

На правах рукописи



Васильева Ольга Борисовна

**ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ
РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ *PARASALMO MYKISS* W. В ГОДОВОМ
ЦИКЛЕ**

Специальность 03.00.04 - биохимия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Петрозаводск - 2004

Работа выполнена в лаборатории экологической биохимии
Института биологии Карельского научного центра
Российской Академии Наук

- Научные руководители: доктор биологических наук, профессор
Сидоров Виктор Сергеевич
доктор биологических наук
Высоцкая Римма Ульяновна
- Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Шатуновский Михаил Ильич
кандидат биологических наук, доцент
Судакова Надежда Михайловна
- Ведущая организация: Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН

Защита состоится 17 июня 2004 года в 14 часов на заседании диссертационного совета КМ 212.087.01 при Карельском Государственном педагогическом университете по адресу: 185035 Республика Карелия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17, ауд. 113 главного корпуса.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельского государственного педагогического университета.

Автореферат разослан " 16 " мая 2004 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета



Малкиель А.И.

Актуальность темы. Исследование состава и обмена липидов, выполняющих в живых организмах структурные, запасные, регуляторные и другие функции, выявило их значительную экологическую вариабельность у представителей разных таксонов (Сидоров и др., 1994). Значительный интерес представляет изучение различных аспектов липидного обмена у рыб, поскольку данная группа низших позвоночных животных, выделяющаяся по видовому разнообразию и условиям обитания, имеет, в отличие от млекопитающих, ряд особенностей в физиолого-биохимических адаптациях на уровне липидов (Масленикова, 1978; Гершанович и др., 1991; Palmer, Ryman, 1972; Nagayama, Oshima, 1974; Cowey, Sargent, 1979; Watanabe, 1982). Одна из отличительных особенностей метаболизма липидов рыб заключается в значительной амплитуде состава и интенсивности накопления липидов в организме, наступающих как в результате эндогенных изменений, так и влияния условий внешней среды, что наиболее отчетливо проявляется в годовом цикле. На актуальность подобного рода исследований указывается в многочисленных работах отечественных и иностранных исследователей (Шульман, 1972; Хочачка, Сомеро, 1977; Шатуновский, 1980; Крепе, 1981; Сидоров, 1983; Love, 1970; Muller, 1979; Shulman, Love, 1999).

Эколого-физиологические особенности липидного статуса рыб, связанные прежде всего с проблемами годовых и жизненных циклов, возрастной изменчивости, половых особенностей и адаптации к различным факторам зависят от соотношения липолиза и липогенеза и в значительной степени определяются системой транспорта липидов.

Уникальной транспортной формой липидов в организме животных и человека являются липопротеины (ЛП) - сложные надмолекулярные соединения, представляющие собой комплекс белков и липидов. ЛП подразделяются на отдельные фракции: хиломикроны, липопротеины низкой (ЛПНП), очень низкой (ЛПОНП) и высокой (ЛПВП) плотности, отличающиеся составом входящих в них белков и липидов и функциями, осуществляемыми ими в организме. Данные по структуре и функциям липопротеинов получены в основном на традиционных лабораторных животных и человеке, что связано, прежде всего, с ведущей ролью ЛП в патогенезе ряда заболеваний (Формазюк, 1985; Холодова, Чаяло, 1990; Климов, Никульчива, 1999; Mills, Taulaur, 1971; Mills, 1976; Barbagallo et al., 2002; Frenoux et al., 2003 и многие другие). Недостаточно освещен в литературе вопрос о ЛП низших позвоночных, в частности рыб (Chapman, Forgez, 1985; Babin, Vernier, 1989; MacFarlane et al., 1990; Babin, 1992).

Несмотря на актуальность исследований физиолого-экологических особенностей липидного статуса рыб, работы по исследованию липопротеинов в данном аспекте крайне малочисленны (Fremont, Marion, 1982; Black, Skinner, 1986; MacFarlane et al., 1990; Luizi et al., 1997; Norton et al., 2001), причем они касаются, в основном, их белковой компоненты — апобелков (Bohemen et al., 1980; Babin, 1987a; Babin, 1987b; Poupard et al., 2000). Липидный состав различных фракций ЛП изучен лишь фрагментарно.



