

УДК 639.38:639.212:577.1

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

ВПЛИВ ГІПЕРОКСИ-ГІПЕРКАПНІЧНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВМІСТ ЖИРНИХ КИСЛОТ У БІЛИХ М'ЯЗАХ СТЕРЛЯДІ *ACIPENSER RUTHENUS*

Досліджено жирнокислотний склад ліпідів білих м'язів стерляді *Acipenser ruthenus* L. за впливу гіперокси-гіперкапнічного середовища. Показано перерозподіл у сторону збільшення ненасиченості жирних кислот. Зростання вмісту метаболічноактивних кислот родин $\omega 3$ направлено на підтримання співвідношення $\omega 3/\omega 6$. Виявлені модифікації у вмісті жирних кислот білих м'язів мають адаптивне значення за гіпометаболічного стану в умовах гіперокси-гіперкапнічного середовища.

Ключові слова: стерлядь, білі м'язи, гіпероксія, гіперкапнія, жирні кислоти.

Дослідження адаптації тваринних організмів до умов довкілля залишається актуальною проблемою теоретичної і практичної біології. У риб як пойкилотермних (ектотермних) організмів у процесі еволюції сформований комплекс структурно-метаболічних механізмів, що забезпечує їх пристосування до мінливих умов існування [9]. Зокрема перехід до стану зниженої життєдіяльності — гіпобіоз або гіпометаболізм супроводжується перебудовою фізіологічних функцій і модифікацією біохімічних процесів [12]. Осетрові, до яких відноситься стерлядь *Acipenser ruthenus* L., характеризуються інтенсивною метаболічною активністю [18] і пристосованістю до існування у прісних водоймах в умовах помірної кліматичної зони. Показана можливість перебування стерляді у гіпобіотичному стані з подальшим відновленням фізіологічних властивостей [4, 13]. Дослідження цього стану осетрових може бути корисними для вирішення проблем їх культивування.

У процесах адаптації живих організмів до екстремальних умов зовнішнього середовища велике значення належить ліпідам та їх складовим — жирним кислотам, які відіграють провідну роль у перебігу різних процесів у клітинах [9, 11]. Модифікація складу ліпідів виступає компенсаторним механізмом, що забезпечує функціональні можливості клітин [7]. Для холоднокровних організмів, зокрема риб, відмічається залучення жирних кислот в адаптивні реакції організму [1], зокрема у лососевих при зміні екологічних умов мешкання риб [6], у коропа *Syrpinus caprio* L. за штучного киснево-вуглекислотного гіпобіозу [10].

Серед різноманітних функцій жирних кислот слід відмітити їх використання у якості енергетичного субстрату і структурного компонента клітин,

© С. В. Хижняк, С. В. Мідик, С. В. Сисолятин, В. М. Войціцький, 2019

а також як джерела утворення фізіологічно активних речовин [15]. При цьому жирнокислотний склад тканин риб відрізняється від такого наземних тварин вищим ступенем ненасиченості, що пов'язано з низькою температурою їх існування [9]. Мета роботи — дослідження жирнокислотного спектру ліпідів білих м'язів стерляді у штучному гіпометаболічному стані за впливу гіперокси-гіперкапнічного середовища.

Матеріал і методика досліджень. У дослідях використані особини стерляді (*A. ruthenus*), штучно вирощені у водоймах ВП «Немішаєвський агро-технічний коледж» НУБіП України. Стерлядь утримували в інкубаційному цеху згідно нормативів. Риб (дворічки живою масою 400—450 г) розділяли на групи по п'ять особин: 1-ша — контрольна, 2-га — піддавалась впливу чинників середовища. Для створення у риб гіпометаболічного стану в умовах гіперокси-гіперкапнічного середовища використовували запатентовану методику [3], насичуючи воду (температура $16,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$), газовою сумішшю CO_2 і O_2 у співвідношенні 1 : 1 під тиском подачі 20,265 кПа. Перебування риб у гіпометаболічному стані (через 15 хв впливу) фіксували за зовнішніми ознаками: риби лягали на дно, їх рух припинявся, коливання зябрових кришок ставали малопомітними, зникала реакція на подразнення. У такому стані вони знаходились одну годину, після перенесення у чисту відстояну воду фізіологічні функції відновлювались протягом 10 хв. Тобто, перебування стерляді у гіпометаболічному стані має тимчасовий характер.

