

УДК 543.635.4 : 639.215.2 : 591.534.42

С. В. Хижняк, С. В. Мідик, С. В. Сисолятін,
В. М. Войціцький

**ВМІСТ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ТА СЕРЦІ
СТЕРЛЯДІ (*ACIPENSER RUTHENUS*) ЗА
ГІПОКСИ-ГІПЕРКАПНІЧНОГО ВПЛИВУ**

Досліджено жирнокислотний склад ліпідів печінки та серця стерляді за гіпокси-гіперкапнічного впливу (штучний гіпобіоз) та виходу з цього стану. Показано зниження сумарного вмісту насичених та зростання вмісту ненасичених жирних кислот. Виявлено особливості змін вмісту індивідуальних жирних кислот. Перерозподіл поліненасичених жирних кислот у тканинах, що призводить до зміни співвідношення $\omega 3/\omega 6$, ймовірно, виступає складовою клітинного механізму дії штучного гіпобіозу на організм риб.

Ключові слова: стерлядь, серце, печінка, гіпоксія, гіперкапнія, гіпобіоз, жирні кислоти.

Осетрові риби являють собою цінну у промисловому відношенні групу, тому потребують надзвичайної уваги, особливо з огляду на те, що їх чисельність у природних водоймах упродовж останнього півстоліття стрімко знижувалась. Виникає необхідність дослідження біологічних та екологічних особливостей осетрових для розуміння механізмів їх штучного розведення. В цьому плані актуальним залишається з'ясування біохімічних шляхів, які зумовлюють перехід організму до стану зниженої життєдіяльності (штучний гіпобіоз, гіпокси-гіперкапнічний вплив при зниженні температури навколишнього середовища) [11].

У процесах адаптації живих систем до екзогенних чинників значна увага приділяється жирним кислотам (ЖК) ліпідів [6, 9], оскільки ліпідні компоненти залучені до перебігу всіх важливих фізіолого-біохімічних процесів [10]. Крім того, швидке включення ЖК в адаптивні реакції організму особливо характерно для холоднокровних, зокрема риб [1, 8]. Жирнокислотний склад тканин риб відрізняється від такого наземних тварин більш високим ступенем ненасиченості, що пов'язано з низькою температурою їх середовища існування [10].

Метою роботи було дослідження жирнокислотного спектру ліпідів серця і печінки стерляді (*Acipenser ruthenus*) в умовах штучного гіпобіозу та виходу з цього стану.

© С. В. Хижняк, С. В. Мідик, С. В. Сисолятін, В. М. Войціцький, 2017

Матеріал і методика досліджень. В дослідженнях використана стерлядь (*Acipenser ruthenus*), штучно вирощена у водоймах ВП «Немішаєвський агро-технічний коледж» НУБіП України. Риб утримували в інкубаційному цеху згідно нормативів для цього виду. Особин (дворічки вагою 400—450 г) розділяли на групи по п'ять: 1-ша — контрольна, 2-га — перебування у стані гіпобіозу протягом 1 год; 3-тя — вихід зі стану гіпобіозу (через одну годину перебування у стані гіпобіозу особин переносили у чисту відстояну воду та досліджували через одну добу).

Для штучного введення риби у гіпобіотичний стан використовували запатентовану методику [5, 12]. Відібраний матеріал (печінку та серце) заморожували і зберігали у рідкому азоті.

Для вимірювання тканини гомогенізували та екстрагували ліпіди хлороформ-метаноловою сумішшю за методом Фолча [17]. Гідроліз і метилування жирних кислот ліпідів здійснювали згідно [3]. Метиліві ефіри жирних кислот аналізували на газовому хроматографі Trace GC Ultra (США) з полум'яно-йонізуючим детектором. Умови детекції: температура колонки 140—240°C, температура детектору 260°C, тривалість аналізу 65 хв. Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння із часом утримання стандартів. Для кількісної оцінки використовували метод нормування площі піка, вміст ЖК виражали у відсотках їх сумарного вмісту. Отримані результати оброблено варіаційно-статистичними методом з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