Исходя из выше изложенного, представлялось интересным исследовать особенности годовой динамики липидного состава липопротеинов радужной форели, являющейся ценным объектом промышленного разведения и традиционной моделью изучения метаболизма липидов. Для более целостного представления о влиянии сезонности и генеративного обмена, возрастных и половых особенностей на липиды сыворотки крови были дополнительно проанализированы изменения липидного состава некоторых органов (печень, мышцы и гонады).

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является изучение изменений липидного состава липопротеинов сыворотки крови радужной форели в течение годового цикла. В соответствии с этим были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать распределение липидных компонентов во фракциях ЛП у исследуемых групп рыб, отличающихся возрастом и полом.
2. Исследовать влияние репродуктивного цикла и сезонных изменений на липидный состав ЛП и органов радужной форели.
3. Определить половые различия в липидном составе ЛП и органов радужной форели.
4. Изучить возрастную динамику липидного состава ЛП и органов у самок радужной форели.

Научная новизна. Впервые исследован липидный состав основных фракций липопротеинов сыворотки крови (ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП) радужной форели и прослежена его динамика на протяжении годового цикла. Получены новые результаты, дополняющие существующую информацию об изменении общих липидов и их отдельных классов в сыворотке крови и ЛП рыб в ходе репродуктивного цикла. Впервые изучены половые и возрастные особенности липидного состава ЛП радужной форели.

Практическое значение работы. Данные по составу липидов ЛП и органов являются качественными характеристиками радужной форели как ценного объекта аквакультуры и могут быть рекомендованы для решения практических задач рыбоводства. Полученные результаты и сделанные на их основании выводы могут быть использованы в качестве физиолого-биохимических индикаторов для оценки состояния рыб в различные периоды годового цикла и служить основой для решения задач экологического мониторинга. Материалы диссертации используются в учебном процессе при чтении лекционных курсов «Экологическая биохимия» и «Биохимия животных» для студентов ПетрГУ и КГПУ.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы доложены на: Международной молодежной научной школе «Биоиндикация-98» (Петрозаводск, 1998), Международной конференции и выездной научной сессии отделения общей биологии РАН «Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии (Карельский НЦ, Петрозаводск, 1999), II (XXV) Международной конференции «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Ев-

ропейского Севера» Карельский НЦ (Петрозаводск, 1999), Международной конференции «Атлантический лосось: биология, охрана и воспроизводство» (Карельский НЦ, Петрозаводск, 2000), Международной конференции «Биоразнообразии европейского севера» (Карельский НЦ, Петрозаводск, 2001), 10⁰¹ Молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии» УрО Коми НЦ РАН (Сыктывкар, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из которых 4 статьи и 16 тезисов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 144 страницах машинописного текста, содержит 17 таблиц и 14 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, методической части, результатов исследования (4 главы), обсуждения результатов, выводов и приложения (9 таблиц). Список цитируемой литературы включает 218 наименований из них 104 иностранных.

Благодарности. Выражаю свою глубокую и искреннюю признательность своим учителям и наставникам, научному руководителю д.б.н., профессору В.С. Сидорову и к.б.н. Е.И. Лизенко. Автор от всей души признателен научному руководителю д.б.н. Р.У. Высоцкой за всестороннюю помощь, ценные советы и рекомендации. Благодарю всех сотрудников лаборатории экологической биохимии за постоянную поддержку.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы рассмотрены общие представления о липидном составе органов и тканей рыб в годовом цикле. Отражены современные представления о структуре и функциях липопротеинов рыб. Обобщены уже имеющиеся в литературе данные об особенностях липидного состава липопротеинов в зависимости от сезона, возраста и пола у рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служила радужная форель *Parasalmo mykiss* Walbaum, выращенная в рыбноводном хозяйстве Кондопожского района (губа Онежского озера). Для изучения половых и возрастных особенностей липидного состава в течение годового цикла были выбраны следующие группы рыб: двухлетние ювенильные самки, трех- и четырехлетние половозрелые самки и трехлетние половозрелые самцы.

В течение 1998-2000 гг. отбор проб осуществляли в периоды: май, июнь, август (нагул); сентябрь, ноябрь, январь (зимовка); март; апрель (нерест). Был проведен анализ липидного состава в сыворотке крови, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП, в печени, белых скелетных мышцах и гонадах.

