

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

СИСОЛЯТИН СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 577.115:57.085:639.215.2:591.543.42

**ЛІПІДНИЙ ТА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ТКАНИН І ОРГАНІВ
КОРОПА *Cyprinus carpio* L. ЗА ШТУЧНОГО ГШОБІОЗУ**

03.00.04 «Біохімія»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано у Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник доктор біологічних наук, професор
Хижняк Світлана Володимирівна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
провідний науковий співробітник
Української лабораторії якості і безпеки
продукції агропромислового комплексу

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Кучмеровська Тамара Муратівна,
Інститут біохімії імені О. В. Палладіна
Національної академії наук України,
провідний науковий співробітник
відділу біохімії вітамінів і коензимів

доктор біологічних наук, професор
Арсан Орест Михайлович,
Інститут гідробіології
Національної академії наук України,
провідний науковий співробітник
відділу екології водяних рослин
та токсикології

Захист відбудеться «23» жовтня 2018 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.08 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 301

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розіслано «22» вересня 2018 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

В. І. Цвіліховський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Актуальною проблемою теоретичної та прикладної біології є дослідження адаптивних можливостей організму, які формують його толерантність до екстремальних чинників довкілля (Озернюк Н. Д., 2000; Hochachka P. W., Somero G. N., 2002; Немова Н. Н., Высоцкая Р. У., 2004; Барабой В. А., 2006; Горіла М. В., 2016). Це обумовлено фізіолого-біохімічними особливостями, що лежать в основі розвитку компенсаторних реакцій (Stearns S., Moekstra R., 2002; Andrews M. T., 2007; Withers P. C., 2009). В ектотермних організмів, у тому числі риб, у процесі еволюції сформований комплекс структурно-метаболических адаптивних механізмів на біохімічному, фізіологічному та інших рівнях організації, що забезпечує їх пристосування до змін умов існування (температури та концентрації кисню у водному середовищі тощо) (Немова Н. Н., 2010; Причепка М. В., 2014). Перебування риб у стані зниженої життєдіяльності (гіпобіоз) – є одним із способів пристосувань.

Значна увага приділяється з'ясуванню біохімічних шляхів, які обумовлюють перебування риб за гіпобіотичного стану, а також перспективам його практичного застосування (Hochachka P. W., Somero G. N., 2002; Тимофеев Н. Н., 2005; Смирнов Л. П., Богдан В. В., 2007). Розроблена модель створення штучного гіпобіозу у риб, з використанням гіпоксигіперкапнії, забезпечує перехід організму до гіпометаболического рівня життєдіяльності (Мельничук Д. О., Мельничук С. Д., 2007). Це обумовлено фізіолого-біохімічною регуляцією для забезпечення координованої мінімізації процесів обміну і встановлення енергетичної та метаболическої стабільності за змінених умов перебування риб (Humphries M. M. et al., 2003; Тимофеев Н. Н., 2005).

Важливе значення у формуванні відповідної адаптивної реакції організму на екзогенний вплив належить ліпідам, які є структурними елементами клітинних мембран, залучені до енергетичних і сигнальних систем клітин та відіграють провідну роль у регуляції і перебігу різноманітних біохімічних процесів в організмі (Dark J., 2005; Веланский П. В., 2008; Грициняк І. І. та ін., 2010; Коломийцева І. К., 2011). Ліпіди та жирні кислоти є складовою комплексу неспецифічних пристосувальних біохімічних реакцій у відповідь на дію стрес-чинників довкілля (Смолянінов К. Б. та ін., 2004; Dormann P., 2006; Попова Е. М., 2007; Веланский П. В., Костецкий Э. Я., 2009; Ляврін Б. З. та ін., 2013). Роль ліпідів у компенсаторних процесах організму риб за штучного гіпобіозу досліджено недостатньо. Це зумовлює доцільність дослідження ліпідів різних тканин і органів риб за штучного гіпобіозу, що становить науково-практичний інтерес як із фундаментальної, так і прикладної точок зору. Крім того, це важливо для доповнення існуючих уявлень щодо біохімічних адаптивних механізмів за дії на організм екзогенних чинників.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Результати дисертаційного дослідження є складовою частиною держбюджетних науково-дослідних тем Національного університету біоресурсів і природокористування України: «Вивчення впливу різних форм вуглекислоти на розвиток стану штучного гіпобіозу та розробка технологій

переведення організму тварин, тканин та клітин в стан штучного гіпобіозу» (номер державної реєстрації 0103U005378, 2003–2008 рр.); «Вивчення біохімічних механізмів розвитку стану гіпобіозу у тканинах і біологічних рідинах живих організмів» (номер державної реєстрації 0108U000887, 2008–2012 рр.); «Вивчення особливостей енергетичного і ліпідного обмінів у тканинах і клітинах тварин та риб в стані природного та штучного гіпобіозу» (номер державної реєстрації 0112U002217, 2012–2016 рр.).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційного дослідження – з'ясувати участь ліпідів та жирних кислот у реакції організму коропа української лускатої породи *Cyprinus carpio* L. на гіпоксигіперкапнічний вплив (штучний гіпобіоз), базуючись на визначенні їх складу та вмісту у тканинах і органах.

Для досягнення поставленої мети було передбачено вирішення таких основних завдань:

- дослідити ліпідний спектр печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа у стані активної життєдіяльності;
- встановити склад, вміст і співвідношення ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа за штучного гіпобіозу;
- оцінити фосfolіпідний профіль печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа за штучного гіпобіозу;
- проаналізувати жирнокислотний пул тканин і органів коропа у стані активної життєдіяльності та за штучного гіпобіозу;
- провести порівняльні дослідження щодо жирнокислотного складу тканин і органів коропа та стерляді за штучного гіпобіозу;
- з'ясувати залучення ліпідів і жирних кислот організму риб у реакціях на дію чинників штучного гіпобіозу.

Об'єкт дослідження – вплив чинників штучного гіпобіозу на вміст ліпідів та жирнокислотний склад печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа.

Предмет дослідження – якісний та кількісний склад ліпідів і жирних кислот печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа у стані активної життєдіяльності та на 3 год, 6 і 24 год експозиції штучного гіпобіозу.

Методи дослідження: гідрохімічні (визначення показників води); іхтіологічні; біохімічні, зокрема, гравіметричні та спектрофотометричні (визначення вмісту загальних ліпідів та їх класів); хроматографічні – тонкошарова і газова хроматографія (фракціонування ліпідів, аналіз жирнокислотного спектра); статистичні (обробка результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з'ясовано, що за штучного гіпобіозу у коропа української лускатої породи *Cyprinus carpio* L. змінюється вміст запасних (триацилгліцеролів, естерів холестеролу), структурних та регуляторних (холестеролу, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозитулу сфінгомієліну) ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку.

Вперше проведено дослідження жирнокислотного спектру тканин і органів коропа за штучного гіпобіозу. Доведено, що зниження вмісту

насичених жирних кислот, а також зростання ненасичених, зокрема родин $\omega 3$ та $\omega 6$, для яких характерна метаболічна активність, є одним із механізмів зміни реактивності організму риб до гіпокси-гіперкапнічного впливу.

Виявлені відмінності модифікації ліпідної складової тканин і органів за штучного гіпобіозу свідчать про особливості залучення ліпідів та жирних кислот до регуляції життєвих функцій організму коропа. За штучного гіпобіозу показано низьку варіабельність ліпідної компоненти головного мозку коропа, порівняно з печінкою, м'язами та зябрами, для якого у стані активної життєдіяльності характерний підвищений вміст фосфоліпідів, холестеролу, триацилгліцеролів, моноєнових жирних кислот.

З'ясовано функціональну роль ліпідів і жирних кислот в адаптивних реакціях організму риб за штучного гіпобіозу. Отримані результати досліджень щодо модифікації ліпідної компоненти необхідні для розуміння шляхів біохімічної адаптації риб на дію екзогенних чинників.

Практичне значення одержаних результатів. Стан штучного гіпобіозу (за гіпокси-гіперкапнії) є перспективною та зручною моделлю дослідження адаптивних можливостей організму риб. Обґрунтовано важливість визначення ліпідного та жирнокислотного профілю тканин і органів за гіпобіозу для оцінки фізіологічного та метаболічного статусу організму риб. Теоретичні узагальнення та сукупність експериментальних даних можуть бути враховані при створенні гіпобіотичного стану у різних видів риб з метою їх транспортування, сортування чи проведення прижиттєвих маніпуляцій (біопсія, штучне запліднення, гормональна обробка тощо).

Практичне значення одержаних результатів підтверджено патентом на корисну модель. Результати дисертаційного дослідження можуть бути використані у навчальному процесі в закладах вищої освіти біологічного (спецкурси з іхтіології, гідробіології, екології, фізіології та біохімії) та ветеринарного профілів.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійно виконаною працею. Пошук та аналіз джерел фахової літератури, проведення експериментальних досліджень, обробка та теоретичне обґрунтування первинних результатів, підготовка матеріалів до публікації у наукових виданнях виконано здобувачем особисто. Планування досліджень та розроблення методичних підходів, обговорення результатів та формулювання висновків проведено спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень оприлюднено та обговорено на: ювілейній науково-практичній конференції «Проблемы и решения в современном рыбном хозяйстве на Азовском бассейне» (м. Бердянськ, 2005 р.); науковій конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного аграрного університету (м. Київ, 2006 р.); II Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів (м. Львів, 2006 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики» (м. Львів, 2006 р.); Міжнародній науковій конференції

«Гіпобіоз – фундаментальні та прикладні аспекти» (м. Київ, 2007 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Національне виробництво й економіка в умовах реформування: стан і перспективи інноваційного розвитку та міжрегіональної інтеграції» (м. Кам'янець-Подільський, 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Аграрна наука та освіта Поділля» (м. Кам'янець-Подільський, 2017 р.); XVI Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» (м. Київ, 2017 р.); XI Міжнародній науково-практичній конференції «Ольвійський форум – 2017: стратегії країн Причорноморського регіону в геополітичному просторі» (м. Миколаїв, смт Коблево, 2017 р.); 16-й Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні інформаційні технології управління екологічною безпекою, природокористуванням, заходами в надзвичайних ситуаціях» (м. Київ, 2017 р.).