На хроматограмах жирних кислот ліпідів печінки і серця стерляді ідентифіковано 18 ЖК, у тому числі міристинова, міристолеїнова, пальмітинова, пальмітолеїнова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова та ін. (таблиця). Насичені ЖК (НЖК) печінки та серця переважно представлені пальмітиновою ($C_{16:0}$) і стеариновою ($C_{18:0}$) кислотами. Серед ненасичених (ННЖК) у серці переважають моноєнові (зокрема ейкозаєнова ($C_{20:1\omega 9}$) та докозаєнова ($C_{22:1\omega 9}$)), а у печінці — полієнові (зокрема арахідонова ($C_{20:4\omega 6}$), докозагексаєнова ($C_{22:6\omega 3}$) та докозопентаєнова ($C_{22:5\omega 3}$)). Фізіологічно важливими для риб є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) з кількістю атомів вуглецю більше 20, для річкових організмів (хребетних та безхребетних) характерними є докозопентаєнова та докозагексаєнова кислоти [10] (важливі для росту риб), найбільший вміст яких виявлено у корі головного мозку, сітківці очей і м'язах [2].

Такі ПНЖК, як $\omega 3$ та $\omega 6$ — попередники біологічно-активних речовин, синтезуються у багатьох тканинах у відповідь на зовнішньо-клітинні сигнали і беруть участь у функціонуванні печінки, нервової тканини, при імунних та запальних реакціях [4, 16]. Особливістю ліпідного складу тканин гідробіонтів є переважання вмісту кислот $\omega 3$ над $\omega 6$ [13]. Важлива не кількість ПНЖК родин $\omega 3$ та $\omega 6$, а їх оптимальне відношення з огляду на існування конкурентних взаємовідносин у процесі метаболізму [20]. Показано, що у серці $\omega 3/\omega 6$ становить 1,86, а печінці — 0,97 (рис. 1, 2). Ймовірно, виявлена відмінність у тканинах зумовлена їх видом (будовою), інтен-

Вміст жирних кислот (% загального вмісту) ліпідів у серці і печінці стерляді за штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 5$)

Жирні кислоти	Серце			Печінка		
	Контроль	ГП	Вихід з ГП	Контроль	ГП	Вихід з ГП
Міристинова, 14:0	1,22 ± 0,02	1,07 ± 0,06*	1,20 ± 0,06	1,16 ± 0,03	0,80 ± 0,02*	1,00 ± 0,02
Пентадеканова, 15:0	0,27 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02
Пальмітинова, 16:0	24,79 ± 0,83	25,20 ± 0,63	24,20 ± 0,63	17,19 ± 0,42	16,45 ± 0,32	16,75 ± 0,32
Пальмітолеїнова, 16:1	1,19 ± 0,02	1,20 ± 0,01	1,10 ± 0,01	2,35 ± 0,06	1,48 ± 0,07*	1,78 ± 0,06*
Маргарінова, 17:0	0,86 ± 0,03	0,76 ± 0,01	0,79 ± 0,01	0,52 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,51 ± 0,02
Стеаринова, 18:0	21,50 ± 0,41	18,41 ± 0,31*	20,01 ± 0,21*	8,15 ± 0,12	10,25 ± 0,22*	9,00 ± 0,21*
Олеїнова, 18:1 ω 9	21,49 ± 0,15	21,10 ± 0,17	21,10 ± 0,11	21,19 ± 0,92	19,82 ± 0,82	20,02 ± 0,82
Ліолева, 18:2 ω 6	4,20 ± 0,11	3,47 ± 0,10*	3,40 ± 0,10*	13,21 ± 0,32	10,21 ± 0,42*	11,20 ± 0,42*
α -Ліноленова, 18:3 ω 3	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,93 ± 0,12	0,55 ± 0,02*	0,65 ± 0,02*
γ -Ліноленова, 18:3 ω 6	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,93 ± 0,09	0,76 ± 0,04	0,82 ± 0,04
Арахідонова, 20:0	0,38 ± 0,04	0,18 ± 0,03*	0,39 ± 0,03	3,25 ± 0,12	1,32 ± 0,05*	2,40 ± 0,05*
Ейкозаснова, 20:1 ω 9	4,51 ± 0,07	4,36 ± 0,06	4,32 ± 0,06	2,00 ± 0,02	2,05 ± 0,02	2,01 ± 0,02
Арахідонова, 20:4 ω 6	0,71 ± 0,03	0,46 ± 0,02*	0,56 ± 0,02*	1,50 ± 0,08	1,71 ± 0,05	1,70 ± 0,05
Генейкозанова, 21:0	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,78 ± 0,02	0,96 ± 0,05*	0,80 ± 0,05
Докозаснова, 22:1 ω 9	9,20 ± 0,27	12,11 ± 0,64*	10,81 ± 0,24*	6,30 ± 0,22	6,36 ± 0,32	6,26 ± 0,32
Докозадієнова, 22:2 ω 6	0,14 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,13 ± 0,02	3,15 ± 0,03	4,19 ± 0,06*	4,10 ± 0,06*
Докозапентаєнова, 22:5 ω 3	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,75 ± 0,02	1,30 ± 0,04*	1,10 ± 0,03*
Докозагексаєнова, 22:6 ω 3	9,18 ± 0,65	11,35 ± 0,73*	11,05 ± 0,63*	16,51 ± 0,32	21,15 ± 0,42*	20,05 ± 0,32*

