

## ВПЛИВ ТРЕМАТОДНОЇ ІНВАЗІЇ ТА НИЗЬКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ ЦИНКУ НА ВМІСТ ОКРЕМИХ ГРУП ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ *LYMNAEA STAGNALIS*

Киричук Г.Є., Музика Л.В., Кушнір Л.С., Гордієнко М.В.  
Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. В. Бердичівська, 40, 10008, Житомир  
[lidiya.muzyka@ukr.net](mailto:lidiya.muzyka@ukr.net)

Розглянуто особливості вмісту загальних ліпідів (ЗЛ) та їх окремих неполярних груп (триацилгліцеролів (ТАГ), диацилгліцеролів (ДАГ), моноацилгліцеролів (МАГ), холестеролу (ХС), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК)) у гемолімфі, гепатопанкреасі, мантиї та нозі *Lymnaea stagnalis* в нормі й за дії біотичних (трематодна інвазія) та абіотичних чинників (іони цинку).

Показано, що у гемолімфі, гепатопанкреасі й нозі неінвазованих *L.stagnalis* дія іонів  $Zn^{2+}$  в допороговій концентрації (0,5 ГДК<sub>рибогосп.</sub>) викликає зменшення вмісту загальних ліпідів (на 30,09–64,91% ( $p < 0,05$ )), а у мантиї тварин зафіксовано збільшення показників на 67,05% відносно контролю.

Встановлено, що в середовищі без додавання токсиканту трематодна інвазія обумовлює зменшення вмісту загальних ліпідів у гепатопанкреасі та нозі *L. stagnalis* на 47,33–62,42% ( $p < 0,01–0,001$ ). Разом з цим, у мантиї вміст ЗЛ збільшувався в 2,02 раза ( $p < 0,05$ ), а у гемолімфі показники контрольної та дослідної груп знаходились в одному діапазоні величин.

За сумісної дії трематодної інвазії та іонів  $Zn^{2+}$  встановлено зменшення вмісту ЗЛ на 47,37% у гемолімфі *L. stagnalis* та його збільшення на 34,56–62,36% ( $p \leq 0,01–0,05$ ) у нозі й мантиї. У гепатопанкреасі не відмічено статистично достовірних відмінностей обговорюваних показників.

Встановлено, що кількісний вміст та якісний склад неполярних ліпідів в організмі *L. stagnalis* є тканинно-специфічним і варіює залежно від дії трематодної інвазії та іонів цинку.

Отже, ліпідна система тканин та органів *Lymnaea stagnalis* швидко реагує на зміну біотичних (трематодна інвазія) та абіотичних чинників (іони цинку), що носить адаптивний характер, проявляється в певних межах навантаження і спрямовано на підтримку гомеостазу досліджуваних тварин. **Ключові слова:** триацилгліцероли, диацилгліцероли, неестерифіковані жирні кислоти, моноацилгліцероли, холестерол, важкі метали, прісноводні моллюски.

### The influence of trematode invasion and low zinc ion concentration on the content of certain lipid groups in *Lymnaea stagnalis*. Kyrychuk G., Muzyka L., Kushnir L., Gordienko M.

The peculiarities of general lipid concentration and their separate nonpolar groups (triacylglycerols (TAG), diacylglycerols (DAG), monoacylglycerols (MAG), cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA)) in hemolymph, hepatopancreas, mantle and leg of *Lymnaea stagnalis* were researched in normal conditions and under the influence of biotic (trematode invasion) and abiotic factors (zinc ions).

The research shows that in hemolymph, hepatopancreas and leg of uninfested *L.stagnalis*, the effect of  $Zn^{2+}$  ions in a subthreshold concentration (0.5 MAC<sub>fish farming</sub>) causes a decrease in the content of total lipids (by 30.09–64.91% ( $p < 0.05$ )), and in the mantle of animals, an increase in indicators was recorded by 67.05% depending on conditions.

In the course of the research, it was established that in the environment without the addition of a toxicant, trematode invasion causes a decrease in the content of total lipids in the hepatopancreas and leg of *L. stagnalis* by 47.33–62.42% ( $p < 0.01–0.001$ ). At the same time, in the mantle, the content of total lipids increased by 2.02 times ( $p < 0.05$ ), and in the hemolymph, the indicators of the control and experimental groups were in the same range of values.