Матеріал (білі м'язи) відбирали через одну годину перебування у гіпометаболічному стані. Проводили гомогенізацію тканин та екстракцію ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю за методом Фолча [17]. Гідроліз і метилювання жирних кислот ліпідів здійснювали згідно [16]. Метиллові ефіри жирних кислот аналізували на газовому хроматографі Trace GC Ultra (США) з полум'яно-йонізуючим детектором. Умови детектування: 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 площ піків та виражали вміст ЖК у відсотках. Отримані результати досліджень обробляли статистично з використанням програми MS Excel. Вираховували середні значення (M) і похибку середніх ($\pm m$). Різницю вважали вірогідною за $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

У білих м'язах стерляді за гіперокси-гіперкапнії ідентифіковано 24 ЖК. Отримані результати свідчать (таблиця, рисунок), що жирнокислотний пул загальних ліпідів білих м'язів стерляді у контролі характеризується низьким вмістом насичених жирних кислот (НЖК) і високим — ненасичених (ННЖК) — відповідно 29 і 71%. Серед НЖК домінують пальмітинова ($C_{16:0}$ — 19,75%) і стеаринова ($C_{18:0}$ — 5,65%). Вміст моноєнових ЖК (МННЖК) становить 28,75%, а полієнових ЖК (ПННЖК) — 41,52%. Серед МННЖК переважає олеїнова ($C_{18:1\omega9}$) — 19,86%, а серед ПННЖК — ліолева ($C_{18:2\omega6}$) — 14,59%. Фізіологічно важливі для прісноводних риб є ПННЖК з кількістю атомів карбону більше 20 [5], які у тканинах м'язів стерляді представлені переважно арахідоною ($C_{20:4\omega6}$) — 3,05%, ейкозапентаєною ($C_{20:5\omega3}$) — 3,8% і докозагексаєною ($C_{22:6\omega3}$) — 14,6%.

Жиринокислотний склад ліпідів білих м'язів стерляді за гіперокси-гіперкапнії (ГГ), % ($M \pm m$, $n = 5$)

Жирині кислоти	Контроль	ГГ	Жирині кислоти	Контроль	ГГ
14:0	0,85 ± 0,02	0,53 ± 0,02*	20:1ω9	2,68 ± 0,07	2,79 ± 0,06
15:0	0,27 ± 0,01	0,21 ± 0,02	18:3ω3	2,41 ± 0,11	2,21 ± 0,14
15:1	0,16 ± 0,04	0,22 ± 0,05	20:2ω6	0,47 ± 0,04	0,46 ± 0,04
16:0	19,75 ± 0,83	16,69 ± 0,63*	20:3ω6	1,40 ± 0,04	1,36 ± 0,05
16:1	4,89 ± 0,02	4,44 ± 0,09	22:1ω9	0,42 ± 0,02	0,48 ± 0,04
17:0	0,53 ± 0,03	0,45 ± 0,01*	20:3ω3	0,38 ± 0,02	0,31 ± 0,02
17:1	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,03	20:4ω6	3,05 ± 0,15	3,91 ± 0,22*
18:0	5,65 ± 0,11	4,06 ± 0,21*	23:0	0,28 ± 0,04	0,27 ± 0,03
18:1ω9	19,86 ± 0,75	21,11 ± 0,87	21:0	1,59 ± 0,07	1,37 ± 0,04
18:2ω6	14,59 ± 0,41	15,75 ± 0,50	20:5ω3	3,8 ± 0,11	4,39 ± 0,12*
20:0	0,51 ± 0,02	0,47 ± 0,03	24:1	0,53 ± 0,02	0,50 ± 0,03
18:3ω6	1,12 ± 0,09	1,01 ± 0,08	22:6ω3	14,6 ± 0,15	16,8 ± 0,12*