Примітка. ГП — стан штучного гіпобіозу. * Різниця з контролем достовірна, $P \leq 0,05$.

сивністю біохімічних процесів та ступенем захисту від чинників середовища [18].

За штучного гіпобіозу жирнокислотний спектр ліпідів тканин печінки і серця стерляді не відрізнявся від контролю, однак спостерігався перерозподіл їх вмісту (див. таблицю): сумарний вміст НЖК дещо знижувався, а ННЖК — зростав.

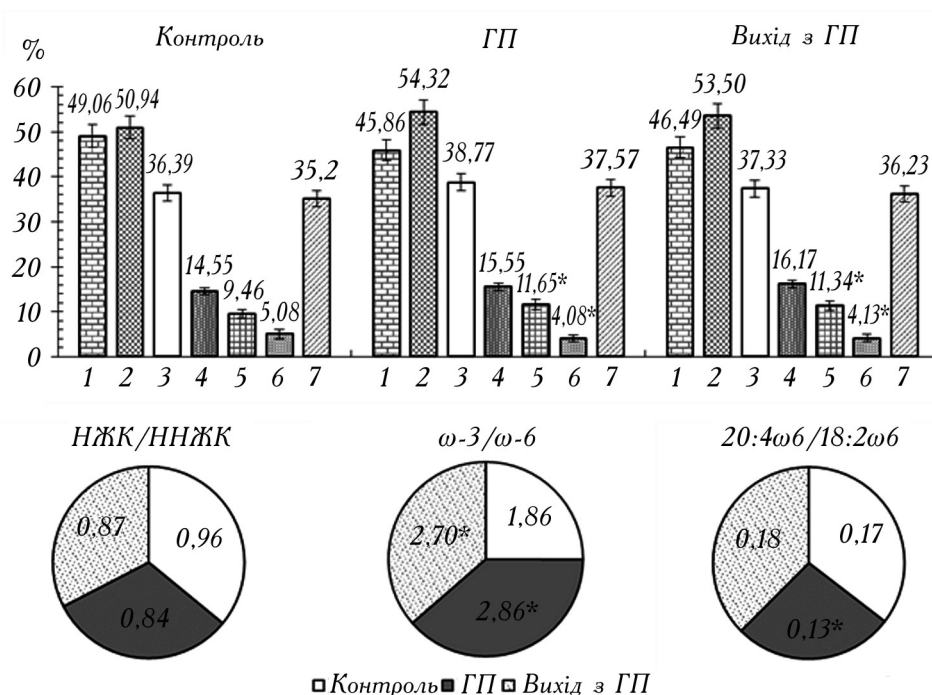
У серці стерляді за гіпобіозу сумарний вміст НЖК знижувався, переважно за рахунок пальмітинової та стеаринової кислот. При цьому сумарний вміст ННЖК зростав недостовірно, а коефіцієнт насиченості знизився до 0,84 проти 0,96 у контролі. Достовірно не змінювався і сумарний вміст моноєнових НЖК, зокрема ω -9 (див. рис. 1). Водночас вміст докозаєнової кислоти ($22:1\omega9$), яка здатна до накопичення в організмі, зріс на 32% відносно контролю.

