

УДК 577.115.3:597.556.31:591.6(268.46)

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КОЛЮШКИ ТРЕХИГЛОЙ (*Gasterosteus aculeatus*) БЕЛОГО МОРЯ

© 2019 г. С. А. Мурзина^{1, *}, З. А. Нефёдова¹, С. Н. Пеккоева¹, Д. Л. Лайус², Н. Н. Немова¹

¹Институт биологии – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, 185910, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт Петербург, 199034, Россия

*e-mail: murzina.svetlana@gmail.com

Поступила в редакцию 04.04.2018 г.

После доработки 05.07.2018 г.

Подписано в печать 25.07.2018 г.

Изучен состав жирных кислот общих липидов мышц, печени и гонад взрослых особей колюшки трехиглой Белого моря. Установлено, что особенно в гонадах и мышцах наблюдался высокий уровень полиненасыщенных жирных кислот, в основном ω -3 семейства, среди которых доминировали эссенциальные эйкозапентаеновая и докозагексаеновые кислоты, а также докозапентаеновая кислота. Обсуждается связь между составом жирных кислот отдельных органов колюшки и других видов рыб и влиянием факторов среды различного характера. Показано, что жирные кислоты были тканеспецифичны и их состав определялся, в том числе физиологическим состоянием организма. Полученные результаты могут быть использованы как при разработке методических подходов к созданию пищевых ингредиентов липидной (жировой) основы из морских гидробионтов Арктического региона, которые являются важным возобновляемым природным ресурсом, так и при изучении физиолого-биохимического состояния рыб в процессе их развития в норме и при изменении факторов среды.

Ключевые слова: жирные кислоты, колюшка трехиглая, Белое море

DOI: 10.1134/S0555109919010124

Морские гидробионты Арктики и Субарктики обладают огромным потенциалом, который выражается в эволюционно сформированной способности синтезировать уникальные по своей структуре вещества, способствующие эффективной адаптации человека и животных к суровым условиям окружающей среды. К числу таких веществ относятся липиды, а также входящие в их состав жирные кислоты (**ЖК**) – одни из самых чувствительных липидных компонентов, активно участвующих в развитии компенсаторных реакций у живых организмов, как в состоянии нормы, так и в состоянии стресса [1].

Водные беспозвоночные и рыбы содержат сложный набор ЖК, которые характеризуются высокой степенью ненасыщенности. Это делает их перспективным сырьем при получении особо ценных для человека биологически активных продуктов, которые повышают адаптивные возможности человека в условиях жизни в полярных и приполярных регионах. Особо существенными для здоровья человека являются длинноцепочечные ω -3 полиеновые кислоты, среди которых выделяют эйкозапентаеновую (20:5(n-3), **ЭПК**) и докозагексаеновую (22:6(n-3), **ДГК**) кислоты,

обладающие иммуномодулирующими и общеукрепляющими свойствами, а также эффективно используемые в терапии сердечно-сосудистых заболеваний [2–5]. Известно, что количество этих кислот уменьшается при болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваниях [6], поэтому в последнее время разрабатываются основы и принципы комплексной терапии таких заболеваний и коррективки когнитивных расстройств у человека, в том числе с применением ЖК морских гидробионтов. Так, существуют препараты российского производства, в основе которых присутствует жир колюшки трехиглой из Балтийского моря (<http://www.karot-inoli-m.com/>). Использование ЖК в качестве пищевых добавок в аквакультуре и медицине может вызвать интерес к промыслу трехиглой колюшки, которая является наиболее многочисленной рыбой Белого моря [7]. В предыдущих работах [8, 9] было показано, что этот вид характеризуется высоким содержанием незаменимых для человека ЖК. До появления в прибрежной зоне колюшка обитает в открытом море, где питается морским планктоном. В прибрежье она активно потребляется хищными рыбами – керчаком, треской и навагой [10].

Цель работы – изучить состав ЖК общих липидов мышц, печени и гонад взрослых особей колюшки трехиглой Белого моря и его изменения под влиянием некоторых факторов среды.

МЕТОДИКА

Колюшку отлавливали в летний период 2016 г. в прибрежной полосе (30 м) губы Сельдяной (Кандалакшский залив Белого моря, Россия) с помощью малькового невода длиной 7.5 м и высотой 1.5 м.

Сразу после вылова мышцы гомогенизировали в небольшом количестве 96%-ного этилового спирта, а затем фиксировали смесью хлороформ:метанол (2 : 1, по объему) и хранили при 4°C до доставки в лабораторию для последующего анализа. В мышцах, печени и гонадах рыб оценивали содержание общих липидов (ОЛ) и ЖК общих липидов классов: насыщенные (НЖК), мононенасыщенные (МНЖК) и полиненасыщенные ЖК (ПНЖК).

