышению количества общих липидов по сравнению с контролем и составляет $6,73 \pm 0,92$ г/л.

Известно, что одними из главных факторов распределение липидов в тканях и органах являются условия среды, двигательная активность, возраст и принадлежность к определенной экологической группе водных организмов. Липидный обмен у рыб играет важную роль в процессах адаптации к действию экстремальных факторов окружающей среды [7]. Уровень общих липидов в мышечной ткани карпа снижается в зависимости от концентрации токсиканта, а также характера его воздействия на организм. Снижение уровня липидов в скелетной мускулатуре, возможно, связано с усилением мобилизации липидов в условиях развивающейся интоксикации ксенобиотиками. Это состояние можно квалифицировать как состояние катаболического стресса [2].

Жабры являются одним из основных органов гидробионта, которые непосредственно взаимодействуют с токсикантами в водной среде. Они первыми принимают на себя токсическое давление, это приводит к понижению уровня общих липидов, что можно считать наиболее показательным для этой ткани. Картина распределения липидов в жабрах для изучаемых токсикантов очень сходна с таковой для мышечной ткани.

По содержанию общих липидов печень является наиболее показательным органом. Максимальное количество общих липидов в печени рыб можно объяснить тем, что здесь происходит наиболее активный синтез структурных липидов. Нарушения функционального состояния печени влияют и на адаптационные возможности организма в целом, снижая его резистентность к воздействию различных факторов окружающей среды. Увеличение же уровня активности липазы печени подтверждает очень важную роль печени в метаболизме гидробионтов [1].

Адаптивные перестройки организма рыб в ответ на токсическое воздействие затронули и мозг подопытных рыб (рис. 2).

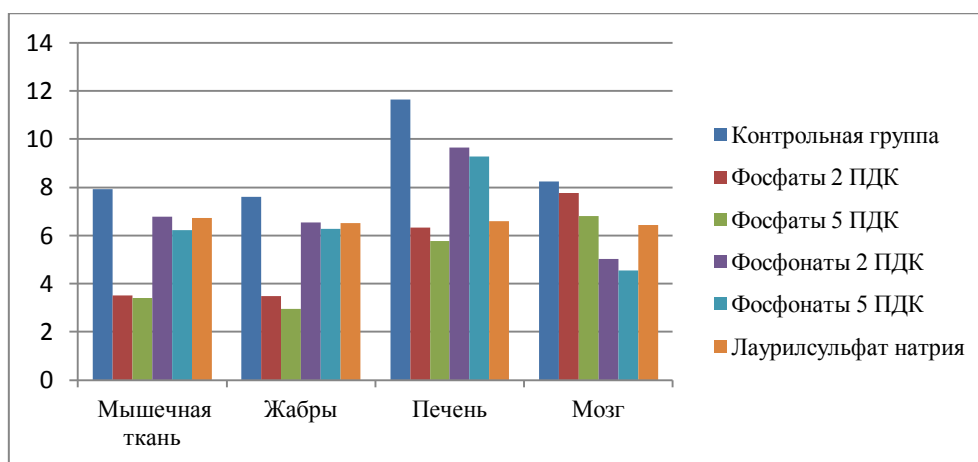


Рис 2. Уровень общих липидов в тканях и органах рыб при воздействии токсикантов различной концентрации, г/л ($M \pm m$, $n=5$)

Как видно из рис. 2, наблюдается тенденция к снижению уровня общих липидов в мышечной ткани карпа при воздействии фосфатов, фосфонатов различной концентрации, а также лаурилсульфата натрия. Количество общих липидов в контрольной группе составило $7,91 \pm 0,63$ г/л. При действии фосфатов в концентрации 2 и 5 ПДК, их содержание снизилось до $3,52 \pm 0,36$ г/л и $3,41 \pm 0,42$ г/л соответственно. Также сходные изменения показателей общих липидов наблюдались и в случае воздействия фосфонатов. Отмечено, что при действии выбранных токсикантов уровень общих липидов снижается, хотя в случае фосфонатов он минимален по сравнению с контрольной группой. Так, при действии фосфонатов в концентрации 2 и 5 ПДК содержание липидов составляет – $6,77 \pm 0,61$ г/л и $6,22 \pm 1,05$ г/л. Влияние лаурилсульфата натрия на мышечную ткань характеризуется пониженным количеством общих липидов – $6,72 \pm 0,07$ г/л.