У печінці стерляді за гіпобіозу сумарний вміст НЖК, ННЖК та коефіцієнт насиченості не змінилися (див. рис. 2). Серед МНЖК виявлено зниження вмісту пальмітоолеїнової кислоти на 37% (див. таблицю), що, можливо, пов'язано з її здатністю впливати на інтенсивність ПОЛ за рахунок нейтралізації активних форм кисню [19].

За гіпобіозу виявлено зміни вмісту окремих НЖК (див. таблицю). Так, вміст пальмітолеїнової кислоти у печінці знизився на 37%, що, можливо, пов'язано з її здатністю впливати на інтенсивність ПОЛ за рахунок нейтралізації активних форм кисню [19]. Вміст докозаєнової кислоти ($C_{22:1\omega9}$), яка здатна до накопичення в організмі, у серці зріс на 32% відносно контролю.

Слід відмітити перерозподіл вмісту ЖК родин $\omega3$ та $\omega6$ за гіпобіозу за рахунок зростання сумарного вмісту $\omega3$ та зниження $\omega6$ (див. рис. 1). Вміст докозагексаєнової ($C_{22:6\omega3}$) кислоти зріс у серці і печінці, а докозопентаєнової ($C_{22:5\omega3}$) — лише у печінці (див. таблицю). Довголанцюгові ПНЖК (особливо з 22 атомами) розширюють діапазон термотолерантності організмів, зростання їх вмісту нівелює негативний вплив зниження температури за гіпобіозу. Зокрема показано, що чутливість характеристик ПНЖК типу $C_{22:6\omega3}$ до зміни температури набагато нижча порівняно з насиченими ЖК [8].

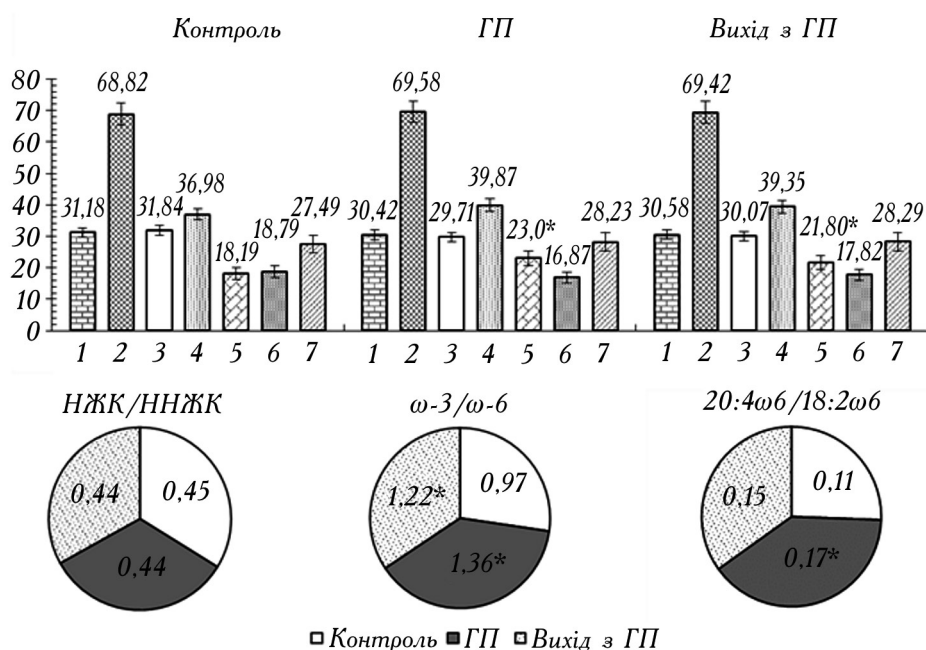
Серед родини ЖК $\omega6$ лише арахідонова ($C_{20:4\omega6}$) та ліолева ($C_{18:2\omega6}$) кислоти присутні в організмі у помітних кількостях [2]. Найбільш багата арахідоновою кислотою печінка. У контролі вміст арахідонової кислоти (відповідно 0,71 та 1,5% суми ЖК у серці та печінці) та її метаболічного попередника ЖК $C_{18:2\omega6}$ (відповідно 4,2 та 13,21% суми ЖК) свідчить про низьку активність ліолеїл-СОА-десатурази, яка бере участь у перетворенні $C_{18:2\omega6}$ у $C_{20:4\omega6}$ [15]. За гіпобіозу вміст цих ЖК у тканинах стерляді змінювався, співвідношення $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$, що характеризує активність десатураз, у серці знижувалось на 24%, а у печінці — зростало на 55% (див. рис. 1). Відомо, що зростання концентрації молекулярного кисню разом зі зниженням температури активує десатурази, які каталізують синтез подвійних зв'язків у ЖК [15].