Липиды экстрагировали и очищали по методу Фолча [11] и упаривали досуха с помощью роторно-вакуумной установки. Состав и содержание ЖК общих липидов определяли методом газовой хроматографии после метанолиза [12]. Метилловые эфиры ЖК разделяли на хроматографе “Кристалл 5000.2” (“ХРОМАТЭК”, Россия) с капиллярными колонками ZB-FFP, используя в качестве внутреннего стандарта бегеновую кислоту (22:0) (“Sigma Aldrich”, США). Хроматограммы обрабатывали с помощью компьютерной программы “Хроматэк Аналитик” (“ХРОМАТЭК”, Россия). Жирнокислотный спектр оценивали по содержанию отдельных ЖК и их соотношениям [13].

Результаты проведенных экспериментов были обработаны с применением общепринятых методов вариационной статистики с использованием компьютерных программ MS Excel и Stadia.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа состава ЖК общих липидов мышц, печени и гонад колюшки представлены в табл. 1. В предыдущих работах [14, 15] было показано, что при изучении биологически активных продуктов, содержащих функционально значимые ЖК, необходимо учитывать экологические факторы среды (температуру и освещенность с учетом их суточной и сезонной цикличности), а также физиологические особенности организма и жизненного цикла (стадию онтогенеза, ткане- и органоспецифичность, видоспецифичность, качественный и количественный состав ЖК) морских беспозвоночных и рыб. Такой подход позволяет получить более полную картину содержания и вариаций изучаемых биохимических компонентов.

Уровень ОЛ в органах и тканях колюшки различался. Это отражало функциональную нагрузку на них в репродуктивный период (нерестовое состояние). Об этом свидетельствовали различия коэффициента интенсивности метаболизма липидов 16:0/18:1(n-9). Во всех органах колюшки МНЖК (18:1(n-9) и 16:1(n-7)) занимали первое место по количественному содержанию, при этом их уровень был наибольшим в мышцах (46.57% от суммы ЖК). Ранее были изучены особенности состава тканевых липидов и их компонентов ЖК у люмпена пятнистого (*Leptoclinus maculatus*) акватории острова Западный Шпицберген, среди которых также было обнаружено более высокое содержание энергетических липидов и моноеновых ЖК, которые, как правило, являются структурными компонентами триацилглицеролов (ТАГ) [16].

Второе место по содержанию ЖК после МНЖК в тканях и органах колюшки занимали ПНЖК. Их уровень оказался наиболее высоким в гонадах (43.36% от суммы ЖК). Это можно объяснить их особой ролью в биохимических процессах, связанных с формированием метаболически активной икры и дальнейшим развитием эмбриона. Количество ПНЖК в мышцах колюшки, которые составляли основную массу тела рыб, составляло 23.75% от суммы ЖК. Среди ПНЖК в основном присутствовали длинноцепочечные ЖК ω -3 семейства, которые включали физиологически значимые и незаменимые для человека ЭПК и ДГК. Обратил на себя внимание повышенный уровень арахидоновой кислоты (АРК) – 20:4 ω -6, во всех изученных органах колюшки, особенно в гонадах (табл. 1).

Известно, что ПНЖК, с одной стороны, модифицируют физические свойства биологических мембран, позволяя им адаптироваться к изменению внешних условий, а с другой – их окисленные производные регулируют многие клеточные и тканевые физиологические процессы. Этот класс ЖК во многом определяет внутреннюю структуру биологических мембран и работу интегральных белков [17].

В предыдущих работах [18–21] было установлено повышение уровня ЭПК и ДГК у молоди атлантического лосося старших возрастов (2+) и, особенно, у смолтов, что связано с подготовкой молоди к скату в море и характерно для морских гидробионтов. У молоди колюшки количество ДГК и АРА оказалось выше, чем у взрослых особей, и достигало 23.3 и 1.16% сухого вещества соответственно [8, 9]. Следует отметить, что ДГК и АРА играют существенную роль в регуляции активности нервных клеток и формировании зрительной системы у рыб, особенно у развивающейся молоди. Так, при искусственном выращивании рыб дефицит ДГК и АРА приводил к

Таблица 1. Состав жирных кислот общих липидов тканей половозрелых особей колюшки трехиглой