Публікації. Теоретичні положення та основні результати дисертаційного дослідження опубліковано у 18 наукових працях, з яких 3 статті у наукових фахових виданнях України, 6 статей у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, стаття у науковому фаховому виданні України, включеному до міжнародних наукометричних баз даних, патент України на корисну модель, 7 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з анотацій, вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, що включає 277 джерел, з них 138 латиницею, та додатків. Дисертацію викладено на 175 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 26 таблицями та 32 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд наукової літератури. У розділі узагальнено та представлено огляд основних наукових положень щодо дослідження явища гіпобіозу, яке характеризує стан зниженої життєдіяльності організму; показано значення гіперкапнії, гіпоксії та гіпотермії у формуванні цього стану; проаналізовано дані наукової фахової літератури щодо вмісту та складу ліпідів організму риб та їх біологічне значення; наведено основні відомості щодо ліпідного складу тканин і органів риб за дії екзогенних чинників довкілля. Аналіз наукових публікацій дозволяє стверджувати про недостатність інформації щодо ролі ліпідів і жирних кислот у розвитку адаптивної відповіді організму риб за штучного гіпобіозу, що свідчить про доцільність проведення досліджень у цьому напрямі.

Матеріали і методи дослідження. В експериментах використано 180 особин дворічок коропа української лускатої породи *Cyprinus carpio* L. масою 270–290 г, вирощених в Іванівському рибокомбінаті Київської області та 30 особин дворічок стерляді *Acipenser ruthenus* L. масою 360–400 г, вирощених

у Відокремленому підрозділі Національного університету біоресурсів і природокористування України «Немішаївський агротехнічний коледж»). Перед експериментом риб утримували для адаптації в інкубаційному цеху. Постійний гідрохімічний режим води підтримували згідно з нормативами для утримання риб (Сабодаш В. М., 2004). Риб під час експерименту не годували.

Для проведення експериментальних досліджень було сформовано дві групи: першу – контрольну (n=5) – риби знаходилися у стані активної життєдіяльності; другу – дослідну (n=5 для кожного терміну) – риби перебували в стані штучного гіпобіозу. Експерименти проводили із дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (м. Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (м. Київ, 2001).

Створення у риб стану штучного гіпобіозу. Стан штучного гіпобіозу у коропів створювали за методикою, яка детально описана в наукових працях (Мельничук Д. О., Мельничук С. Д., 2001, 2007), що включає використання гіпоксигіперкапнічного середовища. Ознаки гіпобіотичного стану відмічали через годину: риба опускалася на дно у дугоподібно скрученій позі (рідше зависала на певній глибині), її рух припинявся, частота дихальних рухів зменшувалась, коливання зябрових кришок були слабо помітні, а реакція на дотик – відсутня.

Враховуючи швидку реакцію ліпідів на дію екзогенних чинників, біохімічні дослідження було проведено на ранніх термінах штучного гіпобіозу (3 год, 6 і 24 год експозиції). У коропів першої і другої груп (за кожного терміну) після розтину проводили вилучення печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку, які використовували у дослідженнях.

Порівняння впливу штучного гіпобіозу на вміст жирних кислот ліпідів різних видів риб проведено за використання коропа *Cyprinus carpio* L. та стерляді *Acipenser ruthenus* L., для яких характерний високий ступінь пристосованості до існування в умовах помірної кліматичної зони у прісних водоймах. З огляду на основні підходи, застосовані для коропа, підбрано умови, які дозволили створити у стерляді стан штучного гіпобіозу. Стерлядь розміщували в акваріумі (ємністю 100 дм³) і насичували воду газовою сумішшю CO₂ та O₂ у співвідношенні 1:1 за об'ємом під тиском 20,265 кПа. Через 10–15 хв в особин стерляді відмічали ознаки гіпобіотичного стану (див., як описано для коропа). Через годину експозиції штучного гіпобіозу проводили розтин стерляді, вилучали печінку та білі м'язи, які використовували у дослідженнях.

Дослідження ліпідного та фосфоліпідного складу тканин і органів риб. Вагову частину тканин і органів гомогенізували в об'ємі 1:10 ізотонічного фізіологічного розчину. Екстракцію ліпідів із гомогенатів тканин і органів риб контрольної та дослідної груп здійснювали методами Folch J. et al. (1957) та Blich E. G., Dyer W. I. (1979). Вміст ліпідів (мг/г сирової тканини) визначали ваговим методом (Кучеренко М. Є. та ін., 2001). Фракціонування загальних ліпідів проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на пластинках «Silufol» UV-254 нм (Чеська Республіка) за методикою

Рівіс Й. Ф. та ін. (2015). Індивідуальні фосфоліпіди отримували методом висхідної двомірної мікро-тонкошарової хроматографії на пластинках «Sorbfil» (ПТСХ-АФ-В-УФ) UV-254 нм (Російська Федерація) за методикою Сафонова Е. Ф. (2002). Ідентифікацію ліпідів проводили з використанням маркерів фірми «Sigma-Aldrich» (Федеративна Республіка Німеччина) і за кольоровими реакціями (Vaskovsky V. E. et al., 1975). Визначення вмісту ліпідів (мг/г сирової тканини) здійснювали спектрофотометрично із використанням калібрувальних графіків (Петровский В. И. и др., 1986).

Визначення складу та вмісту жирних кислот у загальній фракції ліпідів. Метиллові естери жирних кислот з ліпідного екстракту одержували за методикою Christive W. W. (1982). Детекцію жирних кислот здійснювали методом газорідинної хроматографії на газовому хроматографі «Trace GC Ultra» («Thermo Scientific», США) з полум'яно-іонізаційним детектором на високополярній капілярній колонці SPTM – 2560 («Supelco», США) за ДСТУ ISO 5509:2002. Ідентифікацію жирних кислот здійснювали з використанням стандартної суміші метилових естерів жирних кислот – 37 Component FAME Mix («Supelco», США). Вміст жирних кислот виражали у відсотках до їх загального вмісту (Рівіс Й. Ф., Федорук Р. С., 2010). Активність ацил-ліпідних десатураз оцінювали за співвідношенням жирних кислот: C_{22:6ω3}/C_{18:3ω3} (активність ацил-ліпідної Δ3-десатурази) та C_{20:4ω6}/C_{18:2ω6} (активність ацил-ліпідної Δ6-десатурази).

Статистичне опрацювання результатів досліджень проводили методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента (t_d) за допомогою пакетів комп'ютерних програм у редакторі MS Excel 2016 та Origin 6.0 (Microsoft, USA). Зміни вважали вірогідними за P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст ліпідів та їх склад у тканинах і органах коропа *Suiprinus carpio* L. За вмістом загальних ліпідів тканини і органи коропа контрольної групи (стан активної життєдіяльності) можна розмістити у такому порядку: головний мозок (416 мг/г сирової тканини) > печінка (128 мг/г сирової тканини) > зябра (108 мг/г сирової тканини) > білі м'язи (86 мг/г сирової тканини). У результаті проведення висхідної одномірної тонкошарової хроматографії ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа контрольної групи виявлено такі класи ліпідів: триацилгліцероли, неестерифіковані жирні кислоти, фосфоліпіди, вільний та естерифікований холестерол. З'ясовано, що для головного мозку коропа характерний високий вміст як запасних – триацилгліцеролів (81,1 мг/г сирової тканини) та неестерифікованих жирних кислот (49,9 мг/г сирової тканини), так і структурних – фосфоліпідів (251,7 мг/г сирової тканини) та холестеролу (20,2 мг/г сирової тканини) ліпідів порівняно з іншими тканинами і органами. Відомо, що головний мозок стійкий до екзогенного впливу (Коломійцева И. П., 2011).

Перебування коропа у стані штучного гіпобіозу призводить до незначного зменшення вмісту загальних ліпідів у тканинах і органах коропа. За цих умов не встановлено якісних змін ліпідного спектра, але відбуваються модифікації у кількісному вмісті ліпідних компонентів, причому найбільші зміни відмічено на 24 год експозиції.

Вміст триацилгліцеролів, як основних запасних ліпідів, зменшується у тканинах і органах коропа за гіпобіозу. Так, на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку вміст триацилгліцеролів зменшується відповідно на 87 %, 84, 69 і 19 % порівняно з контролем (табл. 1). Крім того, констатовано зростання величини співвідношення фосфоліпід/триацилгліцероли – показник, що характеризує ступінь використання запасних ліпідів під час адаптації організму до дії чинників середовища. Найбільші зміни виявлено на 6 та 24 год експозиції гіпобіозу: у печінці величина цього співвідношення збільшується вірогідно у 2,9 та 8,6 раза, м'язах – у 2,3 та 6,8 раза, зябрах – у 1,8 та 3,4 раза порівняно з контролем. Для головного мозку коропа ці зміни вірогідні лише на 24 год експозиції гіпобіозу – в 1,3 раза порівняно з контролем.

Слід відмітити, що триацилгліцероли також є джерелом формування пулу неестерифікованих жирних кислот. З'ясовано, що на 6 год експозиції гіпобіозу у печінці, білих м'язах і зябрах вміст неестерифікованих жирних кислот зростає відповідно на 19 %, 14 і 18 %, а на 24 год експозиції – на 32 %, 21 і 23 % порівняно з контролем. У головному мозку впродовж усієї експозиції гіпобіозу їх вміст зростає невірогідно (табл. 1). Зміни вмісту неестерифікованих жирних кислот, які можуть використовуватись як посередники при синтезі структурних ліпідів, виступають одним із критеріїв оцінки спрямованості метаболізму ліпідів, зокрема, збільшення їх вмісту вказує на активацію ліполізу. Крім того, ці зміни розглядаються як наслідок загальної реакції організму риб на різні види стресу (Guler G. O. et al., 2008; Bell M. V., Tocher D. R., 2009; Hong H. et al., 2014).

Окрім триацилгліцеролів, до запасних ліпідів відносяться естери холестеролу, вміст яких у тканинах і органах коропа за штучного гіпобіозу (на 3 год, 6 та 24 год експозиції гіпобіозу) зростає, зокрема на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці, білих м'язах і зябрах – в 1,4; 2,3 та 1,3 раза порівняно з контролем. У головному мозку впродовж усієї експозиції вміст естерифікованого холестеролу змінюється невірогідно (табл. 1).