Due to the combined effect of trematode invasion and  $Zn^{2+}$  ions, a 47.37% decrease in the content of general lipids in the hemolymph of *L.stagnalis* and its increase by 34.56–62.36% ( $p \leq 0.01–0.05$ ) in the leg and mantle was recorded. In the hepatopancreas, no statistically significant differences in the discussed indicators were noted.

It was established that the quantitative content and qualitative composition of nonpolar lipids in the body of *L. stagnalis* is tissue-specific and varies depending on the effect of trematode infestation and zinc ions.

Hence, the lipid system of tissues and organs of *Lymnaea stagnalis* quickly reacts to changes in biotic (trematode invasion) and abiotic factors (zinc ions), which has an adaptive nature, manifests itself within certain load limits and is aimed at maintaining the homeostasis of the studied animals. **Key words:** triacylglycerols, diacylglycerols, non-esterified fatty acids, monoacylglycerols, cholesterol, heavy metals, freshwater clams.

**Постановка проблеми та актуальність дослідження.** Серйозною екологічною проблемою на сьогодні є забруднення природних вод іонами важких металів, що призводить до формування якісно нових умов середовища існування гідробіонтів та впливає на життя не лише окремих видів, популяцій, але і екосистеми загалом. Одним із пріоритетних забруднювачів гідроекосистем є цинк, який потрапляє

в природні води переважно в результаті антропогенної діяльності, в значних кількостях переноситься та випадає з атмосферними опадами, а також надходить в екосистему в результаті руйнування і розчинення гірських порід та мінералів [1, 3, 4, 5]. Цинк – есенціальний елемент для живих організмів, є кофактором ряду ферментів, бере участь в забезпеченні низки біологічних функцій, відіграє важливу роль

у біосинтезі нуклеїнових кислот, стабілізації клітинних мембран та захисті клітини від окислювального пошкодження [12]. Однак, при надходженні у водне середовище у концентраціях, що перевищують фізіологічно необхідні, цинк стає токсичним для гідробіонтів, проявляє гонадотоксичні й мутагенні властивості, пригнічує фотосинтез фітопланктону, знижуючи первинну продукцію водою і, відповідно, кормову базу водних тварин [5, 11]. Токсичність цинку для водних організмів, як відомо, визначається його концентрацією та тривалістю дії, може модулюватися залежно від дії чинників середовища, зокрема температури, рН водного середовища, вмісту розчиненого кисню та вуглекислого газу, присутності хелатувальних агентів, а також значною мірою обумовлюється антагонізмом іону металу з іншими іонами ВМ [2, 6].

Одним із біохімічних механізмів адаптації та формування токсикорезистентності гідробіонтів до дії іонів ВМ є модифікація в їх тканинах і органах вмісту ліпідів, які виконують широкий спектр біологічних функцій, є структурними компонентами біологічних мембран, сигнальними молекулами в клітинній регуляції та джерелом метаболічної енергії [10, 13].

Зважаючи на те, що проблема впливу іонів ВМ на вміст загальних ліпідів та їх окремих груп досить широко вивчена для морських молюсків та прісноводних риб, а для прісноводних молюсків це питання досі залишається дискусійним, дане дослідження є актуальним, становить теоретичний інтерес та має важливе практичне значення з точки зору використання його результатів для розкриття механізмів стійкості досліджуваної групи гідробіонтів до дії іонів цинку, а також для розробки методів біоіндикації та прогнозування змін у водних екосистемах.

**Матеріали та методи дослідження.** Матеріал дослідження: молюски виду *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758), зібрані у жовтні 2022 р. в р. Гуйва (сmt Новогуйвинськ). Дослідження проводили у жовтні-листопаді 2022 р. в лабораторії біологічної хімії Житомирського державного університету імені Івана Франка. Для експерименту відібрано однотипових особин зі стандартними розмірно-ваговими характеристиками ( $m = 4,92 \pm 1,84$  г;  $l = 45,4 \pm 3,91$  мм;  $h = 26,88 \pm 2,94$  мм), які визначали штангенциркулем та електронними вагами (Axis A500) з точністю до 0,01 г. Токсикологічному дослідженню передувала 14-добова аклімація тварин до лабораторних умов. Як токсикант використано  $ZnCl_2$ . В експерименті використано концентрацію іонів цинку 0,005 мг/л, яка відповідала 0,5 ГДК<sub>рибобогсп.</sub> Розрахунок концентрації проведено на катіон. Інкубаційним середовищем для контрольної групи молюсків слугувала водопровідна дехлорована вода без додавання токсиканту. Для біохімічного дослідження відібрано гепатопанкреас, мантию та ногу, яку отримували, анатомуючи тварин, а також гемолімфу, отриману

методом прямого знекровлення. Трематодну інвазію виявляли на тимчасових гістологічних препаратах, виготовлених із тканин гепатопанкреасу *L. stagnalis*. Молюски були інвазовані редіями і церкаріями трематод родини Echinostomatidae.