ЖК	Ткань		
	мышцы (16)*	печень (17)*	гонады (самки, 11)*
14:0	4.88 ± 0.20	2.6 ± 0.19 ^A	2.65 ± 0.10 ^A
16:0	15.09 ± 0.39	15.95 ± 0.64	16.84 ± 0.25 ^A
18:0	2.59 ± 0.11	3.94 ± 0.29 ^A	4.44 ± 0.53 ^A
Сумма НЖК	24.26 ± 0.36	24.53 ± 1.02	26.47 ± 0.95 ^A
16:1(n-7)	6.87 ± 0.13	7.44 ± 0.50	5.49 ± 0.27 ^{AB}
18:1(n-9)	15.72 ± 0.33	18.00 ± 1.27	11.72 ± 0.25 ^{AB}
18:1(n-7)	5.24 ± 0.23	7.53 ± 0.43 ^A	4.9 ± 0.15 ^B
20:1(n-11)	2.43 ± 0.39	1.36 ± 0.17 ^A	0.88 ± 0.14 ^A
20:1(n-9)	7.16 ± 0.74	2.61 ± 0.28 ^A	2.09 ± 0.44 ^A
22:1(n-11)	5.72 ± 0.46	1.04 ± 0.11 ^A	0.91 ± 0.18 ^A
22:1(n-9)	1.01 ± 0.04	0.31 ± 0.04 ^A	1.72 ± 0.78 ^B
Сумма МНЖК	46.57 ± 0.75	41.27 ± 2.17 ^A	30.12 ± 1.02 ^{AB}
18:2(n-6)	1.82 ± 0.04	1.52 ± 0.08 ^A	1.2 ± 0.07 ^{AB}
20:4(n-6)	0.51 ± 0.02	0.64 ± 0.07	1.2 ± 0.07 ^{AB}
Сумма (n-6) ПНЖК	3.38 ± 0.07	3.43 ± 0.13	3.49 ± 0.09
18:3(n-3)	0.79 ± 0.03	0.56 ± 0.04 ^A	0.48 ± 0.03 ^A
20:5(n-3)	5.27 ± 0.22	10.1 ± 0.41 ^A	15.54 ± 1.20 ^{AB}
22:5(n-3)	3.01 ± 0.09	2.56 ± 0.21	3.45 ± 0.18 ^{AB}
22:6(n-3)	11.89 ± 0.35	9.81 ± 1.40	16.12 ± 0.73 ^{AB}
Сумма (n-3) ПНЖК	23.75 ± 0.49	25.77 ± 1.81	38.02 ± 2.16 ^{AB}
Сумма ПНЖК	29.07 ± 0.50	34.16 ± 1.31 ^A	43.36 ± 1.95 ^{AB}
(n-6)/(n-3)	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.1 ± 0.01 ^{AB}
16:0/18:1(n-9)	0.96 ± 0.02	1.01 ± 0.11	1.44 ± 0.03 ^{AB}
18:3(n-3)/18:2(n-6)	0.43 ± 0.01	0.37 ± 0.01 ^A	0.41 ± 0.03
НЖК/ПНЖК	0.84 ± 0.01	0.72 ± 0.02 ^A	0.64 ± 0.06 ^A
20:4(n-6)/18:2(n-6)	0.28 ± 0.02	0.49 ± 0.10 ^A	1.04 ± 0.09 ^{AB}
22:6(n-3)/18:3(n-3)	15.57 ± 0.95	22.56 ± 5.67	34.09 ± 1.80 ^A

* В скобках указано количество проб. "А" – достоверные различия по содержанию отдельной ЖК между мышцами и печенью колюшки; "В" – достоверные различия по содержанию отдельной ЖК между печенью и гонадами колюшки.

аномалиям в поведенческих реакциях и образовании катаракты [22]. Можно предположить, что высокий уровень ДГК и АРА в гонадах у половозрелых самок колюшки связан с участием этих ЖК в метаболических реакциях, обеспечивающих последующее эмбриональное развитие оплодотворенной икры и ее выживаемость в раннем постэмбриогенезе.

Липиды и ЖК, входящие в состав пищевых объектов, относятся к одним из важнейших регуляторов обменных процессов в организме рыб. Определенные показатели соотношения ЖК в пище рыб

могут быть использованы в качестве биохимических индикаторов кормовых объектов [23, 24]. Высокий уровень, как некоторых МНЖК, так и ПНЖК, в частности ЭПК и ДГК, которые являются, в том числе, трофическими маркерами некоторых водорослей, определяет особую роль качественного и количественного состава пищевых объектов в формирование состава ЖК рыб, изученных в данной работе. Известно, что многие микроводоросли содержат большое количество 18:2(n-6), АРК и ЭПК. В группе диатомовых водорослей одной из основных ЖК является ЭПК,

а в группе динофлагеллят – ДГК, которые являются биомаркерами для этих водорослей [23, 24]. Для зоопланктона ЭПК и ДГК считаются эссенциальными, они получают их при питании фитопланктоном, и поэтому снижение транспорта энергии (в форме ЖК) от первичных продуцентов к консументам может быть связано с низким содержанием этих кислот в фитопланктоне [25].

