

## **Вплив цестоди *Bothriocephalus acheilognathi* на вміст окремих класів і продуктів перекисного окиснення ліпідів у стінці кишечника коропа**

І.Д. Юськів, доктор ветеринарних наук  
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького

*Наведено дані про зміни вмісту загальних ліпідів, співвідношення окремих їх класів та продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у стінці кишечника цьоголіток коропа за різної інтенсивності інвазії цестод – *Bothriocephalus acheilognathi*. У заражених риб встановлено зниження рівня загальних ліпідів і ліпідних фракцій – фосфоліпідів, триацилгліцеролів та збільшення інтенсивності процесів ПОЛ (дієнових кон'югатів, гідроперекисів ліпідів, малонового диальдегіду) у стінці кишечника, що значною мірою залежить від кількості цестод в кишечнику.*

**Постановка проблеми та аналіз основних досліджень.** У пойкилотермних організмів, до яких належить коропа (*Cyprinus carpio L.*), ліпіди виконують різноманітні функції: будучи джерелом енергії і важливим компонентом мембран клітин, вони беруть участь у процесах адаптації риб до умов середовища [1, 2]. У риб ліпіди слугують основним джерелом енергії [3, 4], а при досягненні критичних рівнів дії екзогенних і ендогенних факторів виникає зміна метаболізму ліпідів та небезпека нагромадження в клітинах токсичних продуктів обміну. Утворені гідроперекиси за дії різноманітних негативних чинників [5–7] деструктивно впливають на мембрани клітин і внутрішньоклітинні біополімери в тканинах, що призводить до порушення їх структури і функції. Роль кожного ліпідного компонента за інвазійних хвороб риб не досліджена. Тому, для розкриття механізмів адаптації цьоголіток коропа до умов різної інтенсивності інвазії цестод *Bothriocephalus acheilognathi* у кишечнику, актуально дослідити ліпідний статус, оскільки він є важливим енергетичним резервом.

**Мета досліджень:** порівняльне дослідження вмісту загальних ліпідів, співвідношення окремих їх класів та продуктів перекисного окиснення ліпідів у стінці кишечника цьоголіток коропа незаражених і заражених *Bothriocephalus acheilognathi*.

**Матеріали і методи досліджень.** Об'єктом дослідження слугували цьоголітки коропа (*Cyprinus carpio*) із вирощувальних ставів. Риби 1-ї групи, вільні від кишечних цестод (*Bothriocephalus acheilognathi*), правили за контроль. Риби 2-ї групи були слабоінвазовані стрічковими гельмінтами (інтенсивність інвазії – 1–3 паразити), а риби 3-ї групи – сильноінвазовані (інтенсивність інвазії – 4 паразити і більше). Жива маса коропа коливалася від 14,5 до 20,5 г. У дослідженнях використовували зразки стінки кишечника,

які одержували відразу після вилову риби, методом декапітації. Зразки стінки кишечника заморожували в рідкому азоті. Вміст ліпідів і ПОЛ визначали в середніх зразках стінки кишечника, у кожній із яких входила наважка тканин від 6-ти риби. У дослідженнях використано 4 середніх зразки стінки кишечника риби кожної групи. Ліпіди зі стінки кишечника екстрагували сумішшю хлороформ-метанолу (2:1) за методом Фолча [8]. Розділення ліпідів на окремі класи проводили методом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі розчинників гексан-диетиловий ефір-льодова оцтова кислота (70:30:1) [9] з подальшим визначенням їх кількості біхроматним методом [10, 11]. Про інтенсивність ПОЛ судили за рівнем дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду і гідроперекисів ліпідів, які визначали за допомогою стандартних методик [12, 13]. Статистичну обробку одержаних цифрових даних проводили на комп'ютері. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при  $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$  та  $P < 0,001$ .

**1. Вміст загальних ліпідів і співвідношення окремих їх класів у стінці кишечника цьоголіток коропа, незаражених і заражених ботріоцефалюсами ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )**

Показник	Група риби		
	1	2	3
	контроль	1–3 гельмінти на рибу	4–> гельмінтів на рибу
Ліпіди загальні, г%	10,37±0,65	6,20±0,52**	3,78±0,57***
Класи ліпідів, %:			
фосфоліпіди	42,48±0,93	38,14±0,63**	36,41±1,22**
моно- і диацилгліцероли	16,97±0,96	19,21±0,67	25,47±1,02***
холестерол вільний	8,60±0,80	10,36±0,88	11,38±0,63*
вільні жирні кислоти	14,26±1,30	13,88±0,39	9,40±0,92*
триацилгліцероли	13,37±0,71	12,97±1,26	10,92±0,79*
холестерол етерифікований	4,33±0,30	5,47±0,43	6,42±0,84*
* – $P < 0,05$ ; ** – $P < 0,01$ ; *** – $P < 0,001$ .			

