

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.08.102>

УДК 577.115.3:591.436.2:639.215.2:591.543.42

С.В. Сисолятін, С.В. Хижняк

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

E-mail: sergij_sv@ukr.net, khs2014@ukr.net

Жирнокислотний склад загальних ліпідів печінки коропа (*Cyprinus carpio* L.) за умов штучного гіпобіозу

Представлено академіком НАН України А.М. Гольцевим

Досліджено склад та кількісний вміст жирних кислот загальних ліпідів печінки коропа лускатого за умов штучного гіпобіозу. Методом газової хроматографії ідентифіковано 28 жирних кислот, кількісний вміст яких змінюється протягом періоду перебування риб у стані штучного гіпобіозу. Встановлено, що перерозподіл у кількісному співвідношенні жирних кислот призводить до зниження сумарного вмісту насичених і зростання вмісту ненасичених жирних кислот, переважно за рахунок поліненасичених кислот.

Ключові слова: печінка, жирні кислоти, коропа, штучний гіпобіоз.

Стан природної пониженої життєдіяльності організму, у різноманітних його проявах, властивий всім представникам живого світу [1]. Риби на шляху еволюції набули ряд пристосувальних механізмів, які дають можливість існувати їм за несприятливих умов зовнішнього середовища (дефіцит їжі, зміна температури, солоність води, гіперкапнія тощо). Формування штучного гіпобіотичного стану у тварин, який характеризується перебудовою фізіологічних функцій та біохімічних процесів, можливе з використанням гіпоксигіперкапнічного газового середовища при зниженні температури тіла [2]. У розвитку адаптаційних процесів живих організмів до екстремальних умов середовища значна роль приділяється ліпідам, зокрема їх жирним кислотам (ЖК). З урахуванням різноманітних функцій ЖК в організмі, у тому числі їх залучення в процеси реактивності організму під впливом чинників довкілля [3, 4], дослідження жирнокислотного профілю в органах і тканинах у риб, які знаходяться в гіпобіотичному стані, є перспективним та актуальними.

Мета дослідження полягала у вивченні складу та кількісного вмісту жирних кислот загальних ліпідів печінки коропа за умов штучного гіпобіозу. У досліджах використовували коропа української лускатої породи (*Cyprinus carpio* L.) масою 250–270 г, отриманого з Іванівського рибокомбінату Київської області. Рибу відбирали в осінній період і протягом трьох днів утримували в басейні об'ємом 2000 дм³ для адаптації. Для досліджень було сформовано дві групи: 1-ша — контрольна, риба знаходилась в активному стані життєдіяльності, 2-га — дослідна, риба перебувала в стані штучного гіпобіозу, який створювали відповідно

© С.В. Сисолятін, С.В. Хижняк, 2017

до запатентованої моделі [5]. Після розтину у риб першої (контроль) і другої (на 3-тю, 6-ту та 24-ту год експозиції штучного гіпобіозу) груп вилучали печінку. Проводили гомогенізацію тканин та екстракцію ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю методом Фолча [6]. Метиллові етери жирних кислот отримували згідно з [7] та аналізували їх на газовому хроматографі Trace GC Ultra (Thermo) з ПІД-детектором та інжектором з програмуванням температур. Розділення проводили на високополярній капілярній колонці SPTM – 2560, 100 m × 0,25 mm ID, 0,20 μm film (Supelco). Ідентифікацію кислот здійснювали з використанням стандартної суміші метилових етерів жирних кислот 37 Comprone FAME Mix (Supelco) [8]. Для кількісної оцінки індивідуальних ЖК використовували метод нормування площі піка і виражали відносний вміст ЖК у відсотках до загальної кількості. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента [9].

Із застосуванням високочутливої газової хроматографії в печінці коропа виявлено і кількісно визначено 28 жирних кислот. У стані активної життєдіяльності (контроль) серед насичених жирних кислот (НЖК) домінують пальмітинова (C_{16:0}) – 26,23 % та стеаринова (C_{18:0}) – 4,50 %. Ненасичені жирні кислоти (ННЖК) неоднорідні: мононенасичені жирні кислоти (МНЖК) найбільш представлені пальмітолеїновою (C_{16:1 ω9}) – 5,10 % та олеїновою (C_{18:1 ω9}) – 15,20 %, серед поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) переважають лінолева (C_{18:2 ω6}) – 5,44 %, ейкозатрієнова (C_{20:3 ω6}) – 2,60 %, арахідонова (C_{20:4 ω6}) – 6,86 %, ейкозапентаєнова (C_{20:5 ω3}) – 2,54 %, докозагексаєнова (C_{22:6 ω3}) – 16,04 %.

