

УДК 577.115.3

ТРАНСФОРМАЦИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ ПОДКОЖНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ МОРСКИХ И ПРЕСНОВОДНЫХ ТЮЛЕНЕЙ

*Е.С. Аверина, старший научный сотрудник, *Е.Ц. Пинтаева, младший научный сотрудник, *Л.Д. Раднаева, заведующий лабораторией, ** О. Грахл-Нилсен,

профессор, ***Е.А. Петров, заместитель директора

*Лаборатория химии природных систем Байкальского института природопользования Сибирского Отделения РАН

** Университет г. Берген, Норвегия

***ОАО «Востсибрыбцентр»

e-mail: averlen@yandex.ru

П оказана взаимосвязь жирнокислотного состава липидов подкожной жировой ткани разных видов тюленей с характеристиками условий обитания, объектов питания как экологическими факторами. Выявлены закономерности послынного изменения состава жирных кислот жировой ткани байкальской нерпы и кольчатого тюленя Северного моря.

Ключевые слова: жирные кислоты, насыщенные жирные кислоты, мононенасыщенные жирные кислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, байкальская нерпа, кольчатый тюлень.

Введение

Липиды играют важную роль в метаболических процессах водных организмов и являются основным источником энергии для роста и воспроизводства гидробионтов. Липиды подкожного жира морских млекопитающих (составляющего у некоторых видов до 50% массы тела) являлись объектом многих исследований [1–7]. Основное внимание в этих работах уделяется жирным кислотам – «строительным блокам» липидов, изучение которых позволяет осветить экологические, таксономические и медицинские аспекты.

Липидные показатели являются важнейшими характеристиками физиолого-биохимической индикации состояния организмов и популяций при различных условиях обитания. Байкальский тюлень (нерпа) *Phoca (Pusa) Sibirica Gmel* – единственное эндемичное млекопитающее Байкала, которое, будучи замыкающим звеном в трофической цепи озера, может выступать как биоиндикатор экосистемы озера. Статус байкальской нерпы как основного объекта биомониторинга закреплен в федеральном законе «Об охране озера Байкал» [8].

Современные ДНК-исследования выявили, что предок байкальской нерпы достиг озера Байкал около 0.4 млн. лет назад, по-видимому, через реки Енисей и Ангару, и что байкальская нерпа филогенетически наиболее близка к кольчатому, нежели к каспийскому тюленю. Результатом адаптации тюленей к уникальным условиям глубины и низкой

температуры озера Байкал стали морфологические отличия, вследствие чего байкальская нерпа отличается от кольчатого и каспийского тюленей по кариотипу, структуре скелета и диморфизму полов [9].

Несмотря на уникальные экологические и биологические характеристики озера Байкал, исследования, связанные с изучением состава липидов байкальской нерпы, единственного вида млекопитающих Байкала, в литературе весьма немногочисленны [10, 11]. Тогда как жирнокислотный состав подкожного жира арктического кольчатого тюленя *P. hispida hispida* и трех других подвидов: *P. hispida botnica* (Балтийское море), *P. hispida ladogensis* (Ладожское озеро) и *P. hispida saimensis* (оз. Сайма, Финляндия) достаточно хорошо изучен [12–14].

Так как байкальская нерпа и кольчатый тюлень являются эволюционно и генетически родственными видами, но обитающими в вершинах разных пищевых пирамид, большой интерес представляет проведение сравнительного анализа состава жиров морских и пресноводных тюленей, а также вопрос зависимости жирнокислотного состава жира тюленей от состава кислот в жирах пищевых объектов. В данной работе рассмотрены следующие вопросы: 1) сравнительное изучение жирнокислотного состава подкожного жира байкальской нерпы и кольчатого тюленя Северного моря, а также основных объектов их питания; 2) влияние различных факторов на распределение жирных кислот в подкожной жировой ткани морских и пресно-

водных тюленей; 3) анализ жирнокислотного состава особей в возрастном аспекте.

Материалы и методы

Особь байкальской нерпы различного возраста были выловлены во время промыслового лова в районе Ушканьих островов оз. Байкал, заливах Провал и Чивыркуйский, в различные сезоны 2001-2008 гг., общее число животных 52.

Кольчатые тюлени (N=12) были отловлены во время лицензионного отлова на ледовом побережье Гренландского моря (западнее Свалбарда), в Баренцевом море (восточнее Свалбарда) и в Арктическом океане (Севернее Свалбарда) в период 1999-2005 гг.

Образцы жира весом около 20 мг были отобраны из подкожного жира тюленей послойно: возле шкуры (верхний слой) и непосредственно возле мышечной ткани животного (внутренний слой) и перенесены в толстостенные стеклянные пробирки с тefлоновыми закручивающимися пробками. Кроме того, для исследования трансформации жирных кислот в подкожной жировой ткани байкальской нерпы были отобраны образцы по всей толщине ткани через каждые 3 мм от шкуры до мышечной ткани.

Байкальская голомянка и полярная треска (основные объекты пищевой базы нерпы и кольчатого тюленя, соответственно) были пойманы сетями в районе Ушканьих островов оз. Байкал и на западном побережье Свалбарда, соответственно. Рыбы были тщательно гомогенизированы, около 40 мг каждой пробы были перенесены в толстостенные стеклянные пробирки с тefлоновыми закручивающимися крышками.

Все образцы были метилированы одноступенчатый метод [15] обработкой 2 н. раствором хлороводорода в метиловом спирте в закрытых пробирках в течение 2 ч при 90°C. Полученную смесь трижды экстрагировали гексаном. Липидные образцы хранились при температуре -40°C для предотвращения окислительной деструкции. Анализ полученных метиловых эфиров жирных кислот проводился методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) на хроматографе HP-6890 с масс-селективным детектором 5973N, колонка CP-WAX 52CB Chrompack (25 м x 0.25 мм), температура инжектора 250°C, температура колонки программировалась следующим образом: 90°C в течение 4 мин, далее температура повышалась до 165°C со скоростью 30°C/мин, с последующим увеличением до 225°C (3°C/мин). Температура масс-селективного детектора 250°C. Для анализа

образцов была использована стандартная смесь, содержащая 20 жирнокислотных эфиров (GLC-68D Nu-Chek-Prep; Elysian, Миннесота, США).