Данные, представленные на рис. 2, свидетельствуют о том, что при действии фосфатов на жабры в концентрациях 2 и 5 ПДК уменьшение количества общих липидов максимально по сравнению с контролем. Так, уровень общих липидов в контрольной группе составил $7,61 \pm 1,06$ г/л, в то время как под влиянием фосфатов снизился до $3,48 \pm 0,23$ г/л и $2,94 \pm 0,23$ г/л соответственно (2 и 5 гранично допустимым концентрациям). Для фосфонатов и лаурилсульфата натрия содержание общих липидов составляет $6,55 \pm 0,32$ г/л (2 ПДК) и $6,28 \pm 0,34$ г/л (5 ПДК), для лаурилсульфат натрия – $6,52 \pm 0,36$ г/л.

Это свидетельствует о некоторой закономерности в механизмах адаптации гидробионтов к токсичной среде. Понижение уровня общих липидов во всех без исключений тканях является характерным ответом на действие токсикантов [3].

В печени наблюдается снижение уровня общих липидов в такой последовательности (от большего к меньшему): фосфаты 5 ПДК – фосфаты 2 ПДК – лаурилсульфат натрия – фосфонаты 5 ПДК – фосфонаты 2 ПДК: $5,78 \pm 0,49$ г/л; $6,33 \pm 0,61$ г/л; $6,58 \pm 0,57$ г/л; $9,28 \pm 1,39$ г/л и $9,64 \pm 0,39$ г/л, соответственно. При этом в контрольной группе данный показатель составил $11,65 \pm 1,05$ г/л.

В результате эксперимента установлен уровень общих липидов в мозгу гидробионтов. При действии фосфатов 2 и 5 ПДК он составляет $7,25 \pm 1,24$ г/л и $6,81 \pm 0,68$ г/л, соответственно. По сравнению с контролем – $8,25 \pm 0,74$ г/л. Отмечено, что в отличие от мышечной ткани, жабр и печени, фосфонаты вызвали более существенное снижение количества общих липидов, чем фосфаты: $5,02 \pm 0,48$ г/л и $4,54 \pm 0,39$ г/л соответственно, в то время как контролю оно составляло $8,25 \pm 0,74$ г/л. Для лаурилсульфата натрия данный показатель снижается лишь до $6,44 \pm 0,59$ г/л.

Нами также изучено влияние токсикантов на активность липазы в крови и тканях подопытных рыб. Это связано с тем, что обмен веществ и энергетический обмен у рыб играет далеко не последнюю роль в адаптационной способности организма гидробионтов. Пищеварительная система рыб с ее гибкими адаптационными механизмами способна выступать в качестве удобной и наглядной модели для решения целого ряда фундаментальных вопросов физиологии [1].

На рис. 3 показано, что уровень активности липазы в крови для контрольной группы составил $2,81 \pm 0,12$ ед. акт. При действии фосфатов уровень активности вырос до $3,82 \pm 0,21$ ед. акт. и $4,24 \pm 0,13$ ед. акт. для 2 и 5 ПДК соответственно. В случае фосфонатов при тех же концентрациях уровень активности составил: $3,13 \pm 0,28$ и $5,11 \pm 0,33$ ед. акт. соответственно.