Величина співвідношення естерифікований холестерол/холестерол вірогідно зменшується на 3 год, 6 і 24 год експозиції гіпобіозу у печінці – на 12 %, 24 і 25 %; зябрах – на 6 %, 12 і 23 % порівняно з контролем. У білих м'язах ця величина зростає відповідно на 20 %, 34 і 40 %. Виявлені органоспецифічні зміни вмісту естерифікованого холестеролу, який у своєму складі містить ненасичені жирні кислоти, що можуть бути джерелом метаболічної активності, можливо вказує на роль естерифікованого холестеролу в адаптації організму коропа за штучного гіпобіозу. Крім того, зміна вмісту запасних ліпідів (зокрема триацилгліцеролів) у тканинах і органах

коропа в динаміці експозиції гіпокси-гіперкапнічного впливу може свідчити про їх використання для енергетичних потреб організму.

Таблиця 1

Вміст ліпідів у тканинах і органах коропа *Syrphius carpio* L. за штучного гіпобіозу, мг/г сирової тканини (M±m, n=5 для кожного терміну)

Тканина/ орган	Контроль	Дослід (ГП), години експозиції		
		ГП3	ГП6	ГП24
<i>Триацилгліцероли</i>				
Печінка	28,30±1,59	20,51±2,05*	10,31±1,21*	3,51±0,46*
Білі м'язи	12,21±0,79	8,30±0,46*	5,40±0,42*	1,90±0,67*
Зябра	17,60±2,09	14,02±2,65*	10,22±1,29*	5,40±1,38*
Головний мозок	81,12±2,55	75,01±2,09	70,71±2,05	65,91±2,09*
<i>Неестерифіковані жирні кислоти</i>				
Печінка	16,02±1,42	17,32±1,29	19,11±1,09*	21,81±1,46*
Білі м'язи	10,80±0,46	11,61±0,49	12,30±0,29	13,11±0,50*
Зябра	11,11±1,13	12,40±0,92	13,12±1,13*	13,70±1,04*
Головний мозок	49,91±0,96	50,41±0,92	51,01±0,88	51,82±0,88
<i>Фосфоліпіди</i>				
Печінка	78,03±2,09	79,60±0,92	81,62±0,34	82,71±0,56
Білі м'язи	60,21±0,63	61,02±0,67	61,90±0,59	63,31±0,34
Зябра	74,80±3,51	75,20±0,13	76,40±0,22	77,10±0,13
Головний мозок	251,7±1,8	252,5±1,9	253,1±1,72	254,1±1,9
<i>Холестерол</i>				
Печінка	2,20±0,13	3,03±0,25*	3,80±0,33*	4,11±0,38*
Білі м'язи	2,01±0,25	2,50±0,13*	2,81±0,13*	3,20±0,29*
Зябра	1,51±0,25	1,81±0,29	2,11±0,29*	2,60±0,33*
Головний мозок	20,02±0,63	21,20±0,37	22,22±0,49	23,31±0,50*
<i>Естерифікований холестерол</i>				
Печінка	3,50±0,21	4,21±0,13*	4,60±0,32*	4,91±0,25*
Білі м'язи	0,81±0,13	1,20±0,12*	1,51±0,13*	1,80±0,17*
Зябра	3,01±0,38	3,42±0,18*	3,70±0,29*	4,02±0,33*
Головний мозок	13,31±1,29	13,72±1,29	14,21±1,17	14,50±1,21

Примітка. ГП3 – 3 год експозиції штучного гіпобіозу; ГП6 – 6 год експозиції штучного гіпобіозу; ГП24 – 24 год експозиції штучного гіпобіозу; *P<0,05 порівняно з контрольною групою

Головні структурні ліпіди клітинних мембран – фосфоліпіди та холестерол – залучені до фізіолого-біохімічних і адаптивних процесів (Кольман Я., Рем К. Г., 2009). Встановлено, що вміст фосфоліпідів у тканинах і органах коропа в динаміці експозиції штучного гіпобіозу дещо зростає. Також виявлено, що впродовж усієї експозиції гіпобіозу зростає вміст холестеролу. Так, на 3 год експозиції гіпобіозу його вміст збільшується у печінці – в 1,4 раза та м'язах – в 1,3 раза; на 6 год експозиції гіпобіозу – у печінці – в 1,7 раза, м'язах – в 1,4 раза та зябрах – в 1,4 раза; на 24 год експозиції гіпобіозу – у

печінці в – 1,9 раза, м'язах – в 1,6 раза, зябрах – в 1,7 раза та мозку – в 1,2 раза порівняно з контролем (див. табл. 1). Відомо, що поряд із фосфоліпідами холестерол бере участь у забезпеченні ультраструктури та функціональної активності біомембран – впливає на рідинність, обумовлює активність мембранозв'язаних ензимів тощо (Ohvo-Rekia H. et al., 2002).

Інформативним показником стану клітинних мембран є величина співвідношення холестерол/фосфоліпіди, яка вірогідно зростає в тканинах і органах коропа за штучного гіпобіозу. Найбільші зміни констатовано на 24 год експозиції гіпобіозу: у печінці – в 1,8 раза, м'язах – 1,6 раза, зябрах – 1,7 раза та мозку – 1,2 раза порівняно з контролем.

Зростання за штучного гіпобіозу вмісту фосфоліпідів, холестеролу та величини співвідношення холестерол/фосфоліпіди у тканинах і органах коропа можливо супроводжується збільшенням мікрів'язкості ліпідного бішару клітинних мембран, тобто пов'язано з гомеов'язкісною адаптацією мембран (Hazel J. R., 1995). З іншого боку, враховуючи сигнальну роль холестеролу (Коломийцева И. К. и др., 2003; Гордон Д. Л. и др., 2006), це може характеризувати розвиток регуляторних процесів в організмі та посилення його стійкості до зовнішніх впливів. Отже, модифікаційні зміни вмісту ліпідних компонентів тканин і органів коропа, свідчать про розвиток адаптивних процесів в організмі за штучного гіпобіозу.

Вміст індивідуальних фосфоліпідів у тканинах і органах коропа *Suprinus carpio* L. У результаті проведення висхідної двомірної мікро-тонкошарової хроматографії ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа *Suprinus carpio* L. контрольної групи (в стані активної життєдіяльності) ідентифіковано та визначено дев'ять фракцій фосфоліпідів: фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, сфінгомієлін, фосфатидилінозитол, лізофосфатидилхолін, лізофосфатидилінозитол, кардіоліпін та фосфатидну кислоту. Констатовано, що у контролі склад фосфоліпідних фракцій тканин і органів коропа однаковий, а їх вміст органоспецифічний (рис. 1).

Перебування коропа у стані штучного гіпобіозу призводить до змін вмісту індивідуальних фосфоліпідів. У динаміці експозиції гіпобіозу (на 3 год, 6 та 24 год) виявлено зростання вмісту структурних фосфоліпідів – фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну. Найбільше зростання їх вмісту встановлено на 24 год експозиції гіпобіозу: у печінці відповідно на 16 і 24 %, м'язах – на 9 і 19 %, зябрах – на 9 і 19 % і мозку – на 4,8 і 6,4 % порівняно з контролем (рис. 2). За штучного гіпобіозу вірогідно зменшується величина співвідношення фосфатидилхолін/фосфатидилетаноламін в середньому на 8,3 % у тканинах і органах коропа. Зростання за цих умов вмісту структурних фосфоліпідів можливо спрямовано на стабілізацію структурної організації ліпідного бішару мембран, що розглядається як один із шляхів адаптації.

Виявлено перерозподіл у вмісті мінорних фосфоліпідів у динаміці експозиції штучного гіпобіозу (на 3 год, 6 та 24 год). Зокрема на 24 год експозиції гіпобіозу вміст фосфатидилінозитолу та фосфатидилсерину, які залучені до сигнальних систем клітин (Nohturfft A., Zhang S. C., 2009), зростає у

печінці на 106 і 42 %, м'язах – на 117 і 45 %, зябрах – на 87 і 38 % та мозку – на 30 і 14 % порівняно з контролем (рис. 2). Це може впливати на активність мембранозв'язаних ензимів, проникність мембран тощо.

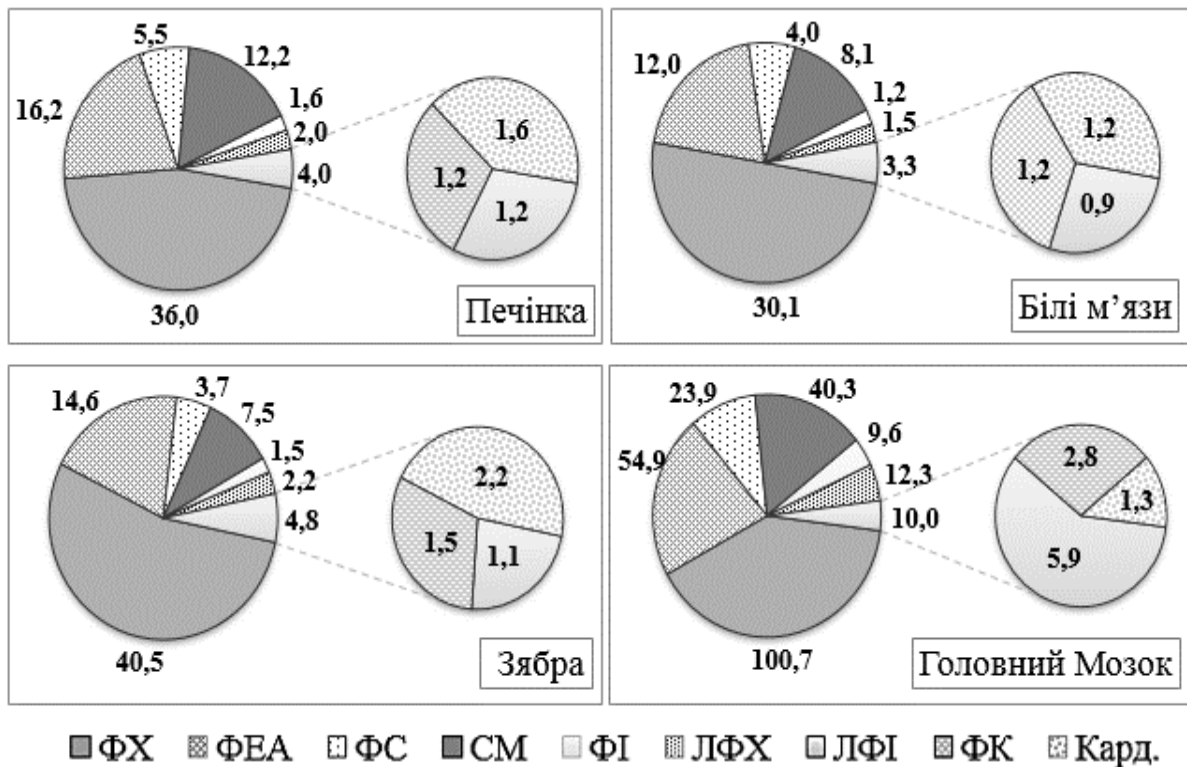


Рис. 1. Фосфоліпідний профіль ліпідів тканин і органів коропа *Cyprinus carpio* L. контрольної групи, мг/г сирої тканини ($M \pm m$, $n=5$)

Примітка. Тут і далі ФХ – фосфатидилхолін; ФЕА – фосфатидилетаноламін; ФС – фосфатидилсерин; СМ – сфінгомієлін; ФІ – фосфатидилінозитол; ЛФХ – лізофосфатидилхолін; ЛФІ – лізофосфатидилінозитол; ФК – фосфатидна кислота; Кард. – кардіоліпін

Виявлене зниження вмісту лізоформ фосфатидилхоліну та фосфатидилінозитолу у тканинах і органах коропа упродовж експозиції гіпобіозу вказує на пригнічення окисних процесів.