Полученные данные о жирнокислотном составе исследованных образцов были обработаны методом главных компонент, представленном в программном пакете Sirius 7.0 [16]. Этот проекционный метод статистического анализа позволяет интегрировать информацию обо всех объектах и показателях одновременно в *n*-мерном пространстве и получить график, который является проектированием всех образцов на двумерную систему, где оси системы – первая и вторая (или третья) принципиальные компоненты [17].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ состава жировой ткани пресноводных и морских тюленей и объектов их питания

В изученных жирах байкальской нерпы и арктического кольчатого тюленя, а также основных объектов их пищевой базы – байкальской голомянки и полярной трески, идентифицировано 50 жирных кислот (ЖК) (табл. 1).

Выявлены систематические различия жирнокислотного состава байкальских и морских образцов. Так, в жирах байкальского тюленя и голомянки наблюдается более высокое содержание разветвленных насыщенных кислот (НЖК) с 15, 17 и 18 атомами углерода по сравнению с морскими образцами. Тогда как уровень мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) 20:1n9 и 22:1n11 выше в 17-20 и 60-300 раз (внутренний и внешний слой, соответственно) в жирах морских тюленей по сравнению с пресноводными. В то же время концентрации всех *n*6 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), а также *n*3 – 18:3n3 и 20:3n3 кислот выше в жирах байкальских гидробионтов и, наоборот, содержание 20:5n3 кислоты выше для морских видов. Кроме того, обнаружено высокое содержание НЖК, а также 14:1n5, 18:1n9 и 18:1n7 кислот в жирах байкальских голомянок по сравнению с морскими рыбами, что не характерно для жиров тюленей.

Доминирующим источником ЖК для морских млекопитающих является пищевая база. Так, все ЖК липидов изученных рыб обнаружены в подкожном жире изученных тюленей, хотя и в различных концентрациях. Кроме того, сами животные обладают способностью синтезировать НЖК с 14, 16 и 18 углеродными атомами, МНЖК 16:1n7 и 18:1n9 [18].

Таблица. 1. Жирнокислотный состав (% ± станд. отклон.) жиров байкальской нерпы *Phoca sibirica*, кольчатого тюленя *Phoca hispida*, байкальской голомянки *Comephorus baikalensis* и полярной трески *Boreogadus saida*.