1. Вміст (а) і співвідношення (б) жирних кислот ліпідів у серці стерляді у контролі та за штучного гіпобіозу (ГП). Тут і на рис. 2: 1 — насичені ЖК; 2 — ненасичені ЖК; 3 — мононенасичені ЖК; 4 — поліненасичені ЖК; 5 — ω3 ЖК; 6 — ω6 ЖК; 7 — ω6 ЖК. * різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

Встановлено, що за гіпобіозу вміст арахідонової кислоти у печінці дещо зростає (на 14%), а в серці знижується (на 35%). Враховуючи роль $C_{20:4\omega6}$ кислоти для синтезу життєво важливих для організму речовин, що є регуляторами ліпідної природи широкого спектру фізіологічних процесів: стресових, росту та ін. [14], отримані результати свідчать про активацію цього процесу у печінці стерляді за гіпобіозу.

Полієнові ЖК є попередниками біологічно активних речовин [4, 7]: похідними арахідонової ω6 ЖК є ряд тромбоксанів і лейкотриєнів, що посилюють проникність мембрани та викликають запальні явища, а метаболіти ω3 ЖК відіграють важливу роль в імунно-запальній відповіді організму і сприяють стабілізації мембран. Співвідношення ω3/ω6 за гіпобіозу у печінці і серці зростало (відповідно на 40 і 54%) (див. рис. 1, 2). Це може свідчити про зміни функціонального стану біомембран тканин. Крім того, співвідношення ω3/ω6 характеризує тип ейкозаноїдів, що синтезуються в організмі. Тобто, фізіологічні ефекти і метаболізм ПНЖК взаємопов'язані, що зумовлює необхідність оптимального відношення ω3/ω6. З огляду на безпосередню участь ПНЖК у регуляції більшості клітинних процесів, виявлені зміни спектрів родин ω3 і ω6 можна розглядати як мобілізацію адаптивних реакцій організму за штучного гіпобіозу.



2. Вміст (а) і співвідношення (б) жирних кислот ліпідів у печінці стерляді у контролі та за штучного гіпобіозу (ГП).

Після зняття дії досліджуваного чинника (через 24 год) вміст ЖК і співвідношення ω 3/ ω 6 ПНЖК до рівня контролю не повернулись (див. рис. 1, 2). Отримані результати дозволяють припустити, що регуляція метаболізму стерляді за гіпобіозу та виходу з цього стану пов'язана з модифікаціями жирних кислот тканинних ліпідів. У цілому, встановлені зміни вмісту ЖК характеризують біохімічну адаптацію до гіпоксигіперкапічного впливу.

Висновки

Проведено дослідження жирнокислотного спектру ліпідів печінки і серця стерляді за активної життєдіяльності, за штучного гіпобіозу та виходу з цього стану. Встановлено, що серед ненасичених у серці переважають моноєнові, а у печінці — полієнові ННЖК.

За гіпобіозу у серці і печінці сумарний вміст НЖК дещо знижується, а ННЖК — зростає, у той же час сумарний вміст моноєнових та полієнових ННЖК достовірно не змінюється. Встановлено перерозподіл у вмісті індивідуальних ПНЖК, зокрема ω 3 та ω 6, що, ймовірно, виступає складовою клітинного механізму реакції на дію гіпоксигіперкапічного середовища.

**

Исследован жирнокислотный состав липидов печени и сердца стерляди в условиях гипоксии-гиперкапнии (искусственный гипобиоз) и выхода из этого состояния. Показано снижение суммарного содержания насыщенных и увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот. Установлены особенности изменений содержания индивидуальных жирных кислот в печени и сердце стерляди. Перераспределение полиненасыщенных жирных кислот в тканях приводящее к изменению соотношения $\omega 3/\omega 6$, может выступать элементом клеточного механизма реакции на влияние искусственного гипобиоза.