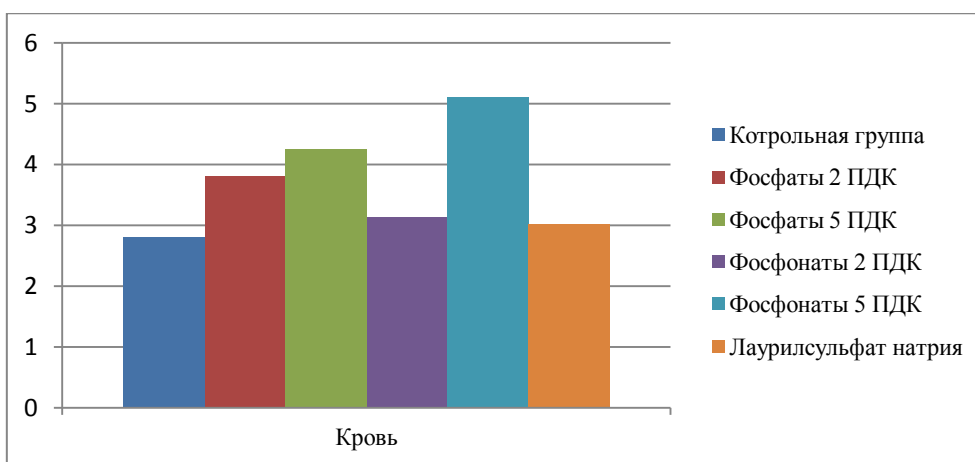


Рис 3. Уровень активности липазы в крови рыб при воздействии токсикантов различной концентрации ед. акт. ($M \pm m$, $n=5$)

Активность липазы в тканях и органах гидробионтов является показателем качественных изменений в энергетическом обмене и, поэтому, имеет особую ценность (рис. 4).

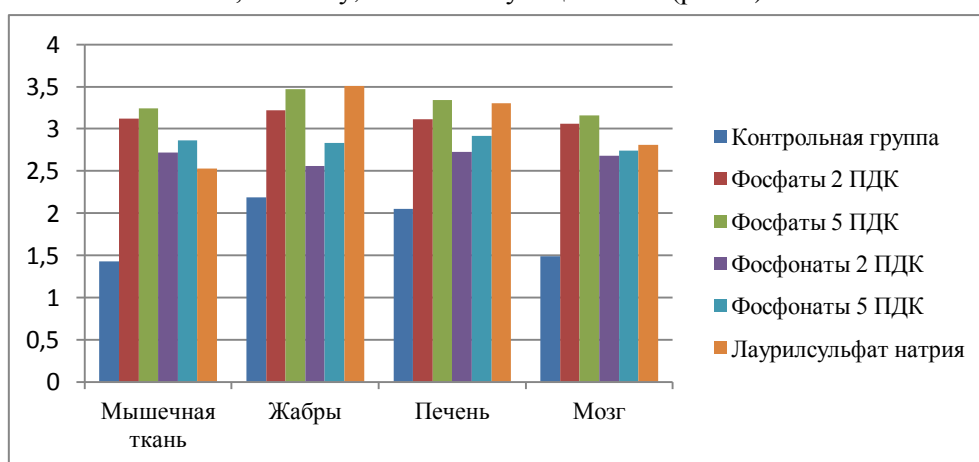


Рис 4. Уровень активности липазы в тканях и органах рыб при воздействии токсикантов различной концентрации ед. акт. ($M \pm m$, $n=5$)

Из рисунка видим повышение активности липазы в мышечной ткани, что свидетельствует о перестройках энергетического обмена, направленного на выживание рыб в условиях токсической среды: $3,12 \pm 0,27$ и $3,24 \pm 0,26$ ед. акт. для 2 и 5 ПДК – фосфаты; $2,72 \pm 0,19$ и $2,86 \pm 0,26$ ед. акт. для 2 и 5 ПДК – фосфонаты и $2,53 \pm 0,19$ ед. акт. – лаурилсульфат натрия. В контроле активность липазы составила $1,43 \pm 0,12$ ед. акт.

Что касается уровня активности липазы в жабрах, то тут наблюдаются такие значения активности фермента: в случае фосфатов 2 и 5 ПДК – $3,22 \pm 0,25$ и $3,47 \pm 0,26$ ед. акт.; – фосфонатов – $2,56 \pm 0,21$ и $2,83 \pm 0,21$ ед. акт., соответственно; – лаурилсульфата – $3,51 \pm 0,24$ ед. акт. Отмечаем, что при уменьшении уровня липидов в тканях возрастает уровень активности липазы, что вполне закономерной процесс в адаптационном механизме [2].