Жирные кислоты*	Эмбрионы байкальской нерпы	Щенки байкальской нерпы		Взрослые особи байкальской нерпы		Голомянки	Кольчатый тюлень		Полярная треска
		Верхний слой	Внутренний слой	Верхний слой	Внутренний слой		Верхний слой	Внутренний слой	
14:0	5.0±0.1	4.0±0.4	4.2±0.4	3.8±0.7	5.9±0.9	6±1	3.0±0.4	4.6±0.7	3.15±0.01
14:1n5	1.3±0.3	1.5±0.2	0.8±0.2	2.0±0.4	0.9±0.3	0.25±0.09	1.4±0.3	0.5±0.3	0.06±0.01
15:0	0.32±0.01	0.34±0.02	0.37±0.03	0.31±0.04	0.45±0.08	0.46±0.04	0.25±0.04	0.30±0.03	0.27±0.01
i-15:0	0.09±0.01	0.68±0.06	0.62±0.04	0.59±0.07	0.71±0.09	0.7±0.2	0.19±0.04	0.24±0.04	0.16±0.01
ai-15:0	0.11±0.01	0.28±0.02	0.27±0.02	0.29±0.04	0.31±0.05	0.31±0.07	0.08±0.02	0.08±0.02	0.03±0.01
16:0	24.0±3.0	6.4±0.4	10.0±1	5.0±1.0	11.0±2	15.6±0.3	5.0±1	11.0±3	9.5±0.1
16:1n9	4.0±0.5	0.75±0.07	0.69±0.06	0.7±0.1	0.7±0.2	0.41±0.07	0.6±0.2	0.3±0.1	0.21±0.01
16:1n7	19.0±4.0	21.5±0.7	17±2	20±2.0	15±2	11±3	20±3	16.2±2	11.4±0.1
16:1n5	0.23±0.02	0.36±0.03	0.35±0.04	0.35±0.03	0.35±0.05	0.32±0.02	0.34±0.05	0.33±0.04	0.29±0.01
16:2n6	0.10±0.09	0.7±0.1	0.7±0.1	0.9±0.1	1.1±0.4	1.0±0.3	0.6±0.1	0.7±0.1	0.70±0.01
16:3n4	<0.01±0.00	0.26±0.07	0.24±0.06	0.3±0.1	0.4±0.1	0.5±0.2	0.15±0.07	0.30±0.08	0.38±0.01
16:4n1	0.07±0.06	0.14±0.04	0.12±0.03	0.20±0.06	0.3±0.1	0.2±0.1	0.29±0.08	0.5±0.1	0.45±0.01
17:0	0.5±0.2	0.32±0.06	0.43±0.07	0.24±0.05	0.40±0.09	0.29±0.07	0.09±0.05	0.10±0.05	0.14±0.01
i-17:0	0.32±0.08	0.51±0.02	0.52±0.03	0.46±0.08	0.48±0.07	0.54±0.02	0.25±0.08	0.19±0.04	0.25±0.01
ai-17:0	0.25±0.03	0.5±0.1	0.55±0.05	0.55±0.06	0.6±0.1	0.69±0.08	0.11±0.06	0.09±0.04	0.07±0.01
br-17:1	0.1±0.1	0.22±0.05	0.21±0.04	0.25±0.03	0.27±0.04	0.27±0.04	0.09±0.04	0.07±0.03	0.18±0.01
17:1n8	0.3±0.1	0.76±0.04	0.69±0.05	0.8±0.1	0.56±0.08	0.45±0.08	0.36±0.07	0.18±0.06	0.15±0.01
18:0	3.2±0.8	0.59±0.07	1.3±0.3	0.6±0.1	1.5±0.3	3.0±0.3	0.5±0.2	1.3±0.6	1.76±0.01
i-18:0	0.02±0.02	0.24±0.02	0.26±0.01	0.26±0.06	0.24±0.08	0.5±0.1	0.09±0.05	0.08±0.04	0.06±0.01
18:1n9	21.0±1.0	30.0±5	32.0±5	24.0±6.0	18.0±6.0	16.0±2.0	23.0±3.0	15.0±4.0	7.79±0.03
18:1n7	6.5±0.2	7.1±0.8	7.6±0.7	5.9±0.9	5.0±1	4.9±0.8	5.0±1	5.0±1	2.84±0.02
18:1n5	0.7±0.2	0.33±0.03	0.31±0.02	0.32±0.09	0.30±0.07	0.34±0.05	0.6±0.1	0.5±0.1	0.56±0.02
18:2n7	1.2±0.1	0.25±0.05	0.20±0.04	0.22±0.09	0.15±0.08	0.05±0.03	0.12±0.03	0.08±0.01	0.04±0.01
18:2n6	0.6±0.1	3.5±0.4	3.9±0.4	4.2±0.7	4.1±0.5	4.4±0.8	1.3±0.1	1.1±0.2	0.78±0.02
18:2n4	0.3±0.1	0.31±0.03	0.31±0.03	0.33±0.03	0.33±0.04	0.27±0.05	0.17±0.04	0.16±0.03	0.18±0.02
18:3n6	0.15±0.03	0.59±0.05	0.47±0.06	0.40±0.07	0.28±0.07	0.19±0.04	0.15±0.02	0.19±0.06	0.13±0.01
18:3n3	0.13±0.06	1.6±0.3	1.7±0.3	2.3±0.6	3.0±0.7	3.0±0.6	0.6±0.1	0.7±0.4	0.48±0.03
18:4n3	0.1±0.1	2.1±0.5	1.9±0.4	2.1±0.5	2.7±0.8	2.1±0.3	1.3±0.2	2.2±0.6	2.72±0.02
19:0	0.18±0.09	0.2±0.1	0.16±0.06	0.23±0.07	0.2±0.01	0.14±0.02	0.16±0.06	0.1±0.1	0.14±0.01
20:0	0.13±0.02	0.3±0.3	0.1±0.01	0.05±0.07	0.1±0.01	0.16±0.03	0.03±0.05	0.05±0.02	0.05±0.01
20:1n11	1.8±0.9	0.1±0.1	0.1±0.01	0.3±0.1	0.3±0.02	0.12±0.04	1.2±0.7	1.0±0.7	0.99±0.06
20:1n9	0.35±0.04	0.2±0.1	0.3±0.1	0.35±0.06	0.5±0.2	0.8±0.1	6.0±2.0	10±5	15.2±0.4
20:1n7	0.36±0.08	0.4±0.2	0.2±0.2	0.3±0.1	0.3±0.2	0.20±0.02	0.3±0.3	0.4±0.2	0.96±0.06
20:2n6	1.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.6±0.3	0.71±0.08	0.20±0.08	0.20±0.04	0.34±0.04
20:3n3	<0.01±0.00	0.17±0.03	0.18±0.04	0.20±0.04	0.23±0.04	0.28±0.02	0.06±0.01	0.08±0.02	0.05±0.01
20:4n6	2.1±0.2	1.7±0.3	1.3±0.3	2.0±0.3	2.0±0.3	4.0±2.0	0.5±0.2	0.33±0.09	0.38±0.02
20:4n3	0.03±0.03	0.4±0.1	0.3±0.1	0.6±0.2	0.6±0.2	0.38±0.04	0.53±0.08	0.6±0.2	0.64±0.01
20:5n3	1.0±0.2	3.0±0.8	2.4±0.6	4.0±1.0	4.0±1.0	7.0±2.0	8.0±1.0	9.0±2.0	11.0±0.3
21:5n3	<0.01±0.00	0.18±0.06	0.17±0.05	0.25±0.07	0.28±0.09	0.20±0.04	0.44±0.08	0.44±0.08	0.42±0.01
22:0	<0.01±0.00	0.01±0.01	0.00±0.01	0.01±0.02	0.02±0.02	0.08±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.05±0.01
22:1n11	0.04±0.02	0.03±0.02	0.04±0.01	0.01±0.00	0.01±0.00	<0.01±0.00	0.6±0.4	3.0±2.0	10.5±0.4
22:1n9	<0.01±0.00	0.01±0.01	0.00±0.01	0.05±0.03	0.07±0.02	0.16±0.04	0.19±0.07	0.5±0.3	1.83±0.07
22:1n7	0.22±0.09	0.10±0.03	0.09±0.03	0.05±0.02	0.05±0.02	0.08±0.01	0.08±0.01	0.17±0.08	0.44±0.01
22:4n6	0.2±0.2	0.23±0.05	0.23±0.05	0.3±0.1	0.5±0.1	0.16±0.05	0.05±0.02	0.05±0.02	0.03±0.01
22:5n6	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.2	1.0±0.4	1.3±0.5	1.2±0.4	0.07±0.03	0.07±0.03	0.15±0.09
22:5n3	0.5±0.2	2.2±0.6	2.2±0.6	3.4±0.9	4.0±1.0	0.9±0.2	4.7±0.5	4.0±1.0	1.04±0.04
22:6n3	1.8±0.5	4.0±1	4.0±1	7.0±2.0	10.0±3.0	10.0±4.0	10.0±1.0	9.0±2.0	10.4±0.4
24:0	0.02±0.02	<0.01±0.00	<0.01±0.00	0.01±0.01	0.01±0.01	0.05±0.02	<0.01±0.0	0.01±0.01	0.02±0.01
24:1n9	0.24±0.04	0.01±0.01	0.02±0.02	0.05±0.05	0.15±0.06	1.1±0.6	0.04±0.02	0.10±0.09	0.42±0.02
неидент.	0.2±0.1	0.10±0.03	0.09±0.03	0.05±0.03	0.04±0.01	<0.00	0.01±0.01	0.01±0.01	0.2±0.2

* Первая цифра обозначает число углеродных атомов, вторая – количество ненасыщенных связей, третья – номер первого от метильной группы углеродного атома при двойной связи.

Состав ЖК подкожного жира млекопитающих – это результат сложных

процессов запаса, мобилизации, биосинтеза и транспорта липидов. Схожие уровни эндогенных ЖК близких видов тюленей (байкальского и кольчатого) наблюдались как во внутреннем, так и в верхнем слоях подкожного жира животных, несмотря на значительные различия концентраций этих

кислот в липидах рыб, составляющих их пищевую базу (рис. 1). Это, вероятно, объясняется генетическими факторами формирования жирнокислотного состава триацилглицеридов подкожного жира в результате эволюционной адаптации к условиям окружающей среды [13].