За результатами дослідження ЖК-спектра загальних ліпідів печінки коропа в стані штучного гіпобіозу встановлено, що пул ЖК загальних ліпідів якісно однаковий. Однак відмічається специфічний перерозподіл у їх вмісті, який призводить до зниження сумарної кількості НЖК та підвищення ННЖК. Найбільші зміни спостерігаються на 24-ту год експозиції гіпобіозу. Зокрема сумарний вміст НЖК знижується в середньому на 43 % (*P* < 0,05) порівняно з контролем за рахунок зменшення вмісту C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{17:0}, C_{18:0}, C_{20:0}, C_{21:0}, C_{22:0}, C_{23:0}, C_{24:0} кислот, що, можливо, пов'язано з використанням їх як енергетич-

Вміст жирних кислот загальних ліпідів печінки коропа в стані штучного гіпобіозу (*M* ± *m*, *n* = 5, % від суми всіх жирних кислот)

Показник	Стан активної життєдіяльності (контроль)	Стан штучного гіпобіозу		
		3 год експозиції	6 год експозиції	24 год експозиції
Σ _{НЖК}	36,52 ± 0,80	32,43 ± 3,02	28,01 ± 2,15*	20,75 ± 1,70*
Σ _{ННЖК}	63,48 ± 0,83	67,57 ± 1,59	71,99 ± 2,35*	79,25 ± 2,47*
Σ _{МНЖК}	25,00 ± 0,74	26,55 ± 1,02	28,25 ± 0,76*	30,31 ± 2,06*
Σ _{ПНЖК}	38,48 ± 0,60	41,02 ± 1,58	43,74 ± 1,10*	48,94 ± 0,91*
Σ _{ω9}	18,60 ± 0,13	19,48 ± 0,20	20,31 ± 0,43	21,3 ± 0,48*
Σ _{ω6}	18,30 ± 0,77	19,83 ± 0,59	21,45 ± 0,35*	24,12 ± 0,57*
Σ _{ω3}	20,18 ± 0,33	21,19 ± 0,44	22,29 ± 0,67*	24,82 ± 0,35*
НЖК/ННЖК	0,58 ± 0,03	0,48 ± 0,01*	0,39 ± 0,02*	0,26 ± 0,02*

* *P* < 0,05 щодо контрольної групи.

ного субстрату [4]. Сумарний вміст ННЖК зростає на 24 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем за рахунок збільшення рівня МНЖК та ПНЖК (таблиця).

З'ясовано, що протягом усієї експозиції штучного гіпобіозу для загальних ліпідів печінки коропа характерно зменшення величини відношення НЖК/ННЖК (коефіцієнт ненасиченості) на 17, 33 і 55 % відповідно на 3-тю, 6-ту та 24-ту год експозиції гіпобіозу порівняно з контролем (див. таблицю).

Встановлено, що сумарний вміст МНЖК та ПНЖК найбільше зростає на 24-ту год експозиції гіпобіозу. Зокрема рівень МНЖК збільшується на 21 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем за рахунок зростання вмісту $C_{14:1}$, $C_{15:1}$, $C_{16:1}$, $C_{17:1}$, $C_{18:1 \omega 9}$, $C_{20:1 \omega 9}$, $C_{22:1 \omega 9}$, $C_{24:1}$ кислот, а рівень ПНЖК збільшується на 27 % ($P < 0,05$) за рахунок ЖК родин ω -6 та ω -3. Стосовно вмісту ПНЖК родини ω -6, то їх сумарний вміст зростає на 24-ту год експозиції штучного гіпобіозу на 32 % ($P < 0,05$) за рахунок $C_{18:2 \omega 6}$, $C_{18:3 \omega 6}$, $C_{20:2 \omega 6}$, $C_{22:2 \omega 6}$, $C_{20:4 \omega 6}$ кислот, а сумарний вміст ПНЖК родини ω -3 за цих умов зростає на 23 % ($P < 0,05$) за рахунок $C_{18:3 \omega 3}$, $C_{20:3 \omega 3}$, $C_{20:5 \omega 3}$, $C_{22:6 \omega 3}$ кислот (див. таблицю). Зважаючи на безпосередню участь ПНЖК у регуляції більшості клітинних процесів, виявлені зміни спектрів ПНЖК родин ω -3 та ω -6 на фоні штучного гіпобіозу можна розглядати як мобілізацію адаптивних реакцій організму [10]. Важливу адаптаційну роль виконують і ННЖК родини ω -9. Відмічено, що сумарний вміст ω -9 ННЖК у загальних ліпідах печінки коропа зростає на 24-ту год експозиції гіпобіозу на 14,5 % ($P < 0,05$) порівняно зі станом активної життєдіяльності (див. таблицю) за рахунок $C_{18:1 \omega 9}$, $C_{22:1 \omega 9}$ кислот. Довголанцюгові ПНЖК (особливо з 22-вуглеводними атомами) розширяють діапазон термотолерантності організмів, можливо, зростання їх вмісту нівелює негативний вплив зниження температури за умов гіпобіозу.