Вміст сфінгомієліну, який виступає як вторинний месенджер у багатьох клітинних процесах, зменшується у тканинах і органах коропа на 3-тю, 6-ту та 24-ту год експозиції гіпобіозу. Найбільші зміни констатовано на 24-ту год експозиції гіпобіозу: у печінці вміст сфінгомієліну зменшується порівняно з контролем від 12,7 до 3,1 мг/г сирої тканини; в м'язах – від 8,1 до 1,3 мг/г сирої тканини; в зябрах – від 7,5 до 0,6 мг/г сирої тканини і в головному мозку – від 40,3 до 30,6 мг/г сирої тканини.

Крім того, показано зменшення величин співвідношення фосфатидилхолін/фосфатидилсерин, фосфатидилетаноламін/фосфатидилсерин та сфінгомієлін/фосфатидилхолін у тканинах і органах коропа за штучного гіпобіозу. Зокрема, на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці, м'язах і зябрах величина співвідношення фосфатидилхолін/фосфатидилсерин зменшується

відповідно на 18,2 %, 24,8 і 20,8 %, а фосфатидилетаноламін/фосфатидилсерин – на 12,5 %, 17,9 і 13,7 % порівняно з контролем. За таких умов величина співвідношення сфінгомієлін/фосфатидилхолін у цих зразках тканин і органів знижується відповідно на 80 %, 85, 94,7 і 27,5 % порівняно з контролем (рис. 3).

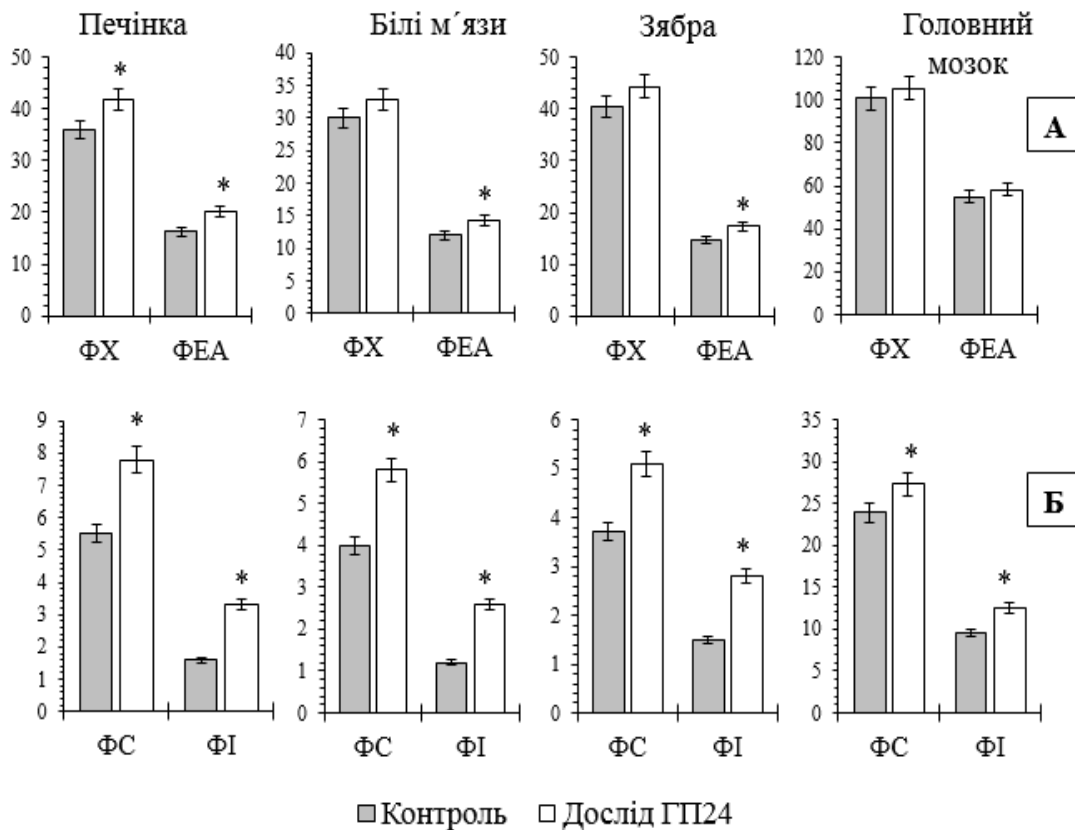


Рис. 2. Вміст фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну (А), фосфатидилсерину та фосфатидилінозитолу (Б) у тканинах і органах коропа *Cyprinus carpio* L. на 24 год експозиції (ГП24) штучного гіпобіозу, мг/г сирії тканини ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)

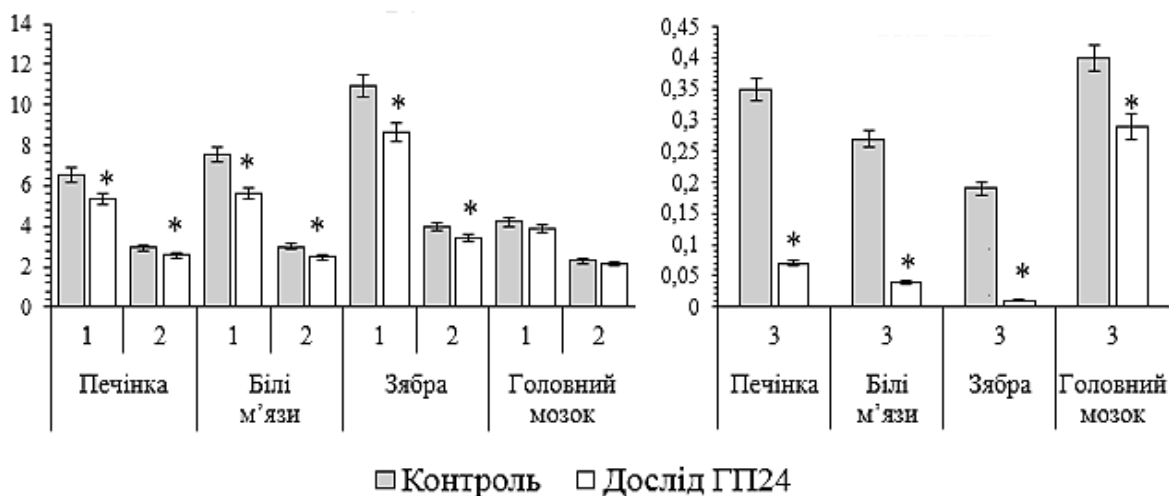


Рис. 3. Величини співвідношення фосфатидилхолін/фосфатидилсерин (1), фосфатидилетаноламін/фосфатидилсерин (2) та сфінгомієлін/фосфатидилхолін (3) у тканинах і органах коропа *Cyprinus carpio* L. на 24 год експозиції штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)

Встановлена модифікація вмісту індивідуальних фосфоліпідів у тканинах і органах коропа за штучного гіпобіозу може бути пов'язана з участю фосфоліпідів у сигнальних системах клітин та структурних перебудовах клітинних мембран (Allen H. G. et al., 2006; Ляврін Б. З. та ін., 2014), що вказує на залучення фосфоліпідів до участі у специфічних реакціях адаптації організму.

Жирнокислотний профіль ліпідів тканин і органів коропа *Syrpinus carpio* L. Важливі структурні та енергетичні компоненти клітин – жирні кислоти – відіграють значну роль у процесах біохімічної адаптації, що спрямована на захист організму від дії стрес-чинників довкілля (Веланський П. В., 2008; Коломийцева И. П., 2011).

У тканинах і органах коропа контрольної (стан активної життєдіяльності) та дослідної груп виявлено та кількісно визначено 28 жирних кислот. Насичені жирні кислоти найбільш представлені пальмітиною ($C_{16:0}$) та стеариною ($C_{18:0}$) кислотами, а ненасичені – олеїною ($C_{18:1\omega9}$), лінолевою ($C_{18:2\omega6}$), арахідоною ($C_{20:4\omega6}$), ейкозапентаєною ($C_{20:5\omega3}$) та докозагексаєною ($C_{22:6\omega3}$) кислотами. Сумарний рівень ненасичених жирних кислот у тканинах і органах коропа значно вищий, ніж сумарний рівень насичених кислот, що характерно для холоднокровних організмів, зокрема риб (Немова Н. Н. и др., 2015).

За вмістом ненасичених жирних кислот тканини та органи коропа можна розмістити у такому порядку: білі м'язи > печінка > зябра > головний мозок. Вміст поліненасичених (полієнових) жирних кислот вищий у білих м'язах і печінці, нижчий у зябрах і найнижчий у головному мозку. Крім того, для ліпідів головного мозку коропа характерний високий вміст мононенасичених (моноєнових) жирних кислот. Найбільший вміст жирних кислот родини $\omega3$ виявлено у печінці і м'язах, родини $\omega6$ – у м'язах та зябрах, а вміст жирних кислот родини $\omega9$ – у головному мозку (табл. 2). Переважаючий вміст у головному мозку коропа насичених жирних кислот та кислот родини $\omega9$ можливо обумовлює його структурно-функціональні особливості.