Показано, что уровень в гонадах и печени колюшки другой полиеновой кислоты – докозапентаеновой (ДПК), 22:5(n-3), относительно высок в пределах 3.09–4.28% от суммы ЖК. ДПК является одним из самых обсуждаемых в последнее время компонентов в синтезе ЖК ω-3 семейства, поскольку является промежуточным продуктом синтеза ДГК из физиологически значимой ЭПК [26]. Повышенный интерес к ДПК связан с тем биологическим эффектом, который она проявляет (совместно с ЭПК) при заживлении ран. ДПК эффективно ингибирует агрегацию тромбоцитов и оказывает значительное влияние на миграцию эндотелиальных клеток [26, 27]. Содержание этой кислоты в гонадах и печени колюшки варьировало от 3.09 до 4.28% от суммы ЖК, что составляло вполне значительное количество, поскольку у других рыб оно обычно изменялось от 1 до 3%. Показано, что только тюлены и брюхоногий моллюск, абалон, могут сравниться с рыбами высоким содержанием ДПК в мышцах [28]. На биологическом свойстве жира колюшки было основано его использование для лечения ран солдат в госпиталях во время Великой Отечественной войны [29].

Последние клинические исследования, показали, что поступление ДПК в организм взрослого человека способствует улучшению нервно-психического состояния, поэтому в настоящее время продолжаются разработки и клинические испытания препаратов, содержащих ДПК [30].

Полученные результаты свидетельствовали о тканеспецифичности состава ЖК рыб. Они могут быть использованы как при разработке методических подходов к созданию пищевых ингредиентов липидной (жировой) основы из морских гидробионтов Арктического региона, которые являются важным возобновляемым природным ресурсом, так и изучении их физиолого-биохимического состояния в различных ситуациях, связанных с процессами их развития в норме и при изменении факторов среды. Это в полной мере относится к трехиглой колюшке Белого моря, которая, несмотря на значительные запасы, пока практически не используется для промысла [7]. При оценке промыслового потенциала колюшки, особенно для использования ее в качестве пищевых добавок, важно учитывать то, что в отличие от Балтийского моря, где колюшку уже добывают, воды Белого моря, расположенного в субарктической и арктической зонах, загрязнены в гораздо меньшей сте-

пени. Рост численности колюшки Белого моря произошел относительно недавно, а пищевого значения этот вид практически не имел.

Авторы выражают благодарность администрации Учебной научной базы Санкт-Петербургского государственного университета “Беломорская”.

Работа выполнена при финансировании из средств федерального бюджета государственного задания КарНЦ РАН № 0221-2017-0050, а также гранта СПбГУ (проект № 1.40.529.2017).

Работа проведена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. March B.E. // Can. J. Physiol. Pharm. 1993. V. 71. № 9. P. 684–689.
2. Horrocks L.A., Yeo Y.K. // Pharm. Res. 1999. V. 40. № 3. P. 211–225.
3. Wall R., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Stanton C. // Nutr. Rev. 2010. V. 68. № 5. P. 280–289.
4. Bradbury J. // Nutrients. 2011. V. 3. № 5. P. 529–554.
5. Valentini K.J., Austin Pickens C., Wiesinger J.A., Fenton J.I. // Int. J. Food Sci. Nutr. 2017. doi 10.1080/09637486.2017.1413640
6. Puskas L.G., Bereczki E., Santha M., Vigh L., Csanadi G., Spener F., Ferdinandy P., Onochy A., Kitajka K. // Biochimie. 2004. V. 86. № 11. P. 817–824.
7. Ivanova T.S., Ivanov M.V., Golovin P.V., Polyakova N.V., Lajus D.L. // Evol. Ecol. Res. 2016. V. 17. № 3. P. 301–315.
8. Мурзина С.А., Неведова З.А., Пеккоева С.Н., Лайус Д.Л., Иванова Т.С., Немова Н.Н. // Уч. Зап. ПетрГУ. 2017. № 8(169). С. 21–28.
9. Мурзина С.А., Неведова З.А., Пеккоева С.Н., Воронин В.П., Лайус Д.Л., Иванова Т.С., Немова Н.Н. // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 6. С. 144–149.
10. Bakhvalova A.E., Ivanova T.S., Ivanov M.V., Demchuk A.S., Movchan E.A. Lajus D.L. // Evol. Ecol. Res. 2016. V. 17. № 3. P. 317–334.
11. Folch J., Lees M., Sloan-Syanley G.H. // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. № 1. P. 497–509.
12. Цыганов Э. П. // Лаб. Дело. 1971. № 8. С. 490–493.
13. Jamieson G.R. // J. Chromat. Sci. 1975. V. 13. № 10. P. 491–497.
14. Немова Н.Н., Мурзина С.А., Неведова З.А., Пеккоева С.Н., Punamtu П.О. // Докл. РАН. 2015. Т. 460. № 4. С. 475–479.
15. Murzina S.A., Nefedova Z.A., Pekkoeva S.N., Ruokolainen T.R., Ripatti P.O., Semushin A.V., Nemova N.N. // Fishes. 2016. V. 1. № 1. P. 65–76.
16. Murzina S.A., Nefedova Z.A., Falk-Petersen S., Ripatti P.O., Ruokolainen T.R., Pekkoeva S.N., Nemova N.N. // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. № 4. P. 7048–7060.
17. Рабинович А.Л., Punamtu П.О. // Усп. соврем. биол. 1994. Т. 114. № 5. С. 581–594.