**Результати досліджень.** З наведених у табл. 1 даних видно, що вміст загальних ліпідів у стінці кишечника цьоголіток коропа 2 і 3-ї груп, заражених ботріоцефалюсами, був відповідно в 1,67 і 2,74 раза нижчим, ніж у стінці кишечника цьоголіток коропа 1-ї (контрольної) групи ( $P < 0,01$ ;  $0,001$ ). У складі загальних ліпідів у стінці кишечника риби 2 і 3-ї груп, порівняно з рибами 1-ї групи, виявлено відповідно в 1,06 і 1,09 раза нижчий вміст фосфоліпідів ( $P < 0,05$ ), в 1,02 і 1,5 раза нижчий вміст вільних жирних кислот ( $P < 0,5$ ;  $P < 0,05$ ), в 1,03 і 1,22 раза нижчий вміст триацилгліцеролів ( $P < 0,5$ ;  $P < 0,05$ ), в 1,13 і 1,50 раза вищий вміст моно- і диацилгліцеролів ( $P < 0,5$ ;  $P < 0,01$ ), в 1,20 і 1,32 раза вищий вміст вільного холестеролу ( $P < 0,5$ ;  $P < 0,05$ ), в 1,26 і 1,50 раза вищий вміст етерифікованого холестеролу ( $P < 0,5$ ;  $P < 0,05$ ).

З цих даних випливає, що при зараженні ботріоцефалюсами в стінці кишечника цьоголіток коропа знижується вміст не тільки резервних ліпідів (триацилгліцеролів), а й вміст структурних ліпідів (фосфоліпідів). Причиною цього може бути зниження вмісту вільних жирних кислот в ентероцитах риб, заражених гельмінтами, а отже, зниження синтезу фосфоліпідів і триацилгліцеролів. Іншою причиною зниження вмісту фосфоліпідів і триацилгліцеролів в ентероцитах заражених гельмінтами риб може бути посилення їх розпаду, про що свідчить високий вміст в стінці кишечника моно- і диацилгліцеролів.

Виявлений нами вищий вміст вільного холестеролу в стінці кишечника цьоголіток коропа, заражених ботріоцефалюсами, призводить до зменшення співвідношення між фосфоліпідами і вільним холестеролом в ентероцитах, що значно впливає на фізико-хімічні властивості клітинних мембран [14].

Продукти перекисного окиснення ліпідів у клітині утворюються в результаті окиснення наявних у фосфоліпідах клітинних мембран поліненасичених жирних кислот активними формами кисню, утворення яких посилюється при дії патогенних чинників. Тому задля з'ясування патогенної дії ботріоцефалюсів на організм цьоголіток коропа дослідили вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів незаражених і заражених гельмінтами риб. З наведених у табл. 2 даних видно, що вміст дієнових кон'югатів у стінці кишечника цьоголіток коропа 3-ї групи був вірогідно вищим 1,20 раза ( $P < 0,05$ ), ніж у риб 1-ї групи, тоді як аналогічні різниці у вмісті дієнових кон'югатів у тканині цьоголіток коропа 2-ї групи, порівняно з рибами 1-ї групи, невірогідні ( $P < 0,5$ ). З цих даних випливає, що підвищення кількості гельмінтів у кишечнику цьоголіток коропа призводить до активації перекисного окиснення ліпідів у стінці кишечника риб на початкових стадіях окиснення, а саме – на стадії утворення дієнових кон'югатів. Вміст гідроперекисів ліпідів у стінці кишечника цьоголіток коропа 2 і 3-ї груп був вищим відповідно в 1,45 і 1,59 раза ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,001$ ), ніж у риб 1-ї групи. Ці дані також свідчать про посилення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у досліджуваній тканині у цьоголіток коропа при зараженні ботріоцефалюсами. Вміст малонового діальдегіду в стінці кишечника цьоголіток коропа 2 і 3-ї груп був вищим відповідно в 1,50 і 2,37 раза ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,001$ ), ніж у риб 1-ї групи. Це свідчить про те, що токсичний вплив ботріоцефалюсів призводить до активації кінцевих стадій перекисного окиснення ліпідів у стінці кишечника коропа.