Встановлено, що за штучного гіпобіозу жирнокислотний спектр ліпідів тканин і органів коропа не відрізняється від контрольної групи, однак на 3 год, 6 та 24 год експозиції гіпобіозу виявлено перерозподіл вмісту жирних кислот. Характерною особливістю жирнокислотного профілю тканин і органів коропа за штучного гіпобіозу є зменшення сумарного вмісту насичених жирних кислот (переважно за рахунок вмісту $C_{16:0}$ та $C_{18:0}$ кислот). Зокрема, на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку сумарний вміст насичених кислот знижується відповідно на 43 %, 66, 42 і 22 % порівняно з контролем (табл. 2), що можливо пов'язано з їх використанням для енергетичних потреб (найбільші зміни виявлено для білих м'язів).

Водночас зростає сумарний вміст ненасичених жирних кислот (табл. 2) та зменшується величина співвідношення насичені/ненасичені кислоти (коефіцієнт насиченості ліпідів), що на 24 год експозиції гіпобіозу становить: у печінці – 0,26 проти 0,58, м'язах – 0,12 проти 0,47, зябрах – 0,28 проти 0,62 та головному мозку – 0,49 проти 0,74 у контролі.

**Сумарний вміст жирних кислот у тканинах і органах коропа
Cyprinus carpio L. за штучного гіпобіозу, % від загального вмісту
жирних кислот ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)**

Тканина/ орган	Контроль	Дослід (ГП), години експозиції		
		ГП3	ГП6	ГП24
<i>Насичені жирні кислоти</i>				
Печінка	36,52±0,80	32,43±3,02	28,01±2,15*	20,75±1,70*
Білі м'язи	32,12±1,56	25,75±1,50	18,73±1,30*	10,96±1,48*
Зябра	38,20±0,97	33,51±2,02*	28,05±1,12*	22,01±1,91*
Головний мозок	42,41±1,28	39,59±1,47	36,17±0,81*	32,90±2,11*
<i>Ненасичені жирні кислоти</i>				
Печінка	63,48±0,83	67,57±1,59	71,99±2,35*	79,25±2,47*
Білі м'язи	67,91±2,18	74,25±2,44	81,27±2,24*	89,04±2,05*
Зябра	61,80±1,40	66,49±1,63	71,95±3,00*	77,99±2,70*
Головний мозок	57,62±0,75	60,41±1,28	63,83±2,57	67,10±1,40*
<i>Моноенові жирні кислоти</i>				
Печінка	25,02±0,74	26,55±1,02	28,25±0,76*	30,31±2,06*
Білі м'язи	27,20±1,08	28,73±1,77	30,51±1,95	32,10±1,63*
Зябра	27,81±1,44	29,40±1,49	30,71±1,32	32,20±2,98*
Головний мозок	39,31±1,07	40,32±1,24	41,67±1,32	42,75±1,47
<i>Полієнові жирні кислот</i>				
Печінка	38,48±0,60	41,02±1,58	43,74±1,10*	48,94±0,91*
Білі м'язи	40,70±1,53	45,52±1,33	50,77±1,51*	56,94±1,33*
Зябра	34,01±1,27	37,09±1,31	41,24±0,99*	45,79±2,05*
Головний мозок	18,31±1,54	20,09±0,58	22,16±1,41*	24,35±0,98*

Виявлене зменшення величини відношення $C_{16:0}/C_{20:4\omega6}$, $C_{16:0}/C_{22:6\omega3}$ та $C_{16:0}/(C_{20:4\omega6} + C_{20:5\omega3} + C_{22:6\omega3})$, що характеризує ступінь ненасиченості загальних ліпідів (Смолянінов К. Б., 2002), також вказує на зростання ненасиченості ліпідів тканин і органів організму риб за штучного гіпобіозу.

Сумарний вміст полієнових жирних кислот за гіпобіозу зростає у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку, зокрема, на 24 год експозиції на 27 %, 40, 35 і 33 % порівняно з контролем. Сумарний вміст моноєнових жирних кислот збільшується у печінці, білих м'язах і зябрах, зокрема на 24 год експозиції гіпобіозу на 21 %, 18 і 15,8 % порівняно з контролем (див. табл. 2). У головному мозку коропа, для якого у стані активної життєдіяльності характерний найвищий вміст моноєнових кислот, не виявлено вірогідних змін вмісту цих жирних кислот у динаміці експозиції гіпобіозу.

Відомо, що присутність довголанцюгових полієнових жирних кислот (особливо з 20–22 атомами карбону) розширяє діапазон термотолерантності організмів. Можливо, за гіпобіозу зростання їх вмісту нівелює негативний вплив зниження температури. Так, показано, що полієнові жирні кислоти мають знижену чутливість до змін температури порівняно з насиченими кислотами

(Немова Н. Н. и др., 2015). Ці кислоти, зокрема родин $\omega 3$ та $\omega 6$, можуть бути ендогенними біорегуляторами, що проявляють широкий спектр адаптивних властивостей організму (Arts M. T. et al., 2001).

За штучного гіпобіозу у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку коропа встановлено зростання сумарного вмісту жирних кислот родини $\omega 6$, зокрема на 24 год експозиції відповідно на 32 %, 49, 40 і 68,8 %, а також зростання сумарного вмісту кислот родини $\omega 3$, зокрема за цих умов відповідно на 23 %, 28, 26 і 12,9 % порівняно з контролем (рис. 4).

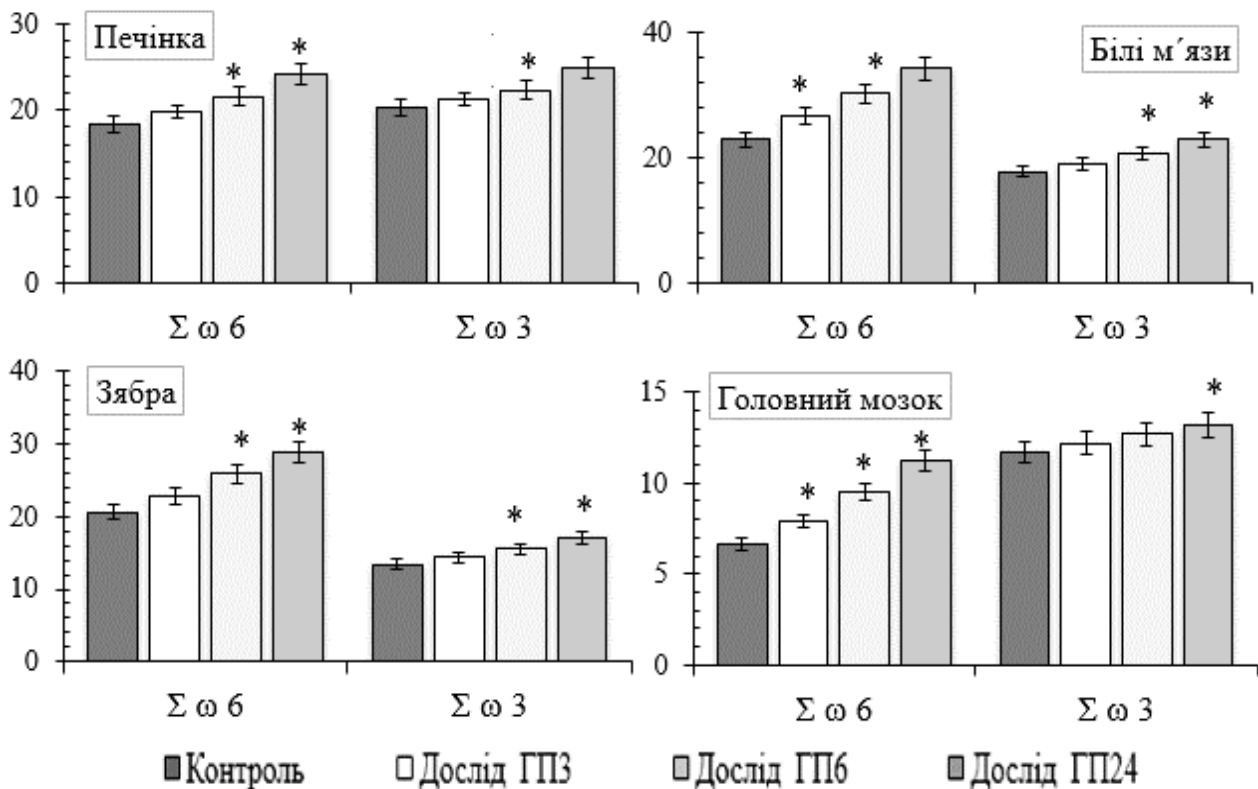


Рис. 4 Вміст жирних кислот родин $\omega 3$ і $\omega 6$ у тканинах і органах коропа *Suaprinus carpio* L. за штучного гіпобіозу, % від загального вмісту жирних кислот ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)

Щодо вмісту довголанцюгових полієнових жирних кислот родини $\omega 3$, то за штучного гіпобіозу відмічено накопичення $C_{20:5\omega 3}$ та $C_{22:6\omega 3}$, які можуть бути попередниками для синтезу ейкозаноїдів (простагландинів, лейкотрієнів та ін.) і використовуватись для енергетичних потреб за екстремальних умов (Tocher D. R., 2005). Крім того, $C_{20:5\omega 3}$ та $C_{22:6\omega 3}$ властиві функції температурного адаптаційного стабілізатора ліпідних бішарів клітинних мембран (Попова Е. М., Кошій І. В., 2007).

З іншого боку, за штучного гіпобіозу у тканинах і органах коропа зростання сумарного вмісту полієнових жирних кислот родини $\omega 6$ переважає над зростанням кислот родини $\omega 3$. Це може вказувати на необхідність довголанцюгових полієнових кислот родини $\omega 6$ для синтезу метаболітів з високою фізіологічною активністю (ейкозаноїдів) чи підтримання необхідної мікров'язкості мембран.

Відомо, що температура плавлення полієнових жирних кислот родини $\omega 6$ вища, ніж $\omega 3$, тому мембрани, збагачені $\omega 6$ жирними кислотами, більш стабільні до впливу екзогенних чинників (Смолянінов К. Б., 2002; Немова Н. Н. та ін., 2014).