Активность липазы под воздействием токсикантов различной природы и концентрации имеет некоторую закономерность: при действии фосфатов 2 и 5 предельно-допустимых концентраций – $3,11 \pm 0,22$ и $3,34 \pm 0,27$ ед. акт. соответственно – фосфонатов и лаурилсульфата натрия $2,73 \pm 0,18$, $2,92 \pm 0,23$ ед. акт. соответственно и $3,31 \pm 0,27$ ед. акт. Активность липазы печени в контроле составила $2,05 \pm 0,19$ ед. акт.

Для мозга сохраняется тенденция возрастания активности липазы при повышении концентрации токсиканта. При воздействии фосфатов в концентрации 2 и 5 ПДК активность увеличивается до $3,06 \pm 0,23$ и $3,16 \pm 0,22$ ед. акт. соответственно. В случае воздействия фосфонатов в тех же концентрациях несколько снижается до $2,68 \pm 0,18$ и $2,74 \pm 0,16$ ед. акт. соответственно но превышает значения для контроля. Влияние лаурилсульфата на активность липазы является промежуточным – $2,82 \pm 0,19$ ед. акт. Для контроля значение активности липазы составляет $1,49 \pm 0,09$ ед. акт.

Заключення

Таким образом, на основании полученных данных о содержании общих липидов в крови и тканях исследованных рыб, можно сделать вывод, что с повышением концентрации токсических веществ в воде уровень общих липидов в крови вырастает, в то время как в тканях он снижается. Также содержание общих липидов в крови и тканях зависит от природы токсиканта.

Активность липазы в тканях и органах гидробионтов является показательным фактором качественных изменений в энергетическом обмене. Именно поэтому динамика показателей изменения активности в тканях имеет особую ценность. Изучение активности липазы показало, что с повышением концентрации токсиканта уровень ее активности также возрастает.

Кроме того, нами отмечена обратная зависимость между содержанием липидов и активностью липазы у исследованных рыб, что соответствует биохимической закономерности – увеличение активности фермента приводит к уменьшению содержания исходного субстрата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева, О. Б. Липидный состав мышц и печени симпатрических сиговых рыб (*Coregous* sp.) озера Байкал в идентичных условиях эксперимента) / О. Б. Васильева, Л. В. Суханова, О. Ю. Глызина // Сибирский экологический журнал. – 2016. – С. 220–227.
2. Грубінко, В. В. Роль металів в адаптації гідробіонтів: еволюційно-екологічні аспекти / В. В. Грубінко // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. – 2011. – С. 237–262.
3. Жиденко, А. А. Влияние глифосата на энергетический обмен в органах карпа / А. А. Жиденко, Е. В. Бибчук, Е. В. Барбухо // Украинский биохимический журнал. – 2013. – С. 22–30.
4. Костишин, Н. М. Жирнокислотний склад загальних ліпідів і фосфоліпідів м'язової тканини та головного мозку щурів під впливом вібраційних коливань / Н. М. Костишин, М. Р. Гжегоцкий, Й. Ф. Ривис // Запорожский медицинский журнал. – 2016. – С. 108–116.
5. Ліпідний склад деяких тканин коропа за дії іонів кадмію / Ю. И. Сенник, В. О. Хоменчук, Б. З. Ляврин [та ін.] // Научные записки Тернопольского национального педагогического университета. – 2011. – С. 216–220.
6. Методи ветеринарної клінічної лабораторної діагностики / И. П. Кондрахин [и др.]. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
7. Содержание неполярных липидов в тканях жабр некоторых видов рыб малых рек Западного Подолья / Б. З. Ляврин, Ю. И. Сенник, В. Я. Бияк [и др.] // Материалы V Всеросс. конф. по водной экотоксикологии, посвящ. памяти Б. А. Флёрова с приглашением специалистов из стран ближнего зарубежья. – 2012. – №1. – С. 82–86.
8. Попова, Е. М. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу / Е. М. Попова, И. В. Кошый // Рибогосподарська наука України. – 2007. – С. 49–54.
9. Яковенко, Б. В. Залежність показників крові коропа від природи токсиканту / Б. В. Яковенко, О. П. Третяк, О. Б. Мехед // Научные записки Тернопольского национального педагогического университета. – 2013. – С. 29–35.