Загальні ліпіди з тканин екстрагували сумішшю хлороформ-метанол у співвідношенні 2:1 за методом Фолча [8]. Кількість загальних ліпідів визначали ваговим методом. Розділення ліпідів на окремі групи здійснювали методом висхідної одновимірної тонкошарової хроматографії на пластинках «Silufol» в системі розчинників гексан-диетиловий ефір-льодяна оцтова кислота (співвідношення 70:30:1). Одержані хроматограми піддавали дії проявника, яким виступали пари кристалічного йоду. Кількість неполярних ліпідів визначали біхроматним методом [7]. Усі використані реактиви мали кваліфікацію ч.д.а.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими статистичними методами із застосуванням t-критерію Ст'юдента. Розбіжності вважали статистично вірогідними при  $p \leq 0,05-0,001$ .

У процесі виконання експерименту норми біоетики порушені не були.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Відомо, що зміна вмісту ліпідів в організмі гідробіонтів у відповідь на погіршення умов існування, зокрема токсичний вплив, свідчить з одного боку про пряме пошкодження ліпідів, а з іншого є показником розвитку клітинної адаптації до умов навколишнього середовища для підтримання життєво важливих функцій. Окрім цього, динаміка ліпідного вмісту характеризує швидкість й напрямом метаболізму ліпідів та рівень мобілізації пластичних та енергетичних процесів при адаптивних перебудовах обміну речовин [13].

Відомо, що значний вплив на пристосувальні можливості молюсків до змін умов навколишнього середовища здійснює паразитування в їх організмі партеніт трематод, які викликають глибокі гістопатологічні зміни в тканинах, що призводить до порушення метаболічної активності різних органів, дестабілізації метаболічних процесів, ослаблення тіла хазяїна та втрати ним лабільності [9, 12, 14].

Зважаючи на це, проаналізовано вплив іонів цинку на вміст загальних ліпідів в тканинах та органах неінвазованих *L. stagnalis* та з'ясовано динаміку обговорюваних показників за умови додаткового фізіологічного навантаження у вигляді трематодної інвазії.

Встановлено, що в середовищі без додавання токсиканту трематодна інвазія обумовлює зменшення вмісту ЗЛ у гепатопанкреасі *L. stagnalis* на 62,42% ( $p < 0,001$ ), що імовірно, пов'язано із локалізацією в органі партеніт трематод, які використовують резерви хазяїна для задоволення власних метаболічних потреб [14]. Окрім цього, така динаміка може свідчити про використання ліпідів для збереження

структурного гомеостазу та повернення фізичного стану мембрани до дії паразитарного чинника, адже відомо, що одним із наслідків впливу трематодної інвазії є розрідження ферментними системами паразитів мембран клітин зараженого органу. Аналогічну динаміку до зниження показників на 47,33% ( $p < 0,01$ ) зафіксовано у нозі моллюсків, що може свідчити про використання ліпідів на енергетичні витрати моллюсків при формуванні протиінфекційної відповіді.

Разом з цим, у мантиї вміст ЗЛ збільшувався в 2,02 рази ( $p < 0,05$ ), а у гемолімфі показники контрольної та дослідної груп знаходились в одному діапазоні величин (рис. 1).

Встановлено, що при додаванні у середовище іонів  $Zn^{2+}$  в допороговій концентрації (0,5 ГДК) вміст ЗЛ у гемолімфі, гепатопанкреасі та нозі неінвазованих *L. stagnalis* зменшується на

30,09–64,91% ( $p < 0,05$ ), що імовірно пов'язано із посиленням мобілізації ліпідів в умовах токсичного впливу та активацією ліполізу іонами цинку. Разом з тим, у мантиї тварин відмічено зростання обговорюваних показників на 67,05% щодо контролю (рис. 2).