Кровь (10-15 мл) отбирали из хвостовой вены форели, затем из сыворотки, полученной при отстаивании, выделяли липопротеины (Lewis et al., 1982; Регеранд и др., 1990). ЛПНП осаждали гепарином и серноокислым кобальтом

с последующим центрифугированием в рефрижераторной центрифуге К-24 при 3,5 тыс. об/мин в течение 1 часа. Из полученного супернатанта выделяли ЛПОНП при добавлении декстрансульфата с последующим центрифугированием при той же скорости в течение 30 мин. После осаждения ЛПНП и ЛПОНП в надосадочной жидкости оставалась в основном фракция ЛПВП, в которую входила и фракция ЛПОВП.

Для анализа липидов брали сборные пробы сыворотки крови, ЛП и органов и фиксировали смесью хлороформа с метанолом. Липиды экстрагировали по методу Фолча (Folch et al., 1957). Разделение общих липидов на фракции проводили методом одномерной тонкослойной хроматографии в системе растворителей: петролейный эфир - серный эфир - уксусная кислота (90:10:1, по объему). Количественное определение общих фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина проводили гидроксаматным методом (Сидоров и др., 1972). Холестерин определяли по реакции с окрашивающим реагентом (Engelbrecht et al., 1974). Фосфолипиды разделяли с помощью одномерной тонкослойной хроматографии в системе растворителей: хлороформ — метанол — вода (65:25:4, по объему). Содержание индивидуальных фосфолипидов определяли по фосфору (Rouser et al., 1966).

Результаты проведенных экспериментов обработаны с применением общепринятых статистических методов (Матюшичев, 1990), достоверность различий оценивали используя непараметрический критерий Вилкоксона — Манна — Уитни (Гублер, Генкин, 1969). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Глава 1. Липидный состав липопротеинов, сыворотки крови и органов у трехлетних самок радужной форели в годовом цикле.

1.1. Характер изменений различных групп липидов в сыворотке крови.

В процессе годового цикла происходило постепенное увеличение уровня общих липидов (ОЛ), достигающее своего максимума в апреле ($2330 \pm 116,4$ мг/дл), к моменту нереста (рис. 1).

Распределение отдельных групп липидов было следующим: основная часть приходится на фосфолипиды (ФЛ) — до 60% от ОЛ. Второй в количественном отношении фракцией являлись триацилглицерины (ТАГ) (около 20% от ОЛ). Остатную часть ОЛ составляли холестерин (ХС) и его эфиры (ЭХС) (рис. 2).

Годовая динамика отдельных групп липидов была аналогична изменению общих липидов. Самые высокие значения были в апреле (нерест) и составляли для ФЛ - $1347,0 \pm 96,1$ мг/дл, ТАГ - $522,7 \pm 38,6$ мг/дл, ХС - $132,1 \pm 8,4$ мг/дл, ЭХС - $327,7 \pm 26,2$ мг/дл. Уровни ФЛ и ХС с мая по апрель постепенно возрастали, причем если концентрация ФЛ увеличилась на 407,5 мг/дл, то содержание ХС лишь на 27,4 мг/дл. В сезонных изменениях ТАГ и ЭХС, помимо максимума в апреле, отмечены небольшие пики: в сентябре для ТАГ ($442,6 \pm 32,8$ мг/дл) и в августе для ЭХС ($250,1 \pm 16,1$ мг/дл).

Анализ распределения отдельных групп ФЛ свидетельствует о значительном преобладании фосфатидилхолина (ФХ), доля которого составляла около 80% от общих ФЛ; 10% приходилось на фосфатидилэтанолмин (ФЭА), по 5% на сфингомиелин (СФМ) и фосфатидилсерин (ФС), около 3% на лизофосфатидилхолин (ЛФХ), самым незначительным компонентом являлась фосфатидная кислота (ФК).

В течение годового цикла индекс Дьерди, отражающий соотношение структурных липидов (ХС/ФЛ), оставался постоянным (0,1), так же как и соотношения запасных липидов (ТАГ+ЭХС) к структурным (ФЛ+ХС) (0,5-0,6). Динамика соотношений некоторых групп фосфолипидов менее стабильна. С мая по сентябрь происходило постепенное снижение ФХ/ФЭА (11,3-9,3), достигающее минимума в ноябре-январе (8,8), затем, к апрелю уровень ФХ/ФЭА увеличивался до 11,1. Данные изменения обусловлены, в ОСНОВНОМ, динамикой ФЭА, концентрация которого была максимальной в зимний период (105,1±8,4). Изменения соотношения ФХ/СФМ в течение годового цикла, в отличие от ФХ/ФЭА, носили противоположный характер.