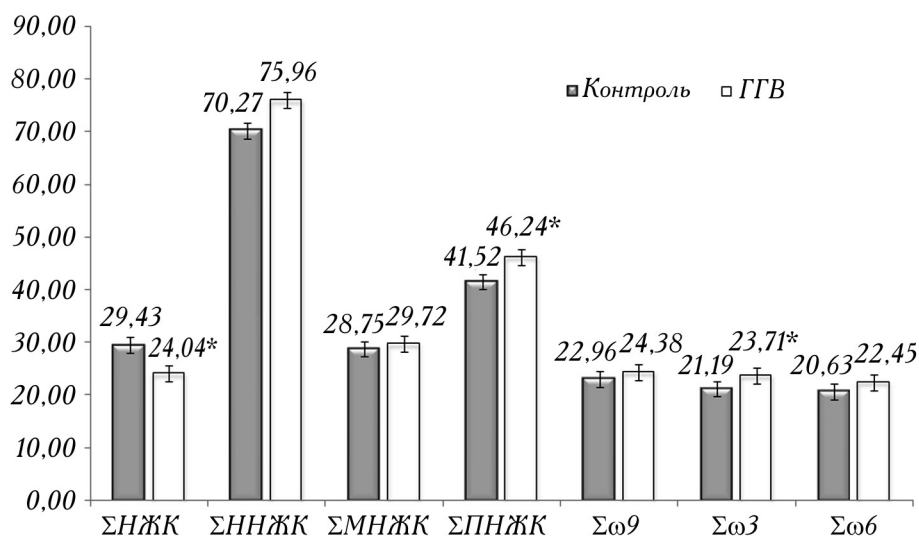
* Тут і на рис. 1: різниця порівняно з контролем статистично значуща, $P < 0,05$.

За гіпометаболізму відбувся перерозподіл у вмісті найбільш метаболічно значущих ЖК (див. таблицю) — сумарний вміст НЖК знизився, а ННЖК — зріс (див. рисунок), коефіцієнт насиченості зменшився до 0,32 проти 0,42 у контролі. Про зростання ступеня ненасиченості ЖК за гіперокси-гіперкапнії свідчить і зниження відношень, зокрема $C_{16:0} / C_{20:4\omega6}$ зменшилось до 4,3 проти 6,5 у контролі ($P < 0,05$), а $C_{16:0} / C_{22:6\omega3}$ — до 0,98 проти 1,40 у контролі ($P < 0,05$).

За гіперокси-гіперкапнії вміст НЖК, зокрема пальмітинової і стеаринової, знизився відповідно на 15,5 і 28,1% порівняно з контролем, що, можливо, пов'язано з їх використанням як енергетичного субстрату. В умовах дослідження вміст МННЖК достовірно не змінився, а ПННЖК — зріс (див. таблицю, рисунок).

Важливим є збільшення вмісту ЖК родин ω3 і ω6, які є попередниками біологічно активних речовин та синтезуються у відповідь на зовнішньоклітинні сигнали за гіперокси-гіперкапнії [5]. Сумарний вміст ω3 ЖК зріс на 12% відносно контролю (див. таблицю). Відомо, що $C_{20:5\omega3}$ може бути попередником для синтезу ейкозаноїдів (простагландинів, лейкотриєнів та ін.), а $C_{22:6\omega3}$ — використовуватись для енергетичних потреб за екстремальних умов [19]. Крім того, $C_{20:5\omega3}$ і $C_{22:6\omega3}$ властиві функції адаптивного стабілізатора ліпідного бішару клітинних мембран [8].

В умовах дослідження значення відношення $C_{22:6\omega3} / C_{18:3\omega3}$, яке характеризує активність Δ3-десатурази, що приймає участь у перетворенні $C_{18:3\omega3}$ у $C_{22:6\omega3}$, зростає до 7,6 проти 6,1 в контролі. Підвищена концентрація молекулярного кисню активує десатурази, які каталізують синтез подвійних зв'язків ЖК [14].



Сумарний вміст жирних кислот ліпідів білих м'язів стерляді у контролі (1) і в умовах гіперокси-гіперкапнії (2) ($M \pm m$, $n = 5$).