**

The fatty acid composition of lipids in the liver and heart of sterlet under hypoxia and hypercapnia (artificial hypobiosis) and exit from this state has been investigated. The decrease of the saturated and increase of the unsaturated fatty acids content was noted. The features of these changes in sterlet liver and heart were revealed. The redistribution of the polyunsaturated fatty acid composition in the sterlet tissues results in changes of $\omega 3/\omega 6$ ratio. This mechanism may be involved in the process of cellular adaptation to artificial hibernation in fish.

**

1. Болгова О.М. К вопросу о роли жирных кислот в адаптации рыб // Теоретические аспекты экологической биохимии. — Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1993. — С. 73—78.
2. Глызина О.Ю., Дзюба Е.В. Липидный статус и спектр жирных кислот черного байкальского хариуса // Химия в интересах устойчивого развития. — 2009. — № 17. — С. 15—20.3.
3. ДСТУ 5508-2001. Жири та олії тваринні і рослинні. Аналізування методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот.
4. Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. — 1998. — Т. 63, Вып. 1. — С. 6—15.
5. Мигдык С.В., Хижняк С.В., Войццикий В.М., Сисолятин С.В. Влияние гипоксии-гиперкапнической среды на жирнокислотный состав сыворотки крови стерляди // Междунар. науч.-практ. конф. «Аквакультура осетровых: современные тенденции и перспективы», 18 мая 2016 г., г. Херсон. — Херсон, 2016. — С. 205—210.
6. Мурзина С.А., Нефедова З.А., Немова Н.Н. Влияние жирных кислот на механизмы адаптации в условиях высоких широт // Тр. Карел. науч. центра РАН. — 2012. — № 2. — С.18—25.
7. Назаров П. Е., Гроза Н. В. Полиненасыщенные жирные кислоты как универсальные биогенные эндорегуляторы // Вестн. МИТХТ. — 2009. — Т. 4, № 5. — С. 3—19.
8. Немова Н.Н., Нефедова З.А., Мурзина С.А. и др. Влияние экологических условий обитания на динамику жирных кислот у молоди атлантического лосося // Экология. — 2015. — № 3. — С. 206—211.
9. Попова Е.М., Кошій І.В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу // Рибогосп. наука України. — 2007. — №1. — С. 49—56.
10. Сигоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. — Л.: Наука, 1983. — 240 с.

11. Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Настоящее, прошлое и будущее. — М.: Информ-Знание, 2005. — 256 с.
12. Хижняк С.В., Малишева О.О., Сисолятин С.В., Войцицкий В.М. Патент на корисну модель UA № 111947; Спосіб застосування киснево-вуглекислотного середовища для анестезії осетрових риб // Національний університет біоресурсів і природокористування України — Заявка № u201606011; Опубліковано 25.11.2016. — Бюл. № 22.
13. Хуга А.В., Марченко М.М., Хугуй О.І. Жирнокислотний склад м'язів стерляді, вирощеної в умовах рибоводної рециркуляційної системи // Укр. біохім. журн. — 2014. — Т. 86, № 5. — С. 21—29.
14. Bell M.V., Batty R.S., Dick J.R. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.) // Lipids. — 1995. — Vol. 3, N 5. — P. 443—449.
15. Bell M.V., Dick J.R., Porter A.E. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout // Ibid. — 2001. — Vol. 36, N 10. — P. 1153—1159.
16. Bell M.V., Henderson R.J., Sargent J.R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish // Comp. Biochem. Physiol. — 1986. — Vol. 83, N 4. — 711—719.
17. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226. — P. 497—509.
18. Kminkova M., Winterova R., Kucera J. Fatty acids in lipids of carp tissues // Czech. J. Food Sci. — 2001. — Vol. 19. — P. 177—181.
19. Patel M.S., Korotchkina L.G. Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex // Biochem. Soc. Trans. — 2006. — Vol. 34. — P. 217—222.
20. Youdim K.A., Martin A., Joseph J. Essential fatty acids and the brain: possible health implications // Int. J. Devl. Neurosci. — 2000. — Vol. 18. — P. 383—399.

Національний університет біоресурсів і
природокористування України, Київ

Надійшла 24.04.17