Важливою незамінною жирною кислотою родини $\omega 6$ є арахідонова кислота ($C_{20:4\omega 6}$), яка входить до складу фосфоліпідів, бере участь у метаболізмі речовин, синтезі простагландинів і необхідна для захисту клітин (Смолянінов К. Б. та ін., 2002; Сереева М. Г. та ін., 2006).

Відмічено збільшення вмісту $C_{20:4\omega 6}$ у тканинах і органах коропа за штучного гіпобіозу. Так, на 24 год експозиції гіпобіозу вміст цієї кислоти вірогідно зростає у печінці, білих м'язах і головному мозку відповідно на 15 %, 86,7 і 59,3 % порівняно з контролем.

Важливим є підтримання величини співвідношення $\omega 3/\omega 6$, що характеризує тип ейкозаноїдів, які синтезуються в організмі. За гіпобіозу встановлено вірогідне зниження цієї величини у тканинах і органах коропа. Слід відмітити, що для головного мозку встановлено найбільші зміни вмісту як кислот родини $\omega 6$ (зростання на 68,8 % на 24 год експозиції) (див. рис. 4), так і величини співвідношення $\omega 3/\omega 6$ (зниження на 33 % на 24 год експозиції).

Отримані результати дозволяють припустити, що регуляція життєвих функцій коропа за гіпобіотичного стану обумовлена модифікаціями у тканинах і органах жирних кислот ліпідів, зокрема полієнових кислот.

Варто зазначити, що виявлена за штучного гіпобіозу зміна величини ступеня ненасиченості жирних кислот (особливо за рахунок $\omega 3$ та $\omega 6$) у тканинах і органах коропа може відбуватися за участі ацил-ліпідних $\Delta 3$ - та $\Delta 6$ -десатураз, які обумовлюють реакцію десатурації жирних кислот у положенні 3 і 6 відповідно (Tocher D. R, 2003).

За штучного гіпобіозу встановлено зміни величини індексу десатурації (співвідношення $C_{22:6\omega 3}/C_{18:3\omega 3}$ та $C_{20:4\omega 6}/C_{18:2\omega 6}$) (рис. 5).

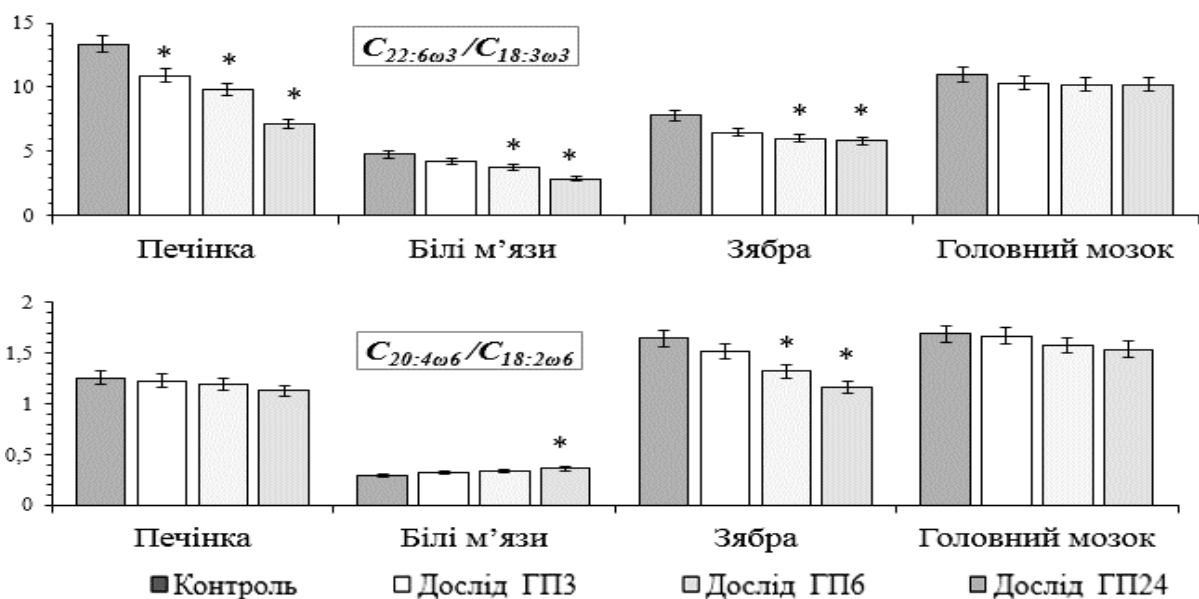


Рис. 5 Індекси десатурації жирних кислот ліпідів тканин і органів коропа *Cyprinus carpio* L. за штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)

З'ясовано, що індекс інтенсивності обміну ліпідів ($C_{16:0}/C_{18:1\omega9}$) на 3 год, 6 і 24 год експозиції гіпобіозу зменшується у печінці відповідно на 16 %, 31 і 54 %, м'язах – 25 %, 52 і 82 %, зябрах – 16 %, 32 і 51 % та головному мозку – 8 %, 18 і 26 % порівняно з контролем (рис. 6). Одержані результати вказують на пригнічення процесів метаболізму жирних кислот ліпідів організму риб у динаміці експозиції штучного гіпобіозу.

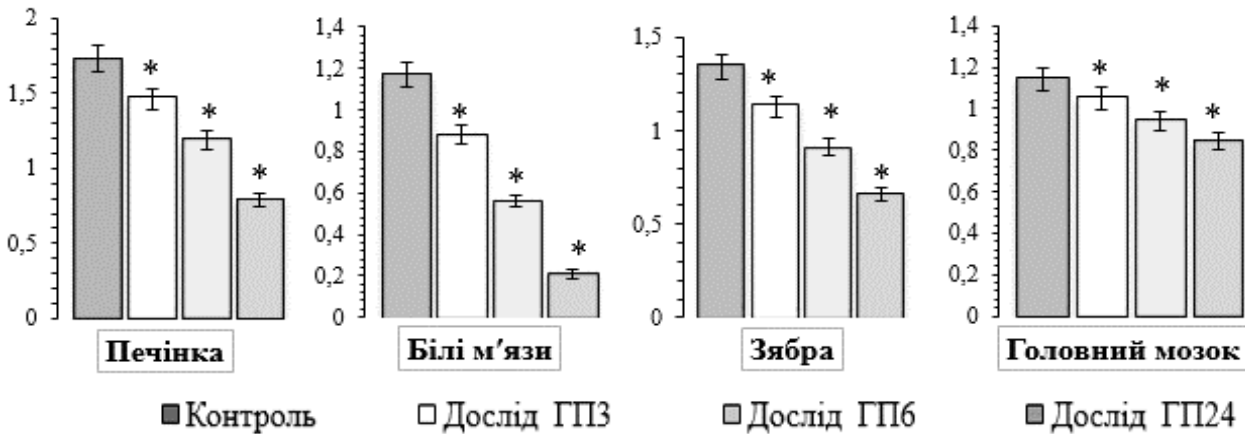


Рис. 6 Індекс інтенсивності обміну ліпідів ($C_{16:0}/C_{18:1\omega9}$) у тканинах і органах коропа *Cyprinus carpio* L. за штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n=5$ для кожного терміну)

Результати досліджень свідчать про залучення ліпідів та жирних кислот у механізми адаптації риб до штучного гіпобіозу шляхом впливу на функціональну активність тканин і органів організму. Перерозподіл у вмісті жирних кислот головного мозку коропа спрямовано на підтримку його структурно-функціональної стабільності, а білих м'язів – переважно обумовлює забезпечення енергетичних потреб.

Отримані у дисертації результати стосовно гіпопси-гіперкапнічного, як і за інших екзогенних впливів (Немова Н. Н. и др., 2015), свідчать, що для риб характерне швидке залучення жирних кислот в адаптивні реакції організму. Порівняно із короповими, осетрові, до яких відноситься стерлядь *Acipenser ruthenus* L., більш древній хрящевий вид риб, відрізняються інтенсивною метаболічною активністю речовин у тканинах і органах (Gesner J.; Freyhof J. & Kottelat M., 2010). Підібрані у дослідженні умови гіпоксигіперкапнічного середовища дозволяють підтримувати стерлядь у гіпобіотичному стані з поверненням фізіологічних ознак та стабілізацією обміну речовин. У ліпідах печінки та білих м'язів стерляді *Acipenser ruthenus* L. контрольної та дослідної групи виявлено та кількісно ідентифіковано 24 жирні кислоти з високим вмістом ненасичених жирних кислот. Серед насичених жирних кислот домінують $C_{16:0}$ та $C_{18:0}$ кислоти, а серед ненасичених переважають $C_{18:1\omega9}$, $C_{18:2\omega6}$, $C_{18:3\omega3}$, $C_{20:4\omega6}$, $C_{20:5\omega3}$, $C_{22:6\omega3}$ кислоти. За штучного гіпобіозу у тканинах і органах стерляді пригнічуються процеси метаболізму жирних кислот, про що свідчить зменшення величини індексу інтенсивності обміну ліпідів ($C_{16:0}/C_{18:1\omega9}$).

Встановлено, що вже на ранніх термінах експозиції гіпобіозу перерозподіл у вмісті жирних кислот призводить до зниження сумарного вмісту насичених та зростання ненасичених жирних кислот у печінці та білих м'язах стерляді. Найсуттєвіші зміни стосуються перерозподілу у вмісті полієнових кислот, зокрема родин $\omega 3$ та $\omega 6$. Вміст фізіологічно важливих для риб полієнових кислот зростає, зокрема, $C_{20:4\omega 6}$, $C_{20:5\omega 3}$ та $C_{22:6\omega 3}$ кислот у печінці – на 20 %, 23 і 12 %, а білих м'язах на 28 %, 16 і 16 %, порівняно з контролем. Зростання вмісту метаболічно-активних $\omega 3$ та $\omega 6$, а також підтримання оптимального співвідношення $\omega 3/\omega 6$ може бути за участі ацил-ліпідних $\Delta 3$ - та $\Delta 6$ -десатураз. Тобто, модифікація вмісту жирних кислот, передусім $\omega 3$ та $\omega 6$, тканин і органів стерляді *Acipenser ruthenus* L., як і коропа *Cyprinus carpio* L., за штучного гіпобіозу виступає складовою біохімічного механізму адаптивної реакції організму риб.