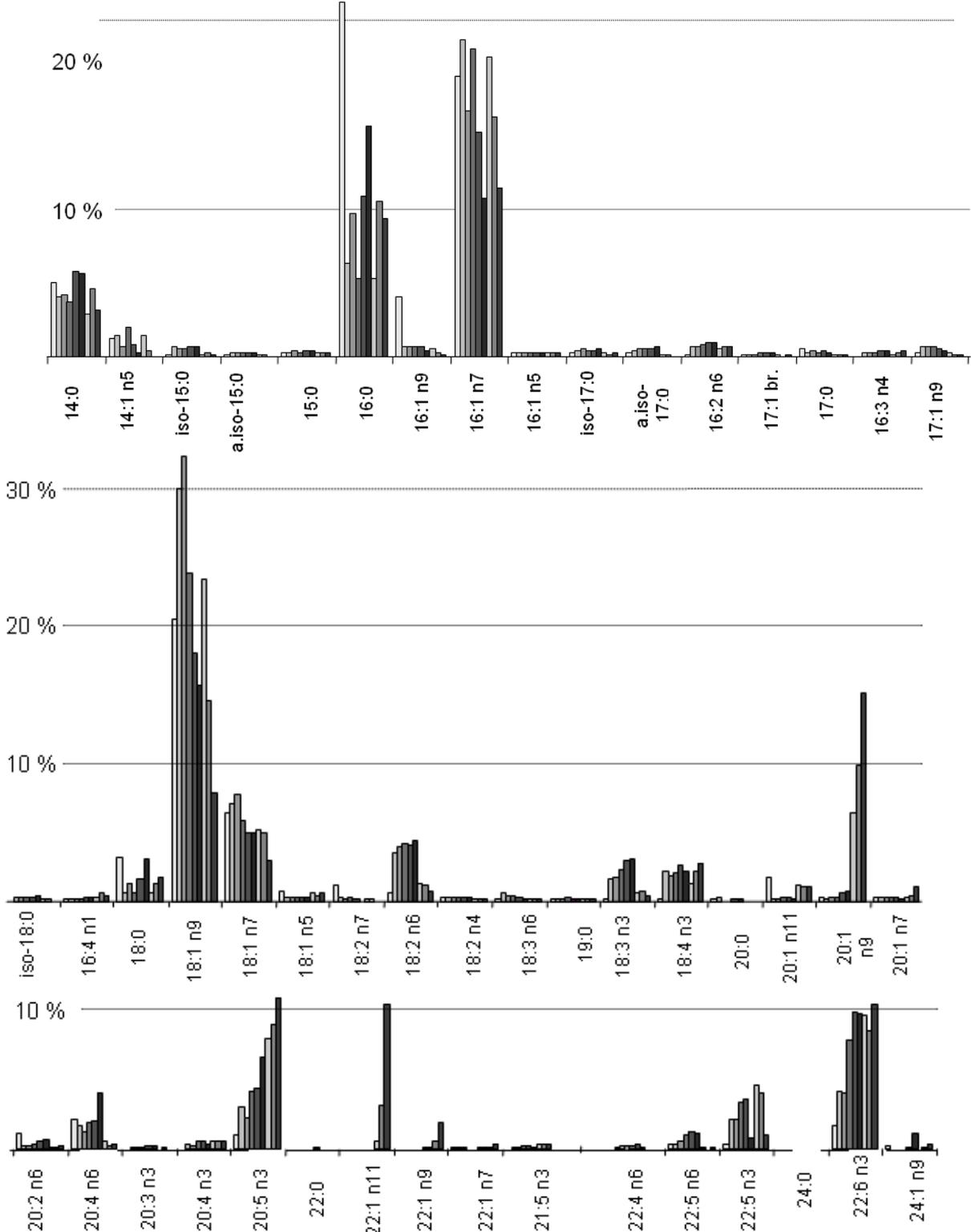


Рис. 1. Относительное содержание (в % от общей суммы) некоторых жирных кислот в жире нерпы и кольчатого тюленя и в основных объектах питания тюленей. Девять столбцов для каждой жирной кислоты представляют содержание (слева направо): в эмбрионах нерпы, подкожном и внутреннем жире детенышей байкальской нерпы, подкожном и внутреннем жире взрослых особей нерпы, голомянке, подкожном и внутреннем жире кольчатой нерпы, полярной треске.

Наибольшие различия ЖК состава жиров пресноводных и морских тюленей в основном обусловлены разными концентрациями длинноцепных МНЖК и ПНЖК (рис. 1), которые не синтезируются эндогенно, а поступают из пищевых источников [19].

Необходимо отметить весьма низкое содержание С20 и С22 МНЖК для байкальских образцов. В морских экосистемах предшественниками указанных ЖК являются эфиры восков ракообразных, в байкальской фауне эти эфиры отсутствуют [20]. Кроме того, в подкожном жире байкальской нерпы отмечается высокое содержание С18 и п6 ПНЖК, источниками которых является планктон. Общее увеличение концентраций п6 ПНЖК в жирах пресноводных тюленей наблюдается на фоне более низких концентраций п3 ПНЖК, в основном 20:5п3.

Высокие уровни п6 и С18 ПНЖК и низкие уровни С20 и С22 МНЖК характерны также для пресноводных подвидов *Phoca vitulina mellonae* из северного Квебека (Канада), в отличие от его морских сородичей *P. vitulina concolor* и *P. vitulina richardsi* [4]. Несмотря на то, что в литературных источниках описан общий ЖК состав пресноводных гидробионтов [21], сравнительные данные по составу ЖК основных объектов питания и водных млекопитающих до сих пор не были освещены.

Применение мультивариационного анализа главных компонент позволило ясно продемонстрировать выявленные различия жирнокислотного состава между образцами байкальского тюленя и голомянки, с одной стороны, и морскими кольчатыми тюленями и полярной треской с другой (рис. 2).