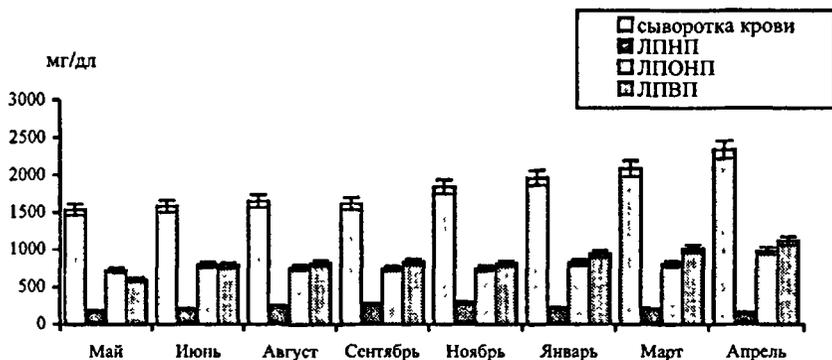


Рис. 1. Содержание общих липидов в липопротеинах и сыворотке крови трехлетних (половозрелых) самок радужной форели в годовом цикле.

1.2. Характер изменений различных групп липидов в ЛПНП.

Липидный состав ЛПНП в количественном отношении является самым низким по сравнению с другими фракциями ЛП (рис. 1). С мая по сентябрь происходило постепенное увеличение уровня ОЛ с максимумом в сентябре (295,0±18,4 мг/дл). К нересту концентрация ОЛ снижалась и становилась минимальной в апреле (161,0±12,6 мг/дл). Таким образом, сезонные изменения ОЛ в ЛПНП кардинальным образом отличаются от динамики ОЛ в сыворотке крови (рис. 1).

Самой значительной в ЛПНП была концентрация ФЛ. Распределение отдельных групп липидов в ЛПНП свидетельствует о стабильном их соотношении на протяжении всего годового цикла. А именно, коэффициент ХС/ФЛ составлял 0,4 в течение всего сезона, и его увеличение по сравнению с индексом Дьерди в сыворотке крови (0,1) обусловлено достаточно

высоким уровнем холестерина и отражает основную функцию ЛПНП: транспорт ХС к органам и тканям.

Сходная с ОЛ сезонная динамика прослеживалась для всех групп липидов (рис. 2).

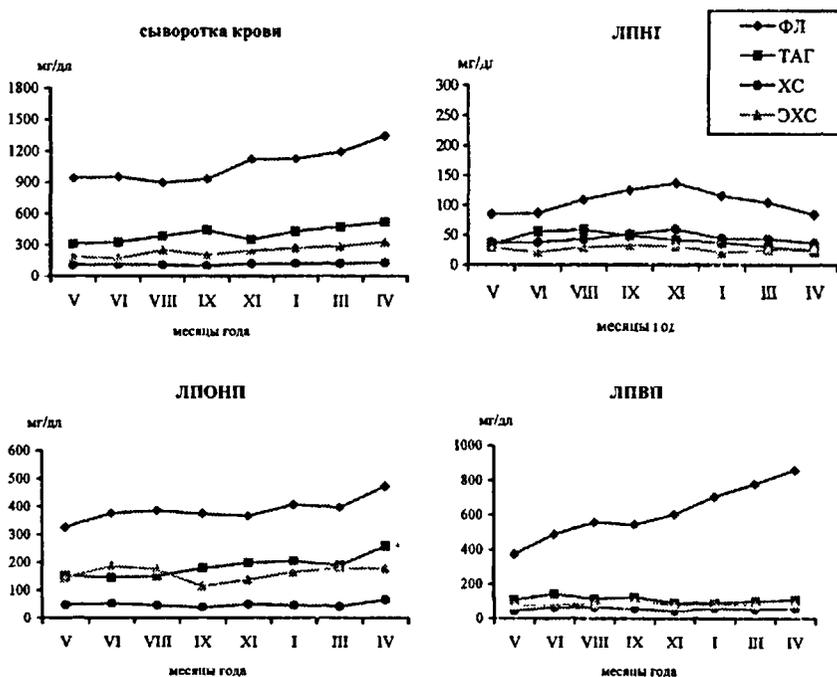


Рис. 2. Липидный состав липопротеинов и сыворотки крови трехлетних самок радужной форели в годовом цикле.