## **2. Вміст продуктів ПОЛ у стінці кишечника досліджуваних риб, незаражених і заражених ботріоцефалюсами ( $M \pm m, n = 4$ )**

Продукти ПОЛ	Групи риб		
	1	2	3
	контроль	1–3 гельмінти на рибу	4→ гельмінтів на рибу
Дієнові кон'югати, мкмоль/г	150,12±8,35	156,30±9,05	183,60±8,93*

Гідроперекисі, од.опт.густ./г	0,79±0,07	1,15±0,06**	1,26±0,10**
Малоновий діальдегід, нмоль/г	1,61±0,20	2,46±0,22*	3,79±0,28***

Отже, протягом досліджень встановлено значно вищу інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у стінці кишечника цьоголіток коропа, заражених ботріоцефалюсами, ніж у незаражених, що залежить від кількості гельмінтів.

Загалом отримані нами результати свідчать про різнобічний вплив *Bothriocephalus acheilognathi* і продуктів їх життєдіяльності на метаболізм ліпідів у стінці кишечника цьоголіток коропа.

### **Висновки**

1. Інвазія цьоголіток коропа *Bothriocephalus acheilognathi* призводить до зниження сумарної концентрація ліпідів у стінці кишечника та знижує синтез в їх тканині не тільки резервних ліпідів (триацилгліцеролів), а і структурних (фосфоліпідів), тоді як відносний вміст моно- і диацилгліцеролів, вільного і етерифікованого холестеролу зростає.

2. За ботріоцефальною інвазією цьоголіток коропа у стінці кишечника вірогідно підвищується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів, гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду. Рівень цих змін залежить від ступеня зараження риб цестодами.

Вважаємо, що напрямок подальших досліджень повинен бути спрямований на вивчення та виробничу перевірку лікарських засобів за цестодозів коропа.

### **Бібліографія**

1. Лапин В.И. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб / В.И. Лапин, М.И. Шатуновский // Успехи соврем. Биологии. – 1981. – Т. 92, вып. 3 (6). – С. 380–394.
2. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб / В.С. Сидоров. Липиды. – Л., 1983. – 240 с.
3. Гершкович А.Д. Особенности обмена липидов у рыб / А.Д. Гершкович, В.И. Лапин, М.И. Шатуновский // Успехи соврем. биологии. – 1991. – Т. 111, вып. 2. – С. 207–214.
4. Green D. Lipid Metabolism in Fish / D. Green, P. Selivonchick // Prog. in Lipid Res. – 1987. – Vol. 26. – P. 53–85.
5. Hai D.Q. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) / D.Q. Hai, S.I. Varga, B.Matcovics // Comp. Biochem. Physiol. – 1997. – Vol. 117, № 1. – P. 83–88.
6. Леус Ю.В. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у риб під впливом факторів водного середовища: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.17 / Ю.В. Леус. – К., 1998. – 16 с.

7. *Крепс Е.М.* Активация перекисного окисления липидов при миграционном стрессе у горбуши: возможный механизм адаптации / Е.М. Крепс, В.А. Тюрин, Н.В. Горбунов // Докл. АН СССР. – 1986. – Т. 286, № 4. – С. 1009–1012.

8. *Folch P.* A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / P. Folch, M. Lees, S.G. Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – V. 226, № 1. – P. 497–509.

9. *Кейтс М.* Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов/ М. Кейтс. – М. : Мир, 1975. – 322 с

10. *Шталь Э.* Хроматография в тонких слоях / Э. Шталь. – М. : Мир, 1965. – 508 с.

11. *Архипов А.В.* Изучение липидов и липидного обмена у сельскохозяйственных животных и птиц с применением тонкослойной и газожидкостной хроматографии: методические рекомендации / Архипов А.В., Антонов А.А. – М., 1979. – 41с.

12. *Стальная И.Д.* Современные методики в биохимии / И.Д. Стальная; под ред. В.О. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–68.

13. *Коробейникова Э.Н.* Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.

14. *Янович В.Г.* Обмен липидов у животных в онтогенезе / Янович В.Г., Лагодюк П.З.. – М. : Агропромиздат, 1991. – 317 с.