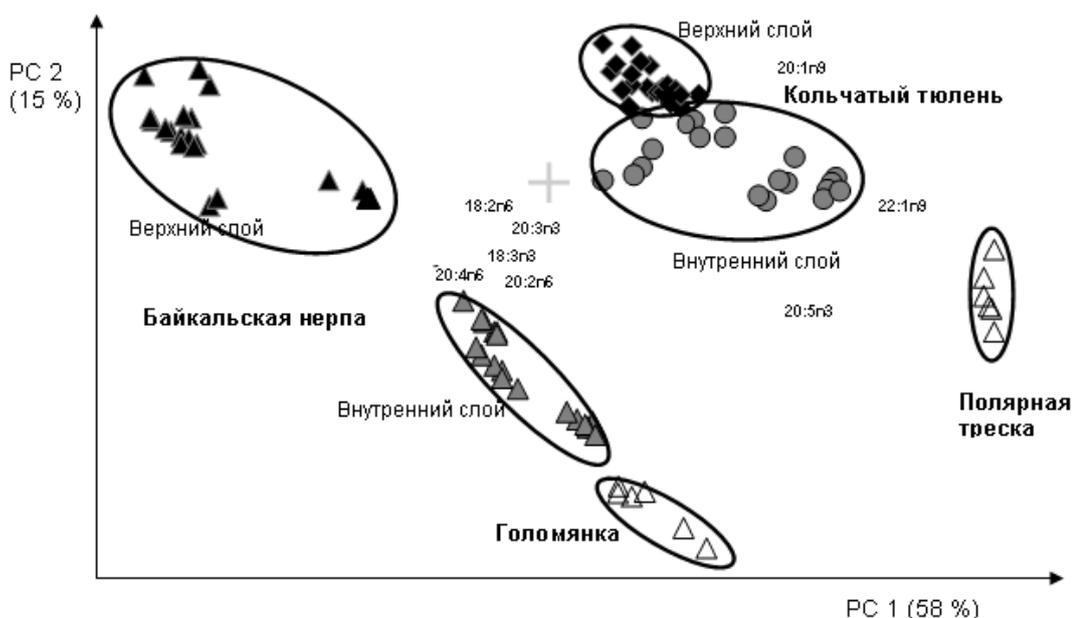


Рис. 2. График метода главных компонент образцов жира байкальской нерпы, кольчатого тюленя и их основной пищевой базы – голомянки и полярной трески.

Полученный график показывает, что имеются систематические различия между образцами жира байкальской нерпы и морскими тюленями, а также между объектами их питания. Необходимо также отметить, что тюлени имеют различный жирнокислотный состав во внутреннем и внешнем слое подкожного жира. Состав внутреннего слоя при этом более близок к жирнокислотному составу жира объектов питания, чем ЖК состав внешнего слоя (рис. 2).

Стратификация жирных кислот в жировой ткани морских и пресноводных млекопитающих

Для выявления закономерностей распре-

деления ЖК в подкожной жировой ткани исследование жирнокислотного состава проводилось послойно через каждые 3 мм, начиная от внутреннего слоя – слой подкожного жира, прилегающий к мышцам, к внешнему слою – слой, прилегающий к шкуре животного. Обнаружены общие тенденции послойного изменения состава кислот для обоих видов тюленей: концентрации МНЖК с 14 и 18 углеродными атомами более высоки в верхнем слое, а МНЖК с 20 и 24 углеродными атомами – во внутреннем слое подкожного жира тюленей; уровень 16:1n9 и 20:1n11 кислот (которые, в соответствии с положением двойной связи,

являются результатом пероксисомального укорачивания цепи) повышается в верхнем слое. Содержание насыщенных жирных кислот выше в липидах внутреннего слоя, за исключением *изо*- и *антеизо*-17:0 и 19:0 кислот в жире кольчатого тюленя. Что касается ПНЖК, изомеры 18:2 кислот в наибольшей степени аккумулируются в липидах верхнего слоя, ПНЖК с 16 углеродными атомами – во внутреннем слое жира. В жире кольчатого тюленя концентрация 20:4n6 повышается в верхнем слое.

Основные закономерности послойного изменения состава ЖК во внутреннем и верхнем слоях подкожного жира схожи как для байкальской нерпы, так и для кольчатого тюленя, несмотря на различия общего ЖК состава двух видов. Метод главных компонент наглядно демонстрирует различия ЖК состава верхнего и внутреннего слоев подкожного жира тюленей (рис. 2).

В настоящее время для объяснения стратификации ЖК в подкожных жирах морских млекопитающих рассматриваются эндогенные ЖК, т.е. НЖК и ПНЖК с 14, 16 и 18 углеродными атомами [22, 23]. Полагают, что эндогенно синтезируемые ЖК мобилизуются в меньшей степени и потому доминируют в более стабильном верхнем слое, тогда как диетарные ЖК запасаются или мобилизуются по мере необходимости [24].

При сравнении ЖК состава внутреннего и верхнего слоев подкожного жира байкальской нерпы и кольчатого тюленя с жирнокислотным составом объектов пищевых источников (голомянка и полярная треска) было показано, что состав внутреннего слоя наиболее близок к составу пищевой базы (рис. 2), что не противоречит литературным данным [25, 26]. Послойные различия ЖК состава проявляются в наибольшей степени у взрослых байкальских тюленей по сравнению с составом жира щенков нерпы. Выявлено, что на ЖК состав внутреннего слоя оказывает влияние не только диетарный эффект, но и происходит эндогенный синтез и селективные процессы послойного распределения ЖК. Такие же различия наблюдались также у дельфинов *Phocoena phocoena* [24]. При этом, хотя состав внутреннего слоя подкожного жира тюленей обоих видов отличен от состава жирных кислот основных объектов пищевой базы (табл. 1, рис. 2), тем не менее, наблюдается общий характер изменения состава в направлении «рыба – внутренний слой подкожного жира тюленя» как для морских, так и для пресноводных гидробионтов.

Жировая ткань тюленей является не только основным энергетическим депо животного, структура и химический состав ткани соответствует различным физиологическим требованиям организма, при этом различные слои жира выполняют соответствующие физиолого-биохимические функции [27].

Обнаружена интересная зависимость между распределением кислот во внешнем или внутреннем слое и их температурой плавления. Выявлено, что жирные кислоты с большей температурой плавления имеют тенденцию к аккумуляции во внутреннем слое, тогда как во внешнем слое преобладают жирные кислоты с низкими значениями температуры плавления. Исходя из этого можно сделать вывод, что состав внешнего слоя также зависит от температуры окружающей среды. Так, преобладание насыщенных жирных кислот во внешнем слое подкожной жировой ткани у эмбрионов можно объяснить стабильно высокой температурой среды, в которой они находятся, а жирнокислотный состав внешнего слоя жира взрослых особей адаптирован к низкой температуре окружающей среды, поэтому у них преобладают короткоцепные мононенасыщенные жирные кислоты с низкой температурой плавления. Таким образом, установлено влияние температуры внешней среды на жирнокислотный состав внешнего слоя.

Исследование вертикальных профилей 14:0, 16:0, 14:1n5, 16:1n7, 18:1n9, 20:1n9, 20:5n3 и 22:6n3 жирных кислот по всей толщине жира животных различного возраста и пола позволяет сделать вывод о том, что подкожный жир не может быть рассмотрен как состоящий только из двух отдельных слоев (рис. 3). Полученные графики вертикальных профилей ЖК показывают, что содержание ЖК неоднородно по всей толщине жира и эти изменения зависят от толщины жировой ткани. При толщине подкожной жировой ткани, превышающей 30 мм, ясная зона трансформации фиксируется на глубине 15-18 мм от шкуры (рис. 3). Образцы из среднего слоя подкожного жира имеют промежуточный ЖК состав по сравнению с внутренним и верхним слоями.