Аналізуючи тканинно-органный розподіл досліджуваних показників відмічаємо, що в контрольній групі моллюсків найвищі значення загальноліпідного вмісту характерні для гепатопанкреасу, а найнижчі – для гемолімфи.

Метаболічний ряд у напрямку збільшення кількісного вмісту ЗЛ має наступний вигляд: гемолімфа → нога → мантия → гепатопанкреас. Це, очевидно, пов'язано із метаболічною функцією гепатопанкреасу, який слугує органом запасання та перерозподілу ліпідів в організмі гідробіонтів.

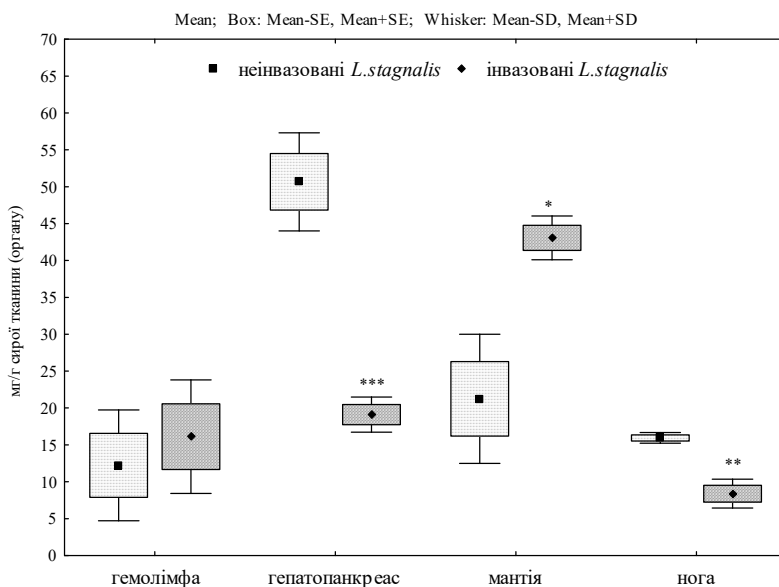


Рис. 1. Вплив трематодної інвазії на вміст ЗЛ в організмі *L. stagnalis*;  $M \pm m$ ,  $n=6$ ; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

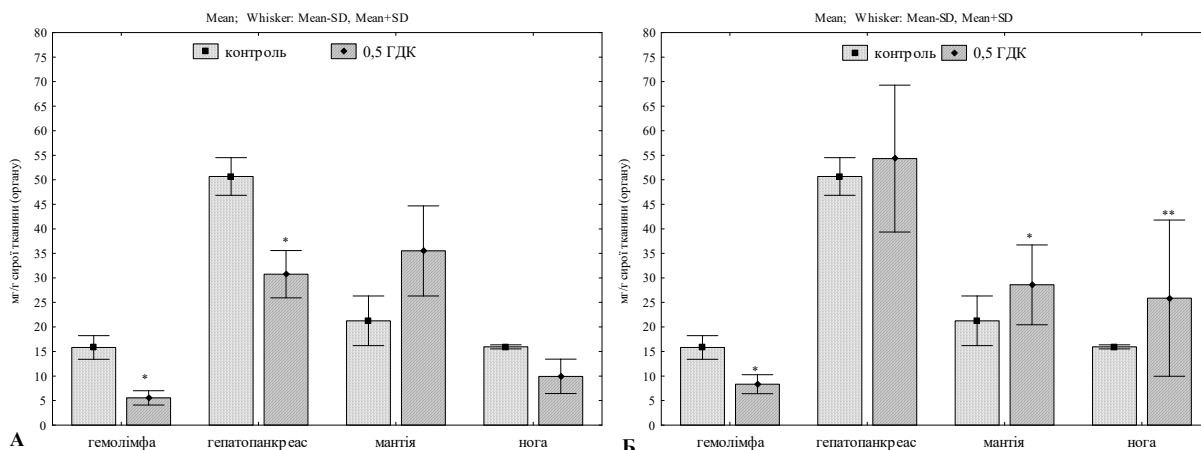


Рис. 2. Вплив іонів цинку (0,5 ГДК) та трематодної інвазії на вміст ЗЛ в організмі *L. stagnalis*: А – неінвазовані моллюски, Б – інвазовані моллюски;  $M \pm m$ ,  $n=6$ ; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$

Сумісна дія трематодної інвазії сукупно із дією  $Zn^{2+}$  призводить до зниження показників на 47,37% у гемолімфі та їх підвищення на 34,56–62,36% ( $p \leq 0,01-0,05$ ) у нозі й мантиї. Таке збільшення кількості загальних ліпідів у нозі та мантиї свідчить, імовірно, про активацію анаболічних процесів та мобілізацію ліпідів як джерела метаболічної енергії в цих органах. Одночасно з цим, у гепатопанкреасі тварин показники контрольної та дослідної груп були величинами одного порядку, що, імовірно пов'язано, із механічним ураженням гепатопанкреасу трематодами, що призводить до структурних змін та порушення його метаболічної функції.