Отже, штучний гіпобіоз можна розглядати як один із видів стресового впливу, а зміни вмісту ліпідної та жирнокислотної складової тканин і органів мають адаптивний характер щодо дії чинників штучного гіпобіозу, які спрямовані на підтримання гомеостазу і життєздатності організму риб.

ВИСНОВКИ

У дисертації вперше на основі результатів експериментальних досліджень складу та вмісту ліпідів, їх співвідношення, а також жирнокислотного спектра ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа української лускатої породи *Cyprinus carpio* L. показано, що виявлені модифікації ліпідної компоненти у тканинах і органах за штучного гіпобіозу, які посилюються в динаміці перебування риб у гіпобіотичному стані, є складовою реактивності організму для забезпечення підтримання гомеостазу та життєздатності риб за змінених умов перебування.

1. Встановлено, що вміст і розподіл полярних і неполярних ліпідів, індивідуальних фосфоліпідів, їх співвідношення, а також жирних кислот ліпідів печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа *Cyprinus carpio* L. у стані активної життєдіяльності є органоспецифічним, що обумовлено їх фізіолого-біохімічними та функціональними особливостями.

2. З'ясовано, що перебування коропа за штучного гіпобіозу (3 год, 6 і 24 год експозиції) характеризується змінами у вмісті триацилгліцеролів, естерифікованого холестеролу, а також величини співвідношення фосфоліпід/триацилгліцероли. Зокрема, на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку вміст триацилгліцеролів зменшується відповідно на 87 %, 84, 69 і 19 % порівняно з контролем.

3. За штучного гіпобіозу у тканинах і органах коропа зростає вміст фосфоліпідів, холестеролу, неестерифікованих жирних кислот та величини співвідношення холестерол/фосфоліпід. Зокрема, на 24 год експозиції у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку збільшується вміст холестеролу відповідно в 1,9 раза; 1,6, 1,7 та 1,2 раза, а величина співвідношення фосфоліпід/холестерол – на 44 %, 35, 41 та 14 % порівняно з контролем.

4. За експозиції штучного гіпобіозу (на 3 год, 6 та 24 год) виявлено зростання вмісту фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та величини їх співвідношення. Зокрема, на 24 год експозиції гіпобіозу у печінці вміст цих фосфоліпідів зростає відповідно на 16 і 24 %, м'язах – на 9 і 19 %, а у зябрах – на 9 і 19 % порівняно з контролем.

5. За гіпокси-гіперкапнічного впливу виявлено модифікацію пулу мінорних фосфоліпідів, залучених до регуляторних та сигнальних процесів: у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку коропа вміст фосфатидилсерину та фосфатидилінозитулу зростає, а сфінгомієліну знижується, що приводить до змін величин їх співвідношення.

6. У загальних ліпідах тканин і органів коропа у стані активної життєдіяльності та за штучного гіпобіозу виявлено та кількісно ідентифіковано 28 жирних кислот. За гіпобіотичного стану відмічено перерозподіл у вмісті жирних кислот: вміст насичених знижується, а ненасичених зростає – у печінці, білих м'язах та зябрах за рахунок як полієнових, так і моноєнових жирних кислот, а у головному мозку, переважно за рахунок полієнових кислот.

7. Показано, що за штучного гіпобіозу у тканинах і органах коропа зростає вміст полієнових жирних кислот родин $\omega 3$ та $\omega 6$: у тому числі, у печінці – на 23 і 32 %, білих м'язах – на 27,8 і 48,6 %, зябрах – на 26 і 40 % та головному мозку – на 12,9 і 68,8 % відповідно на 24 год експозиції гіпобіозу. Величини індексу десатурації ($C_{22:6\omega 3}/C_{18:3\omega 3}$ та $C_{20:4\omega 6}/C_{18:2\omega 6}$) також змінюються, що має адаптивне значення за гіпобіозу.

8. За штучного гіпобіозу у тканинах і органах коропа *Cyprinus carpio* L. та стерляді *Acipenser ruthenus* L. відмічено зниження інтенсивності обміну ліпідів (величина $C_{16:0}/C_{18:1\omega 9}$), а також подібні зміни у вмісті жирних кислот, зокрема метаболічно значимих $\omega 3$ та $\omega 6$.

9. Встановлена варіабельність ліпідів та жирних кислот печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа *Cyprinus carpio* L. забезпечує адаптацію організму риб до гіпокси-гіперкапнічного впливу, а за величиною змін досліджуваних показників за штучного гіпобіозу ці тканини та органи можна розмістити у такому порядку: головний мозок < зябра < білі м'язи < печінка.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Рекомендується застосовувати спосіб переведення риби у стан штучного гіпобіозу, що полягає у використанні гіпокси-гіперкапнії, для зменшення загибелі риби під час транспортування, чи як анестезію при проведенні прижиттєвих маніпуляцій (штучному заплідненні, маркуванні, біометричній оцінці, біопсії тощо).

2. Показники, які характеризують зміни ліпідного та жирнокислотного спектрів у тканинах і органах риб за штучного гіпобіозу, пропонується використовувати при запровадженні критеріїв під час розроблення системи оцінки рівня стійкості та адаптаційного потенціалу риб за екзогенних впливів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Мельничук Д. О., Сисолятин С. В. Динаміка ліпідного складу тканини печінки риб за умов штучного гіпобіозу. Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. 2005. Т. 7. № 3 (26). Ч. 2. С. 125–129. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*

2. Сисолятин С. В. Жирнокислотний спектр ліпідів головного мозку риб за умов штучного гіпобіозу. Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. 2006. Т. 8. № 2 (29). Ч. 2. С. 131–137.

3. Сисолятин С. В. Фосфоліпідний спектр тканини печінки риб за умов штучного гіпобіозу. Вісник аграрної науки. 2006. № 2. С. 80–82.

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних:

4. Сисолятин С. В. Ліпідний склад тканин лускатого коропа *Cyprinus carpio* L. за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу. Рибогосподарська наука України. 2016. № 3 (37). С. 111–122.

5. Сисолятин С. В. Вміст ліпідів у білих м'язах та зябрах коропа *Cyprinus carpio* L. за гіпоксигіперкапічного впливу. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2017. № 76. С. 179–183.

6. Сисолятин С. В. Вміст жирних кислот в органах *Cyprinus carpio* L. за різних умов існування. Біологія тварин. 2017. Т. 19. № 3. С. 88–98.

7. **Sysoliatin S. V.**, Khyzhnyak S. V. Content of Phospholipid Fractions in Organs and Tissues of Carp under Artificial Carbon-Dioxide Hypobiosis. *Hydrobiological Journal*. 2017. Vol. 53 (5). P. 94–102. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*

8. **Sysoliatin S. V.**, Midyk S. V., Khyzhnyak S. V. Influence of Hypoxia and Hypercapnia on Fatty Acid Composition of Lipids in White Muscles of Common Carp *Cyprinus carpio*. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017. Vol. 27 (3). P. 195–202. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано математичну обробку, інтерпретовано результати, підготовлено матеріали до друку).*

9. Khyzhnyak S. V., Midyk S. V., **Sysoliatin S. V.**, Voytsitskiy V. M. Content of Fatty Acids in Liver and Heart of Sterlet (*Acipenser ruthenus*) under Hypoxy-hypercapnic Impact. *Hydrobiological Journal*. 2018. Vol. 54 (1). P. 82–88. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*

Стаття у науковому виданні України,

включеному до міжнародних наукометричних баз даних

10. Сисолятин С. В., Хижняк С. В. Жирнокислотний склад загальних ліпідів печінки коропа (*Cyprinus carpio* L.) за штучного гіпобіозу. Доповіді

Національної академії наук України. 2017. № 8. С. 102–105. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*

Патент України на корисну модель

11. Хижняк С. В., Войціцький В. М., Малишева О. О., Сисолятін С. В. Патент на корисну модель, Україна, № 111974. Спосіб застосування киснево-вуглекислотного середовища для анестезії осетрових риб; заявлено 03.06.2016; опубліковано 25.11.2016. Бюл. № 22. *(Здобувач брав участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовці та оформленні патенту).*

Тези наукових доповідей:

12. Сысолятин С. В. Жирнокислотный спектр печени карпа в состоянии искусственного гипобиеза. Проблемы и решения в современном рыбном хозяйстве на Азовском бассейне: Юбилейная научно-практическая конференция, посвящённая 30-летию Юбилею основания в г. Бердянске рыбохозяйственной науки, г. Бердянск, 9–11 ноября 2005 года: тезы доклада. Бердянск, 2005. С. 83–85.

13. Сисолятін С. В. Фосфоліпідний склад м'язів риб за умов штучного гіпобіозу. Молодь і поступ біології: II Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів, м. Львів, 21–24 березня 2006 року: тези доповіді. Львів, 2006. С. 69–70.

14. Сисолятін С. Штучний вуглекислотний гіпобіоз – альтернативний шлях збереження риби підчас транспортування. Національне виробництво й економіка в умовах реформування: стан і перспективи інноваційного розвитку та міжрегіональної інтеграції: II Міжнародна науково-практична конференція, м. Кам'янець-Подільський, 28 жовтня 2016 року: тези доповіді. Тернопіль, 2016. С. 109–111.

15. Сисолятін С., Блохін О. Вміст холестеролу та його естерів в тканинах і органах коропа (*Suipinus carpio* L.) за штучного гіпобіозу. Аграрна наука та освіта Поділля: Міжнародна науково-практична конференція, м. Кам'янець-Подільський, 14–16 березня 2017 року: тези доповіді. Тернопіль, 2017. С. 357–359. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано математичну обробку, інтерпретовано результати, підготовлено матеріали до друку).*

16. Сисолятін С. В. Жирнокислотний склад білих м'язів коропа за штучного гіпобіозу. Актуальні проблеми ветеринарної медицини: XVI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів, м. Київ, 19–20 квітня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 80–82.

17. Сисолятін С. В. Формування штучного гіпобіотичного стану в організмі коропа. Ольвійський форум – 2017: стратегії країн Причорноморського регіону в геополітичному просторі: XI Міжнародна науково-практична конференція, м. Миколаїв, смт. Коблево, 8–11 червня 2017 року: тези доповіді. Миколаїв, 2017. С. 40–42.