Изучение вертикальных профилей жирных кислот 20 особей байкальской нерпы, позволяющее выявить отчетливые переходные зоны ЖК состава, подтверждают гипотезу о стратификации жировой ткани водных млекопитающих на несколько функциональных слоев.

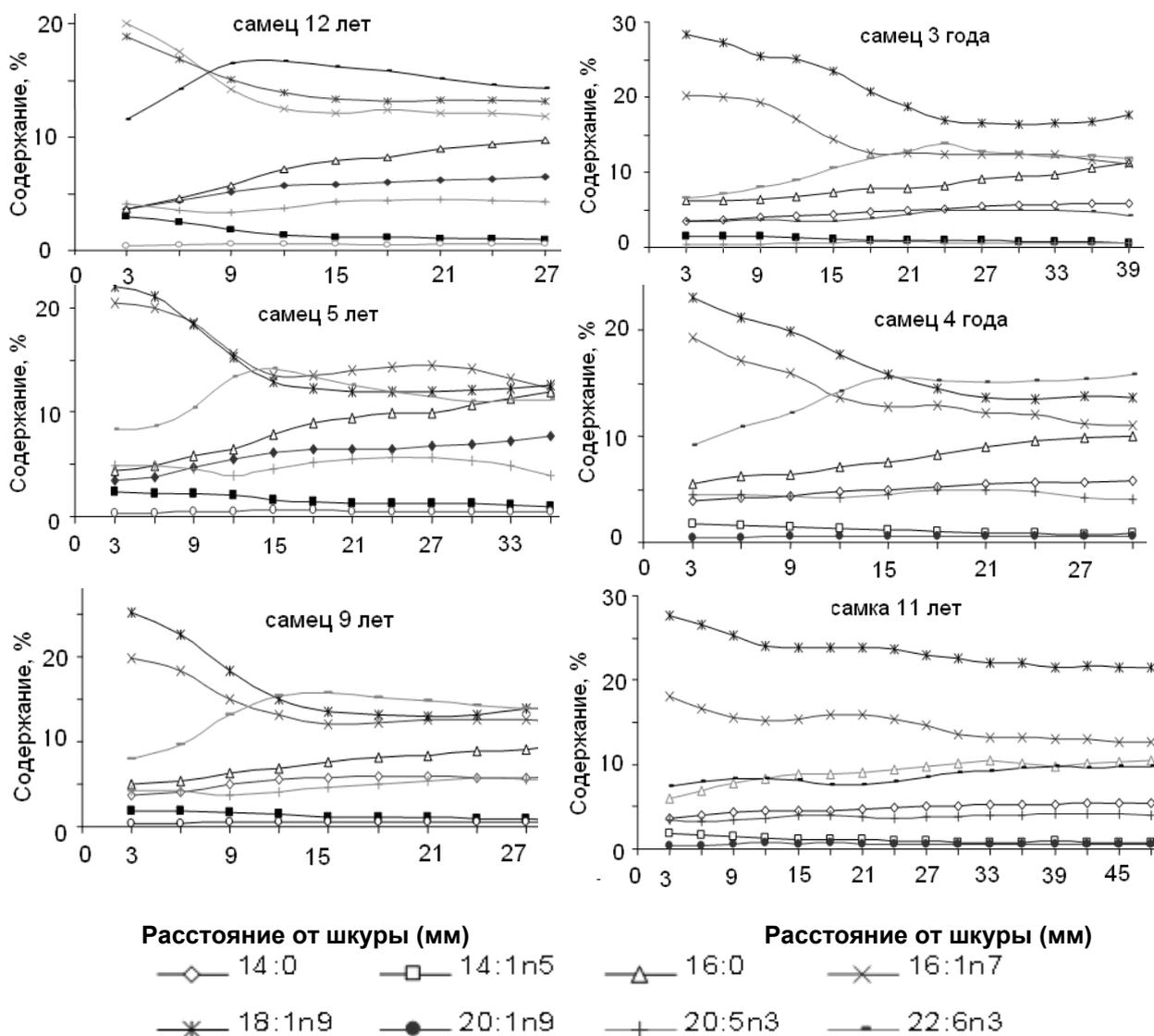


Рис. 3. Вертикальные профили для 14:0, 16:0, 14:1n5, 16:1n7, 18:1n9, 20:1n9, 20:5n3 и 22:6n3 кислот в жире 6-ти различных особей байкальской нерпы.

Выявив значительные систематические послынные различия жирнокислотного состава, можно сделать вывод о том, что на формирование внутреннего слоя влияет пищевая база, а ЖК состав внешнего слоя не подвержен влиянию пищевого или репродуктивного статуса животного и является результатом эволюционных механизмов приспособления организма к условиям окружающей среды.

Жирнокислотный состав жира байкальской нерпы различного возраста и пола

Наряду с распределением ЖК в подкожной жировой ткани представляет интерес сравнительный анализ ЖК состава подкожного жира особей разного пола, который выявил незначительные различия как во внутреннем, так и в верхнем слоях (см. рис. 3).

Обнаружено, что жирнокислотный состав подкожного жира щенков байкальской нерпы (1 мес.) отличен от состава жира взрослых

животных (рис. 4).

РС-график демонстрирует явные различия состава как в ряду «щенки нерпы – взрослые животные» (по первой принципиальной компоненте), так и различия между внутренним и верхним слоями (по второй принципиальной компоненте), при этом послынные различия жирнокислотного состава прослеживаются более полно. В составе жиров щенков наблюдаются более высокие относительные концентрации 18:1n9 и 18:1n7 и низкие концентрации всех n6 и n3 ПНЖК (табл. 1, рис. 1). Жирнокислотный состав подкожного жира эмбрионов и щенков байкальской нерпы отличается от состава подкожного жира взрослых особей более низким содержанием ПНЖК, короткоцепочечных НЖК и МНЖК (табл. 1, рис. 1). При этом указанные различия проявлялись в наибольшей степени у эмбрионов, нежели у щенков нерпы. Подобные закономерности были обнаружены в под-

кожной жировой ткани новорожденных и взрослых тюленей *Cystophora cristata* [28] и новорожденных и взрослых особей белых китов *Delphinapterus leucas* [29]. Предполагается, что ПНЖК из жировой ткани самок тюленей, например, *Phoca vitulina*, трансформируются в организм эмбрионов без изменений [28], и эти ПНЖК в основном используются для построения внутренних органов и тканей растущих эмбрионов и потому запасаются в подкожной жировой

ткани в меньшей степени. Эндогенная продукция НЖК и МНЖК (которая происходит в раннем возрасте, вследствие необходимости быстрого запаса жира и таким образом формирования необходимой защиты) также может вносить вклад в различие состава подкожного жира эмбрионов, щенков и взрослых особей. Высокие уровни НЖК в жире эмбрионов могут являться следствием стабильных высоких температур, при которых они развиваются.