З'ясовано, що дія іонів цинку (0,5 ГДК) викликає тканинно-специфічні зміни у співвідношенні окремих неполярних ліпідів (ТАГ, ДАГ, МАГ, ХЛ та НЕЖК) в організмі *L. stagnalis*. При внесенні у середовище  $Zn^{2+}$  зафіксовано зменшення вмісту ТАГ у гепатопанкреасі та нозі *L. stagnalis* на 13,86–24,39% ( $p < 0,05$ ), що може свідчити з одного боку про гідроліз триацилгліцеролів задля забезпечення метаболізму необхідною енергією, а з іншого про використання ліпідної групи як джерела жирних кислот для синтезу фосфоліпідів для підтримки структурного гомеостазу клітини. Одночасно з цим, у гемолімфі тварин встановлено збільшення показників на 41,58% ( $p < 0,05$ ), а у їх мантиї не встановлено статистично достовірних відмінностей між контрольною та дослідною групами.

Додаткове фізіологічне навантаження у вигляді трематодної інвазії сукупно із дією  $Zn^{2+}$  викликає збільшення вмісту ТАГ в гепатопанкреасі (в 2,04 раза ( $p < 0,01$ )), його зниження на 30,29% у мантиї, а у гемолімфі та нозі показники контрольної та дослідної групи були величинами одного порядку.

З'ясовано, що внесення у середовище 0,5 ГДК іонів  $Zn^{2+}$  викликає збільшення вмісту ДАГ на 23,46–56,63% у гемолімфі та гепатопанкреасі молюсків. У мантиї та нозі *L. stagnalis* за таких умов експерименту не зафіксовано статистично достовірних відмінностей. За сумісної дії іонів цинку та трематодної інвазії відмічено збільшення вмісту диацилгліцеролів в усіх досліджених органах молюсків (на 12,84–47,09%), а у гемолімфі не встановлено статистично достовірних змін.

Дещо відмінну тенденцію зафіксовано для МАГ, вміст яких за дії  $Zn^{2+}$  зменшувався на 46,93% у нозі та знаходився на рівні значень контрольної групи у мантиї. Сумісний вплив чинників (іони цинку та трематодна інвазія) призводив до збільшення показників в 2,13 раза у нозі *L. stagnalis* та не обумовлював

статистично достовірних змін у їх мантиї. У гепатопанкреасі та гемолімфі молюсків незалежно від умов дослідження МАГ виявлено не було.

Щодо вмісту НЕЖК, то за дії  $Zn^{2+}$  їх показники зростали у гепатопанкреасі на 18,08% ( $p < 0,05$ ), що очевидно свідчить про посилення катаболічних процесів в органі та мобілізацію жирнокислотних резервів для адаптивних перебудов. Спрямування метаболізму ліпідів в напрямку ліполізу в гепатопанкреасі підтверджується зниженням вмісту в ньому триацилгліцеролів за аналогічних умов експерименту. У мантиї та нозі зафіксовано зменшення показників на 34,23–34,32%, а у гемолімфі чинник не викликав статистично достовірних змін щодо вмісту НЕЖК. Таку ж динаміку зафіксовано і при додатковому фізіологічному навантаженні (трематодна інвазія), адже відмічено зменшення значень у нозі й мантиї (на 27,70–32,48%) та їх збільшення в 2,21 раза у гепатопанкреасі ( $p < 0,05$ ). Виняток – гемолімфа тварин, у якій за таких умов експерименту вміст НЕЖК збільшувався на 46,78%.

Щодо вмісту холестеролу, то його показники зростали в 1,59–2,88 раза ( $p \leq 0,05-0,001$ ) у гепатопанкреасі й гемолімфі, що обумовлено мембранорегулюючою функцією стеролів, збільшення кількості яких призводить до ущільнення мембран та зменшення їх проникності. У мантиї та нозі *L. stagnalis* обговорюваної ліпідної групи виявлено не було.