Із ЖК родини ω6 лише арахідонова ($C_{20:4\omega6}$) і її метаболічний попередник — лінолева ($C_{18:2\omega6}$) кислоти містяться у тканинах лососевих, осетрових та інших риб у помітних кількостях [2]. За гіперокси-гіперкапнії у тканинах м'язів стерляді збільшувався лише вміст $C_{20:4\omega6}$ (на 16%). При цьому сумарний вміст ω6 ЖК і відношення $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$ у досліді достовірно не відрізнялись від контролю, як і відношення ω3/ω6. Індекс інтенсивності обміну ліпідів у дослідних умовах знизився на 20%: значення відношення вмісту $C_{16:0}/C_{18:1\omega9}$ становило 0,79 проти 0,99 у контролі ($P < 0,05$).

Зміни ЖК-профілю ліпідів білих м'язів стерляді за гіперокси-гіперкапнії переважно стосуються вмісту НЖК, зокрема пальмітинової та стеаринової. Крім того, зріс вміст ПННЖК родин ω-6 та ω-3, зокрема $C_{20:4\omega6}$, $C_{20:5\omega3}$ і $C_{22:6\omega3}$. З огляду на їх безпосередню участь у регуляції більшості клітинних процесів, це можна розглядати як мобілізацію адаптивних реакцій організму, оскільки підтримується оптимальне співвідношення ω3/ω6.

Слід відмітити ранню реакцію ЖК тканин білих м'язів стерляді на вплив гіперокси-гіперкапнічного середовища. Про це свідчить і перерозподіл у вмісті індивідуальних ЖК сироватки крові через одну годину її перебування у такому середовищі [4] або за дії ефірної олії гвоздики [13]. Через одну добу після використання киснево-вуглекислотного середовища з метою анестезії риб показники вмісту індивідуальних ЖК сироватки крові повертались до контрольних значень [4, 13]. Застосування гіпометаболічного стану при штучному культивуванні стерляді рекомендується для запобігання у особин стресу, упередження ушкоджень при їх сортуванні чи маніпуляціях, наприклад, штучному заплідненні, маркуванні, біометричній оцінці тощо.

Раніше також показано ранню модифікацію вмісту ЖК-спектру різних тканин коропа *Syrpinus carpio* L. за киснево-вуглекислотного гіпобіозу, причому зростання терміну перебування риб за штучного гіпобіозу до 24 год

призводило до подальшого зниження вмісту насичених ЖК та перерозподілу у вмісті ПННЖК [10].

Висновки

Дослідження жирнокислотного спектру ліпідів білих м'язів стерляді (*A. ruthenus*) за перебування у гіпометаболічному стані в умовах впливу гіперокси-гіперкапнічного середовища свідчать про перерозподіл вмісту індивідуальних жирних кислот, що призводить до зниження сумарного вмісту насичених і зростання вмісту ненасичених жирних кислот. Зростання вмісту довголанцюгових полієнових ЖК родин $\omega 3$ та $\omega 6$ ($C_{20:4\omega 6}$, $C_{20:5\omega 3}$ та $C_{22:6\omega 3}$), які характеризуються метаболічною активністю, ймовірно, забезпечує підтримання оптимального відношення $\omega 3/\omega 6$. Виявлені модифікації у вмісті ЖК ліпідів білих м'язів стерляді свідчать про їх залучення у процеси фізіолого-біохімічної адаптації до гіперокси-гіперкапнічного впливу.

**

Исследован жирнокислотный состав липидов белых мышц стерляди Acipenser ruthenus L. в контроле и при воздействии гиперокси-гиперкапнической среды. Показано уменьшение содержания насыщенных кислот, в частности пальмитиновой ($C_{16:0}$) на 15,5% и стеариновой ($C_{18:0}$) на 28,1%, а также увеличение содержания полиеновых жирных кислот, что обуславливает рост ненасыщенности жирных кислот липидов. Повышение содержания метаболически активных кислот семейств $\omega 3$, в частности эйкозапентаеновой ($C_{20:5\omega 3}$) и докозагексаеновой ($C_{22:6\omega 3}$), и $\omega 6$ — арахидоновой ($C_{20:4\omega 6}$) направлено на поддержание отношения $\omega 3/\omega 6$. Модификации в содержании жирных кислот белых мышц стерляди имеют адаптивное значение при гипометаболическом состоянии рыб в условиях гиперокси-гиперкапнической среды.