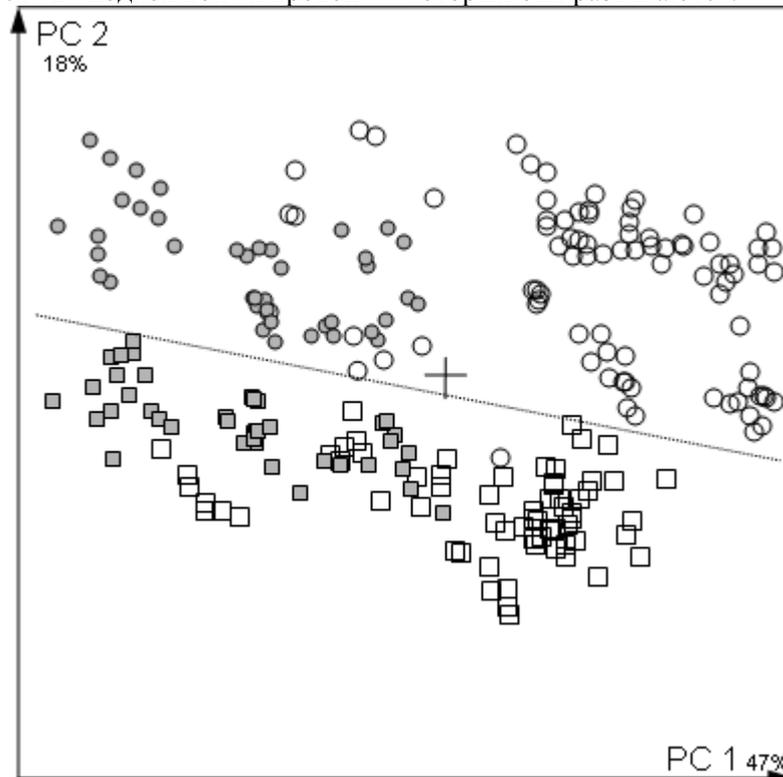


Рис. 4. График метода главных компонент образцов жира байкальской нерпы разного возраста: круг – образцы внутреннего слоя, квадрат – образцы верхнего слоя, темные фигуры – образцы щенков нерпы, светлые – взрослые животные.

ЖК состав подкожного жира эмбрионов имеет 2 специфические особенности: 1) содержание 16:1n9 кислоты (положение двойной связи которой указывает на то, что она является результатом пероксисомального укорачивания цепи) выше по сравнению с жирами щенков и взрослых нерп. Таким образом, в эмбрионах происходит пероксисомальное укорачивание цепи кислот для регуляции физико-химических свойств липидов; 2) в подкожной жировой ткани эмбрионов наблюдаются более высокие концентрации 20:1n11 кислоты. В случае байкальской нерпы этот факт не может быть объяснен укорачиванием цепи 22:1n11 кислоты, так как содержание данной кислоты очень мало и в подкожном жире и в основных пищевых объектах. Таким образом, появление 20:1n11 кислоты может объясняться удлинением цепи

кислоты 20:0 с последующим $\Delta 9$ -десатурированием. Это предположение обосновано также с учетом того, что процессы удлинения цепи могут протекать более активно в условиях высоких температур, в которых находятся эмбрионы, чем при низких температурах окружающей среды, воздействующих на подкожную жировую ткань взрослых животных.

С возрастом ЖК состав подкожного жира щенков постепенно достигает такового жировой ткани взрослых животных. Было показано, что эти изменения от новорожденных к взрослым соответствуют лактационному периоду. Так, для щенков хохлача изменения происходят в течение очень короткого лактационного периода – 4 дня [28], тогда как детеныши белого кита (лактационный период – более года) достигают

состава подкожного жира, который близок к составу жира их матери, через 1 год [29]. Различия, выявленные в жирнокислотном составе жиров взрослых особей и щенков байкальской нерпы, обусловлены тем, что продолжительность лактационного периода байкальской нерпы составляет 45-75 дней (в зависимости от ледовой ситуации) [30], а возраст исследованных в настоящей работе щенков байкальской нерпы составлял 20-30 дней.

Таким образом, представленный сравнительный анализ выявил систематические различия между образцами жира байкальской нерпы и морских тюленей, а также между объектами их питания. Необходимо также отметить, что и пресноводные, и морские тюлени имеют различный ЖК состав во внутреннем и внешнем слое подкожного жира, при этом ЖК состав внутреннего слоя более близок к таковому объектов питания,

чем ЖК состав внешнего слоя.

Выявлены послойные различия жирнокислотного состава подкожной жировой ткани, которые свидетельствуют о влиянии на его формирование жирнокислотного состава объектов питания, температуры окружающей среды, наряду с процессами запаса, мобилизации и биосинтеза липидов.