18. Pavlov D.S., Nefedova Z.A., Veselov A.E., Nemova N.N., Ruokolainen T.R., Vasil'eva O.B., Ripatti P.O. // *J. Ichthyol.* 2009. V. 49. № 11. С. 1073–1080.
19. Немова Н.Н., Неведова З.А., Мурзина С.А., Веселов А.Е., Рипатти П.О. // *Изв. РАН. Сер. Биол.* 2015. № 6. С. 581–588.
20. Неведова З.А., Мурзина С.А., Веселов А.Е., Пеккоева С.Н., Руоколайнен Т.Р., Ручьев М.А., Немова Н.Н. // *Изв. РАН. Сер. Биол.* 2017. № 1. С. 57–62.
21. Неведова З.А., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н., Немова Н.Н. // *Изв. РАН. Сер. Биол.* 2018. № 2. С. 144–149.
22. Toivonen L.V., Nefedova Z.A., Sidorov V.S., Ripatti P.O. // *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 1995. V. 31. № 5. P. 571–576.
23. Arts M.T., Kohler C.C. *Lipids in Aquatic ecosystems.* / Eds. Arts M.T., Brett M.T., Kainz M. N.Y: Springer-Verlag, 2009. 377 p.
24. Legezynska J., Kedra M., Walkusz W. // *Mar. Biol.* 2014. V. 161. № 4. P. 821–836
25. Brett M., Muller-Navarra D. // *Freshwater Biol.* 2003. V. 38. № 3. P. 483–499.
26. Kaur G., Cameron-Smith D., Garg M., Sinclair A.J. // *Prog. Lipid Res.* 2011. V. 50. № 1. P. 28–34.
27. Benistant C., Achard F., Ben Slama S., Lagarde M. // *Prostaglandins Leucot. Essent Fatty Acids.* 1996. V. 55. № 4. P. 287–292.
28. Lou Q.-M., Wang Y.-M., Xue C.-H. // *J. Food Biochem.* 2013. V. 37. № 3. P. 296–301.
29. Гербильский Н.Л., Евронейцева Н.В. *Рыбная промышленность СССР.* Сб. 1. М.: Пищепромиздат, 1945. 123 с.
30. Byelashov O.A., Kaur G. // *Lipid Technol.* 2015. V. 27. № 4. P. 79–82.

Fatty Acids of Three Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from the White Sea

S. A. Murzina^{a,*}, Z. A. Nefedova^a, S. N. Pekkoeva^a, D. L. Lajus^b, and N. N. Nemova^a

^a*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, 185910 Russia*

^b*St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia*

*e-mail: murzina.svetlana@gmail.com

Received April 04, 2018

Revised July 05, 2018

Accepted July 25, 2018

The composition of fatty acids of total lipids in muscles, liver and gonads of adults of three spined sticklebacks from the White Sea was studied. It was found that, particularly in gonads and muscles, a high level of polyunsaturated fatty acids, mainly ω -3 families, among which essential eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids, as well as docosapentaenoic acid, dominated. The relationship between the composition of fatty acids profile in organs of stickleback and other fish species and the effect of complex environmental factors was discussed. It was shown that fatty acids were tissue-specific and their composition showed the physiological state of the organism also. The obtained results can be used both in the development of methodology in formula of food ingredients on the lipid basis from marine organisms of the Arctic region, which are an important renewable natural resource, and when studying the physiological and biochemical state of fish in the process of their development in normal and under changing environmental factors.

Keywords: fatty acids, three spined stickleback, White Sea