18. Сисолятин С. В. Вплив гіпокси-гіперкапнії на вміст ліпідів у тканинах коропа *Cyprinus carpio* L. Сучасні інформаційні технології управління екологічною безпекою, природокористуванням, заходами в надзвичайних ситуаціях: XVI Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 3–4 жовтня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 226–228.

АНОТАЦІЯ

Сисолятин С. В. Ліпідний та жирнокислотний склад тканин і органів коропа *Cyprinus carpio* L. за штучного гіпобіозу. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 «Біохімія». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2018.

У дисертації вперше досліджено склад та вміст ліпідів, їх співвідношення та ступінь ненасиченості загальних ліпідів у печінці, білих м'язах, зябрах і головному мозку коропа *Cyprinus carpio* L. у стані активної життєдіяльності та за штучного гіпобіозу (на 3 год, 6 та 24 год експозиції). На підставі отриманих результатів показана органоспецифічність ліпідного та жирнокислотного вмісту ліпідів в організмі коропа у стані активної життєдіяльності, що залежить від фізіолого-біохімічних особливостей тканин і органів риб. Встановлено, що за штучного гіпобіозу відбуваються модифікації вмісту ліпідів у тканинах і органах риб із подовженням терміну експозиції, зокрема найбільш виражені зміни відмічено на 24 год експозиції гіпобіозу. Збільшення вмісту фосфотидилхоліну, фосфотидилетаноламіну та холестеролу, основних структурних ліпідів можливо пов'язано з модифікацією клітинних мембран в умовах досліду. Виявлене зниження вмісту триацилгліцеролів, а також підвищення вмісту неестерифікованих жирних кислот та естерів холестеролу спрямовано на забезпечення енергетичного потенціалу організму коропа за гіпокси-гіперкапнічного впливу.

У дисертації представлено результати досліджень жирнокислотного спектра печінки, білих м'язів, зябер і головного мозку коропа *Cyprinus carpio* L. за штучного гіпобіозу. Показано зниження сумарного вмісту насичених та зростання ненасичених жирних кислот, переважно за рахунок полієнових жирних кислот родин $\omega 3$ та $\omega 6$, що можливо виступає складовою механізму дії гіпокси-гіперкапнічного середовища. Подібні зміни стосовно перерозподілу вмісту полієнових жирних кислот у тканинах та органах за штучного гіпобіозу відмічено і у стерляді *Acipenser ruthenus* L. Виявлені модифікації ліпідного складу, вмісту жирних кислот ліпідів тканин і органів риб мають адаптивний характер та пояснюються їх залученням до зміни системи реактивності організму за штучного гіпобіозу.

Ключові слова: ліпіди, триацилгліцероли, фосфоліпіди, холестерол, насичені і ненасичені жирні кислоти, короп, стерлядь, печінка, білі м'язи, зябра, головний мозок, штучний гіпобіоз.

АННОТАЦИЯ

Сысолятин С. В. Липидный и жирнокислотный состав тканей и органов карпа *Cyprinus carpio* L. при искусственном гипобиозе. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 «Биохимия». Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. Киев, 2018.

Диссертация посвящена выяснению участия липидов и жирных кислот в реакции организма карпа украинской чешуйчатой породы *Cyprinus carpio* L. на влияние гипоксии-гиперкапнии (искусственный гипобиоз), основываясь на определении их состава и содержания в тканях и органах.

Сравнительный анализ содержания липидов в печени, белых мышцах, жабрах, головного мозга карпа свидетельствует об органоспецифичности. Установлено, что в сравнении с другими органами, для головного мозга карпа показано высокое содержание как запасных липидов (триацилглицеролов), так и структурных (фосфолипидов и холестерина), поскольку он содержит богатыми липидами уникальные мембранные структуры (миелиновые оболочки нервных волокон).

Пребывание карпа *Cyprinus carpio* L. в гипоксии-гиперкапнической среде приводит к количественному перераспределению липидов в тканях и органах рыб. Отмечено, что с увеличением срока экспозиции гипобиоза происходит уменьшение содержания триацилглицеролов в печени, белых мышцах и жабрах карпа. Величина соотношения фосфолипиды/триацилглицеролы, характеризующая степень использования запасных липидов и стабильность мембран в условиях адаптации, возрастает при искусственном гипобиозе. Показано увеличение содержания фосфолипидов и холестерина, а также величины соотношения холестерол/фосфолипиды, что рассматривается как стабилизирующий фактор клеточных мембран.

В тканях и органах карпа *Cyprinus carpio* L. контрольной и экспериментальной групп идентифицировано девять фракций фосфолипидов. При искусственном гипобиозе установлена модификация их содержания в печени, белых мышцах, жабрах и мозге карпа. В частности, в этих тканях и органах возрастает содержание как структурных фосфолипидов – фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, так и минорных – фосфатидилинозитола, фосфатидилсерина, причем наиболее выраженные изменения наблюдаются при 24 часовой экспозиции гипобиоза. Кроме того, показателем структурных и функциональных изменений в клетках являются величины отношений содержания отдельных фосфолипидных фракций. Отмечено, что при искусственном гипобиозе в печени, мышцах и жабрах карпа *Cyprinus carpio* L. наблюдается уменьшение величин соотношений индивидуальных фосфолипидов. Уменьшение содержания сфингомиелина и величины отношения сфингомиелин/фосфатидилхолин в печени, жабрах и мышцах карпа связывают с развитием адаптивных процессов. Для головного мозга карпа не обнаружено достоверных изменений в содержании индивидуальных фосфолипидов при искусственном гипобиозе.

Важные структурные и энергетические компоненты клеток – жирные кислоты – выполняют значительную роль не только в метаболизме, но и в развитии биохимической адаптации, направленной на защиту организма на действие экстремальных факторов окружающей среды. В тканях и органах карпа *Cyprinus carpio* L. контрольной группы количественно определены 28 жирных кислот. Пул жирных кислот липидов тканей и органов карпа отличается по содержанию насыщенных жирных кислот, а также ненасыщенных семейств $\omega 3$, $\omega 6$ и $\omega 9$. Показано, что при искусственном гипобиозе жирнокислотный спектр липидов тканей и органов карпа *Cyprinus carpio* L. не отличается от контроля, однако наблюдается перераспределение их содержания: снижение насыщенных жирных кислот, что связано с использованием их в качестве энергетического субстрата, и увеличение ненасыщенных, в основном за счет полиеновых жирных кислот. В результате увеличивается степень ненасыщенности липидов, о чем свидетельствует, уменьшение величины соотношений $C_{16:0}/(C_{20:4\omega 6} + C_{20:5\omega 3} + C_{22:6\omega 3})$, $C_{16:0}/C_{20:4\omega 6}$, $C_{16:0}/C_{22:6\omega 3}$ и $C_{16:0}/C_{18:1\omega 9}$. Выяснено, что повышение суммарного содержания жирных кислот семейств $\omega 3$ и $\omega 6$ приводит к изменениям величины отношений этих кислот в тканях и органах карпа при искусственном гипобиозе. Кроме того, изменение степени ненасыщенности жирных кислот в организме карпа при гипобиозе может быть связано с процессами десатурации этих кислот (об этом свидетельствует изменение величины индексов десатурации – соотношение $C_{22:6\omega 3}/C_{18:3\omega 3}$ и $C_{20:4\omega 6}/C_{18:2\omega 6}$).

Сравнительный анализ модификации жирнокислотного спектра липидов печени и белых мышц стерляди *Acipenser ruthenus* L., которая отличается интенсивной метаболической активностью, и карпа *Cyprinus carpio* L. указывает на участие жирных кислот липидов, в частности полиеновых, в развитии адаптации рыб при искусственном гипобиозе путем влияния на функциональную активность тканей и органов организма.

Таким образом, искусственный гипобиоз рассматривается как стрессовый фактор, а изменение содержания, перераспределение липидной составляющей и особенности жирнокислотного профиля тканей и органов носит адаптационный характер на действие факторов искусственного гипобиоза, направленный на поддержание гомеостаза и жизнеспособности организма рыб.

Ключевые слова: липиды, триацилглицеролы, фосфолипиды, холестерол, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, карп, стерлядь, печень, белые мышцы, жабра, головной мозг.

ANNOTATION

Sysolyatin S. V. Lipid and fatty acid composition of tissues and organs of carp *Cyprinus carpio* L. under artificial hibernation. – The Manuscript.

Thesis for scientific degree of candidate of biological sciences, specialty 03.00.04. «Biochemistry». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2018.

The content, the composition of individual lipids, their ratio and the degree of unsaturation of the common liver lipids, white muscles, gills and brain of the carp of *Cyprinus carpio* L. in the state of active living and artificial hibernation (for the 3rd, 6th and 24th hours of exposure) were first researched in the dissertation.

Based on the results obtained, the organospecificity of the lipid and fatty acid contents of lipids in the carp organism is shown in the state of active life, which depends on the physiological and biochemical features of tissues and organs of fish.

It has been experimentally established that the presence of *Cyprinus carpio* L. carp in the hypoxic-hypercapnic environment decreases the temperature resulting in a decrease in the total lipid content and the redistribution of individual lipids in investigated tissues and organs with an increase in exposure time. The most pronounced changes in the content of lipid components and their ratios are observed at the 24th year of the hibernation exposure compared with the control. The increase in the level of phospholipids and cholesterol, the main structural components of cell membranes, is probably due to the modification of the structure of membranes in the experimental conditions. The detected reduction in triacylglycerol levels, as well as the increase in the content of unesterified fatty acids and esters of cholesterol, is aimed at providing the energy potential of the carp's organism for hypoxic-hypercapnic effects.

The dissertation presents the results of investigations of the fatty acid spectrum of liver, white muscle, gill and brain *Cyprinus carpio* L. and liver and white muscle of *Acipenser ruthenus* L. for artificial hibernation. It is shown that the total content of saturated and the growth of unsaturated fatty acids is reduced, mainly due to the polyunsaturated family $\omega 3$ and $\omega 6$, which is probably an integral part of the cellular mechanism of action of the hypoxic-hypercapnic environment. The revealed modifications of lipid composition, the content of individual fatty acids of tissue lipids and carp and sterile organs are adaptive in nature and explains their involvement in the reorganization of the reactivity system of the body for hypoxic-hypercapnic effects.

Key words: lipids, triglycerides, phospholipids, cholesterol, saturated and unsaturated fatty acids, carp, sterlet, liver, white muscles, gills, brain, artificial hibernation.