Поскольку жирнокислотный состав липидов жировой ткани морских и пресноводных тюленей является биоиндикаторной характеристикой, отражающей здоровье популяции в различных условиях обитания, полученные результаты рекомендуются к использованию при разработке принципов экологически приемлемого управления ресурсным потенциалом оз. Байкал в целях обеспечения устойчивого развития уникальной экосистемы озера.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ р_Сибирь № 08-05-98029.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Walton, M. Use of blubber fatty acid profiles to detect inter-annual variations in the diet of grey seals *Halichoerus grypus* / M. Walton, P. Pomeroy // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 2003. – Vol. 248. – P. 257–266.
2. Quantitative fatty acid signature analysis: a new method of estimating predator diets / S.J. Iverson, C. Field, W. Don Bowen, W. Blanchard // Ecol. Monographs. – 2004. – Vol. 74. – P. 211–235.
3. Fatty acid composition in blubber, heart and brain from phocid seals / B. Fredheim, S. Holen, K.I. Ugland, O. Grahl-Nielsen // In: A.S. Blix, L. Wallie, I. Ulltang (eds). Whales, seals, fish and man. – Elsevier, Amsterdam, 1995. – P. 153–168.
4. Distinguishing between populations of fresh- and salt-water harbor seals (*Phoca vitulina*) using stable-isotope ratios and fatty acid profiles / R.J. Smith, K.A. Hobson, H.N. Koopman, D.M. Lavigne // Can. J. Fish Aquat. Sci. – 1996. – Vol. 53. – P. 272–279.
5. Durnford, E. Comparison of FA compositions of selected tissues of phocid seals of eastern Canada using one-way and multivariate techniques / E. Durnford, F. Shahidi // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2002. – Vol. 79. – P. 1095–1102.
6. Bang, H.O. Composition of food consumed by Greenland Eskimos / H.O. Bang, J. Dyerberg // Acta Med. Scand. – 1976. – Vol. 200. – P. 69–73.
7. Shahidi, F. Seal blubber oil: a novel source of ω 3 fatty acids / F. Shahidi, P.K. Wanasundara, U.N. Wanasundara // J. Food Lipids. – 1996. – Vol. 3. – P. 293–306.
8. Петров, Е.А. Половозрастная структура, воспроизводство и численность популяции байкальской нерпы / Е.А. Петров // Морские млекопитающие Голарктики: тез. докл. междунар. конф. – Иркутск, 2000. – С. 314–317.
9. Sasaki, H. The origin and genetic relationship of the Baikal Seal, *Phoca sibirica*, by restriction analysis of mitochondrial DNA / H. Sasaki, K.-I. Numachi, M. Grachec // Zool. Sci. – 2003. – Vol. 20. – P. 1417–1422.
10. Актуальные проблемы фармации / А.И. Демченко, Г.А. Заварзина, В.В. Лаврентьева, А.А. Усов. – Новосибирск : Наука, 1982. – 156 с.
11. Пестерева, О.В. Теоретическое обоснование и практические рекомендации использования жира нерпы на пищевые цели / О.В. Пестерева. – Улан-Удэ : ВСГТУ, 1995. – 46 с.
12. Kakela, R. Fatty acid composition in liver and blubber of the Saimaa ringed seal (*Phoca hispida saimensis*) compared with that of the ringed seal (*Phoca hispida botnica*) and grey seal (*Halichoerus grypus*) from the Baltic / R. Kakela, H. Hyvarinen, P. Vainiotalo // Comp. Biochem. Physiol. – 1993. – Vol. 105 B. – P. 553–565.

13. Kakela, R. Site-specific fatty acid composition in adipose tissue of several northern aquatic and terrestrial mammals / R. Kakela, H. Hyvarinen // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1996. – Vol. 115 B. – P. 501–514.
14. Kakela, R. Composition of polyunsaturated fatty acids in the liver of freshwater and marine ringed seals (*Phoca hispida* ssp.) differs largely due to the diet of the seals / R. Kakela, H. Hyvarinen, // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1998. – Vol. 120 B. – P. 231–237.
15. Grahl-Nielsen, O. Variation in the fatty acid profiles of marine animals caused by environmental and developmental changes / O. Grahl-Nielsen, T. Barnung // *Mar. Environ. Res.* – 1985. – Vol. 17. – P. 218–222
16. Kvalheim, O.M. A general-purpose program for multivariate data analysis / O.M. Kvalheim, T.V. Karstang // *Chemom Intell. Lab. Syst.* – 1987. – Vol. 2. – P. 235–237.
17. Отто, М. Современные методы аналитической химии в 2-х т. Т. 2. / М. Отто. – М. : Техносфера, 2004. – 288 с.
18. Miyazaki, M. Role of stearoyl-coenzyme A desaturase in lipid metabolism / M. Miyazaki, J.M. Ntambi // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2003. – Vol. 68. – P. 113–121.
19. Holman, R.T. Control of polyunsaturated acids in tissue lipids / R.T. Holman // *J. Am. Coll. Nutr.* – 1986. – Vol. 5. – P. 183–211.
20. Morris, R.J. Absence of wax esters in pelagic Lake Baikal Fauna / R.J. Morris // *Lipids.* – 1983. – Vol. 18. – P. 149–150.
21. Henderson, R.J. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish / R.J. Henderson, D.R. Tocher // *Prog. Lipid Res.* – 1987. – Vol. 26 – P. 281–347.
22. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples / S.K. Hooker, S.J. Iverson, P. Ostrom, S.C. Smith // *Can. J. Zool.* – 2001. – Vol. 19. – P. 1442–1454.
23. Koopman, H.N. The structure and function of the blubber of odontocetes / H.N. Koopman // Nicholas School of the Environment, Duke University, NC, 2001. – 408 p.
24. Koopman, H.N. Stratification and age-related differences in blubber fatty acids of the male harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) / H.N. Koopman, S.J. Iverson, D.E. Gaskin // *J. Comp. Physiol.* – 1996. – Vol. 165 B. – P. 628–639.
25. Olsen, E. Blubber fatty acids of minke whales: stratification, population identification and relation to diet / E. Olsen, O. Grahl-Nielsen // *Mar. Biol.* – 2003. – Vol. 142 – P. 13–24.
26. Diet of harbour seals (*Phoca vitulina*) at Prins Karls Forland, Svalbard / S.M. Andersen, C. Lydersen, O. Grahl-Nielsen, K.M. Kovacs // *Can. J. Zool.* – 2004. – Vol. 82. – P. 1230–1245.
27. Stratification, composition and function of marine mammal blubber: the ecology of fatty acid in marine mammals / U. Strandberg, A. Kakela, C. Lydersen, K.M. Kovacs, O. Grahl-Nielsen, H. Hyvarinen, R. Kakela // *Physiol. and Biochem. Zool.* – 2008. – Vol. 81, No 4. – P. 473–485.
28. Prenatal and postnatal transfer of fatty acids from mother to pup in the hooded seal / S.J. Iverson, O.T. Oftedal, W.D. Bowen, D.J. Boness, J. Sampugna // *J. Comp. Physiol.* – 1995. – Vol. 165 B. – P. 1–12.
29. Transfer of fatty acids from mothers to their calves during lactation in white whales (*Delphinapterus leucas*) / A. Birkeland, K.M. Kovacs, C. Lydersen, O. Grahl-Nielsen // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 2005. – Vol. 298. – P. 287–294.
30. Петров, Е.А. Современное состояние популяции байкальской нерпы (*Pusa sibirica*): питание и упитанность / Е.А. Петров, Л.И. Егорова // *Зоол. журн.* – 1998. – Т. 77, № 5. – С. 593–600.