**Висновки.** Отже, кількісні показники загальних ліпідів та окремих груп неполярних ліпідів в організмі *L. stagnalis* є органоспецифічними та значно варіюють залежно від дії іонів цинку та трематодної інвазії.

Встановлено, що вплив іонів  $Zn^{2+}$  в допороговій концентрації (0,5 ГДК) призводить до зменшення вмісту загальних ліпідів на 30,09–64,91% ( $p < 0,05$ ) у гемолімфі, гепатопанкреасі й нозі неінвазованих *L. stagnalis* та обумовлює збільшення показників на 67,05% у їх мантиї.

Найвищими показниками ліпідного вмісту незалежно від дії іонів цинку характеризується гепатопанкреас молюсків, а найнижчими – їх гемолімфа.

Встановлено, що дія іонів цинку та трематодна інвазія викликають зміни у співвідношенні окремих груп неполярних ліпідів в організмі *L. stagnalis*, причому динаміка обумовлюється природою діючого чинника та є тканинно-специфічною.

Результати представленої дослідження можуть стати фундаментом для розробки чутливих тест-систем екологічного та біохімічного моніторингу прісноводних екосистем.

### Література

1. Hameed M., Dijoo Z. K., Bhat R. A., Qayoom I. Concerns and threats of heavy metals' contamination on aquatic ecosystem. *Bioremediation and Biotechnology, Vol. 4: Techniques for Noxious Substances Remediation*. 2020. P. 1–19.
2. Skidmore J. F. Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. *The quarterly review of Biology*. 1964. 39 (3). P. 227–248. doi:10.1086/404229

3. Deb S. C., Fukushima T. Metals in aquatic ecosystems: mechanisms of uptake, accumulation and release-Ecotoxicological perspectives. *International Journal of Environmental Studies*. 1999. 56 (3). P. 385–417. doi: 10.1080/00207239908711212
4. Liang L. N., Hu J. T., Chen D. Y., Zhou Q. F., He B., & Jiang G. B. Primary investigation of heavy metal contamination status in mollusks collected from Chinese coastal sites. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2004. 72. P. 937–944. doi:10.1007/s00128-004-0334-z
5. Дудник С. В., Євтушенко М. Ю. Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне застосування : монографія. К. : Вид-во Українського фітосоціологічного центру, 2013.
6. Linnik P. N., Zhezherya V. A., Zubenko I. B. Content of metals and forms of their migration in the water of the rivers of the Pripyat River Basin. *Hydrobiological Journal*. 2012. P. 48(2). P. 85–101. doi:10.1615/hydrobj.v48.i2.90
7. Kates M. Isolation, analysis and identification of lipids. *Techniques in Lipidology*. 1972. P. 268–618.
8. Folch J., Lees M., Sloane Stanley A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957. 226 (1). P. 497–509. doi:10.1016/s0021-9258(18)64849-5
9. Музика Л., Киричук Г. Вплив трематодної інвазії на вміст деяких груп ліпідів в організмі ставковика звичайного. *Notes in Current Biology*. 2020. 1 (389). С. 66–71. doi: <https://doi.org/10.29038/2617-4723-2020-1-389-66-71>
10. Chan C. Y., Wang W.X. A lipidomic approach to understand copper resilience in oyster *Crassostrea hongkongensis*. *Aquat. Toxicol.* 2018. 204. P. 160. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.09.011>
11. Marreiro D. D. N., Cruz K. J. C., Morais J. B. S., Beserra J. B., Severo J. S., & De Oliveira A. R. S. Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*. 2017. 6 (2). 24. doi:10.3390/antiox6020024
12. Shakarbaev U. A., Mingbaev A. S., Akramova F. D., Shakarboev E. B., & Azimov D. A. Changes in the structure and functions of mollusc organs under the effect of *Orientobilharzia turkestanica* larvae. *Vestnik zoologii*. 2013. 47 (5). P. 57–61. doi: 10.2478/vzoo-2013-0049
13. Попова Е. М., Коцкій І. В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу. *Рибогосподарська наука України*. 2007. 1. P. 49–56.
14. Charron A. J., Sibley L. D. Host cells: mobilizable lipid resources for the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *Journal of cell science*. 2002. 115 (15). P. 3049–3059. doi: 10.1242/jcs.115.15.3049