**

The fatty acid composition of lipids of sterlet Acipenser ruthenus L. white muscles in control and under hyperoxy-hypercapnic was studied. Redistribution of the individual fatty acids content is shown: the content of saturated acids, in particular palmitic ($C_{16:0}$) decreased by 15,5% and stearic ($C_{18:0}$) by 28,1%, and also the content of polyenoic fatty acids increases, leading to the increase of lipid fatty acid unsaturation degree. The increase of the content of metabolically active fatty acids families: $\omega 3$, in particular, eicosapentaenoic ($C_{20:5\omega 3}$) and docosahexaenoic ($C_{22:6\omega 3}$), as well as $\omega 6$ — arachidonic ($C_{20:4\omega 6}$), provides the maintenance of the $\omega 3/\omega 6$ balance. The revealed modifications in the content of fatty acids of white muscles of sterlet have an adaptive importance in the hypometabolic state of fishes in the hyperoxy-hypercapnic conditions.

**

1. Болгова О.М. К вопросу о роли жирных кислот в адаптации рыб // Теоретические аспекты экологической биохимии. — Петрозаводск: Карельский НЦ 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. Мельничук С.Д., Мельничук Д.О., Терещенко С.В. Патент на корисну модель UA № 37303; Спосіб переведення та зберігання риби в стані штучного гіпобіозу і установка для його здійснення // Національний універ-

- ситет біоресурсів і природокористування України. Опубліковано 15.05.2001. — Бюл. № 4, 2001 р.
4. Мидык С.В., Хижняк С.В., Войццький В.М., Сисолятин С.В. Влияние гиперокси-гиперкапнической среды на жирнокислотный состав сыворотки крови стерляди // Междунар. науч.-практ. конф. «Аквакультура осетровых: современные тенденции и перспективы», 18 мая 2016 г., Херсон. — Херсон, 2016. — С. 205—210.
 5. Назаров П.Е., Гроза Н.В. Полиненасыщенные жирные кислоты как универсальные биогенные эндорегуляторы // Вестник МИТХТ. — 2009. — Т. 4, № 5. — С. 3—19.
 6. Немова Н.Н., Нефедова З.А., Мурзина С.А., Веселов А.Е. Влияние экологических условий обитания на динамику жирных кислот у молоди атлантического лосося // Экология. — 2015. — № 3. — С. 206—211.
 7. Особа І.А. Біологічна роль перекисного окиснення ліпідів у забезпеченні функціонування організму риб // Рибогосп. наука України. — 2013. — № 1. — С. 87—96.
 8. Попова Е.М., Коцій І.В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу // Там же. — 2007. — № 1. — С. 49—56.
 9. Сигоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. — Л.: Наука, 1983. — 240 с.
 10. Сисолятин С.В. Вміст жирних кислот в органах *Cyprinus carpio* L. за різних умов існування // Біологія тварин. — 2017. — Т. 19, № 3. — С. 88—98.
 11. Смирнов Л.П., Богдан В.В. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях экотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. — М.: Наука, 2007. — 181 с.
 12. Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Настоящее, прошлое и будущее. — М.: Информ-Знание, 2005. — 256 с.
 13. Хижняк С.В., Малишева О.О., Сисолятин С.В., Войццький В.М. Патент на корисну модель UA № 111947. Спосіб застосування киснево-вуглекислотного середовища для анестезії осетрових риб // Національний університет біоресурсів і природокористування України. Опубл. 25.11.2016 — Бюл. № 22, 2016 р.
 14. Bell M.V., Dick J.R., Porter A.E. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout // Lipids. — 2001. — Vol. 36, N 10. — С. 1153—1159.
 15. Calder P.C. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids // J. Nutr. — 2012. — Vol. 142, Iss. 3. — P. 592S—599S.
 16. Christie W.W. Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids. — Oxford: Pergamon Press, 1982. — 207 p.
 17. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226. — P. 497—509.
 18. Gesner J., Freyhof J., Kottelat M. *Acipenser ruthenus* (Sterlet). — The IUCN Red List of Threatened Species, 2010, e.T227A13039007
 19. Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish // Rev. Fish. Sci. — 2003. — Vol. 11, N 2. — С. 107—184.