Таким чином, одержані результати свідчать про перерозподіл вмісту ЖК у ліпідах печінки коропа української лускатої породи за умов штучного гіпобіозу: зниження рівня НЖК та підвищення ННЖК. Імовірно, зниження сумарного вмісту НЖК пов'язано з використанням їх як енергетичного субстрату. Зростання ненасиченості ЖК ліпідів, переважно за рахунок збільшення вмісту ПНЖК родин ω -3 та ω -6, можливо, спрямовано на підтримання оптимального рівня мікрів'язкості біомембран, що є одним із проявів біохімічної адаптації.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее. Москва: Информ-Знание, 2005. 256 с.
2. Мельничук Д.О., Мельничук С.Д. Гіпобіоз тварин – молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини. Київ: Видавничий центр НАУ, 2007. 220 с.
3. Lovern J.A. The lipids of marine organisms. *Oceanogr. Mar. Biol.* 1964. 2. P. 169–191.
4. Guschina L.A., Harwood J.L. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. *FEBS Lett.* 2006. 580, Iss. 23. P. 5477–5483.
5. Спосіб переведення та зберігання риби в стані штучного гіпобіозу і установка для його здійснення: пат. 37303 Україна, МПК А01К 63/02, А01К 63/04, А01К 61/00, G09В 23/28. Опубл. 15.05.2001, Бюл. № 4.
6. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. 226. P. 497–509.
7. Christie W.W. Lipid analysis: isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Oxford: Pergamon Press. 1982. 207 p.
8. Федорченко С. В., Курта С.А. Хроматографічні методи аналізу: навч. посіб. Івано-Франківськ: Прикарп. нац. ун-т ім. Василя Стефаника, 2012. 146 с.
9. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов. *Укр. биохим. журн.* 1975. 47, № 6. С. 776–790.

10. Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы. Обзор. *Биохимия*. 1998. **63**, вып. 1. С. 6—15.

Надійшло до редакції 29.03.2017

REFERENCES

1. Timofeev, N. N. (2005). Hypobiosis and cryobiosis. The past, the present, the future. Moscow: Inform-Znanie (in Russian).
2. Melnichuk, D. O. & Melnichuk, S. D. (2007). Hibernation of animals — molecular mechanisms and practical for agriculture and medicine. Kyiv: Vydavnychiy tsentr NAU (in Ukrainian).
3. Lovern, J. A. (1964). The lipids of marine organisms. *Oceanogr. Mar. Biol.*, 2, pp. 169-191.
4. Guschina, L. A. & Harwood, J. L. (2006). Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. *FEBS Lett.*, 580, Iss. 23, pp. 5477-5483.
5. Pat. 37303 UA, IPC A01K 63/02, A01K 63/04, A01K 61/00, G09B 23/28, Method to transfer and preserve fish in the state of artificial hypobiosis and a unit to carry out thereof, Melnichuk, D. O., Melnichuk, S. D. & Tereshchenko, S.V., Publ. 15.05.2001 (in Ukrainian).
6. 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, pp. 497-509.
7. Christie, W. W. (1982). *Lipid analysis: isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*. Oxford: Pergamon Press.
8. Fedorchenko, S. V. & Kurt, S. A. (2012). *Chromatographic methods of analysis: teach. guidances*. Ivano-Frankivsk: Prykarp. nat. University of them. Stefanik (in Ukrainian).
9. Kokunin, V. A. (1975). Statistical processing of data with a small number of experiments. *Ukr. Biochem. J.*, 47, No. 6, pp. 776-790 (in Russian).
10. Kogteva, G. S. & Bezuglov, V. V. (1998). Unsaturated fatty acids as endogenous bioregulators. Overview. *Biochemistry*. 63, Iss. 1, pp. 6-15 (in Russian).

Received 29.03.2017

С.В. Сысолятин, С.В. Хижняк

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

E-mail: sergiy_sv@ukr.net, khs2014@ukr.net

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ОБЩИХ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO* L.) ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ

Изучен состав и количественное содержание жирных кислот общих липидов печени чешуйчатого карпа при искусственном гипобіозе. Методом газовой хроматографии идентифицировано 28 жирных кислот, количественное содержание которых изменяется при введении рыб в состояние искусственного гипобіоза. Установлено, что перераспределение в количественном соотношении жирных кислот приводит к уменьшению суммарного содержания насыщенных и возрастанию содержания ненасыщенных жирных кислот, преимущественно за счет полиненасыщенных кислот.

Ключевые слова: *печень, жирные кислоты, карп, искусственный гипобіоз.*

S.V. Sysolyatin, S.V. Khyzhnyak

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev

E-mail: sergiy_sv@ukr.net, khs2014@ukr.net

FATTY ACID COMPOSITION OF TOTAL LIPIDS IN LIVER OF CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) UNDER ARTIFICIAL HIBERNATION

The composition and the quantitative content of fatty acids of total lipids in liver of scaly carp under artificial hibernation are studied. The method of gas chromatography identified 28 fatty acids, the quantitative content of which changes when fish are in the state of artificial hibernation. It has been established that a redistribution in the quantitative ratio of fatty acids leads to a decrease of the total content of saturated fatty acids and an increase of the content of unsaturated ones, mainly due to polyunsaturated acids.

Keywords: *liver, fatty acids, carp, artificial hibernation.*