1.3. Характер изменений различных групп липидов в ЛПОНП.

Динамика ОЛ в ЛПОНП соответствовала изменению состава общих липидов в сыворотке крови (рис. 1).

Отдельные фракции липидов распределялись следующим образом: доминирующей группой являлись ФЛ, доля ТАГ составляла примерно 25%, ХС - 4-7%, ЭХС до 25% (рис. 2). Изменение индекса Дьерди (0,1), а также соотношения запасных и структурных липидов (0,8) на протяжении всего годового цикла оставались достаточно стабильными.

Распределение индивидуальных фосфолипидов в ЛПОНП соответствовало аналогичным процентным соотношениям в ЛПНП и в сыворотке крови.

С мая по апрель происходило постепенное возрастание количества ТАГ, достигающее максимума к нересту. Содержание ХС в годовом цикле снижалось к сентябрю ($37,8 \pm 3,1$ мг/дл), затем его концентрация

увеличивалось, достигая максимума к апрелю ($66,2 \pm 5,4$ мг/дл). В сезонной динамике ЭХС прослеживалось два пика: к началу эндогенного вителлогенеза ($186,2 \pm 8,4$ мг/дл) и в преднерестовый период ($180,0 \pm 7,9$ мг/дл) (рис. 2).

1.4. Характер изменений различных групп липидов в ЛПВИ.

Концентрация ОЛ в ЛПВП несколько превышала уровень ОЛ в ЛПОНП и наиболее выраженные изменения ОЛ ($P < 0,05$) были характерны для периода экзогенного вителлогенеза (рис. 1). Изменения ОЛ в ЛПВП были аналогичны динамике концентрации общих липидов в ЛПОНП и в сыворотке крови.

Самой значительной группой липидов в ЛПВП были ФЛ ($370,0 - 860,0$ мг/дл), что в 4-6 раз превышало таковое в ЛПНП и в 1,5-2 раза в ЛПОНП (рис. 2). Таким образом, основное количество всех сывороточных ФЛ сосредоточено в ЛПВП. Изменение уровня ФЛ соответствовало сезонной динамике ОЛ. Распределение индивидуальных фосфолипидов в ЛПВП не отличалось от процентных соотношений отдельных групп ФЛ в ЛПНП и ЛПОНП.

При анализе концентраций ХС и ЭХС не обнаружено четко выраженной сезонной динамики. Следует отметить, что наибольшие значения данных групп липидов были характерны для периода эндогенного вителлогенеза — для ХС в августе ($64,4 \pm 5,2$ мг/дл) и для ЭХС в сентябре ($96,8 \pm 8,3$ мг/дл), к нересту их количество незначительно возрастало (рис. 2).

1.5. Характер изменений различных групп липидов в органах.

1.5.1. Печень.

Печень является основным органом метаболизма липидов, в ней синтезируются основные фракции ЛП, в связи с чем, особенно важно проследить изменения липидного состава данного органа в годовом цикле.

Сезонные изменения ОЛ определялись, в основном, динамикой уровня фосфолипидов, составляющих более 50% от общих липидов (табл. 1). Доминирующим фосфолипидом являлся ФХ (около 60% от общих ФЛ). ФЭА составлял около 20%, СФМ — 10%, 5% — ФС, минорными фракциями являлись ЛФХ и ФК. Динамика каждой из групп фосфолипидов отражала таковую ФЛ, соотношения индивидуальных ФЛ были относительно стабильными на протяжении всего годового цикла.

ТАГ составляли вторую в количественном отношении группу липидов, сезонная динамика которых была аналогична вариабельности ФЛ, но имела значительно более выраженный характер. В отличие от ФЛ и ТАГ сезонная динамика ХС и его эфиров практически не выражена. Общий уровень составлял для ХС около 1,0% от сухой массы, а для ЭХС примерно 1,2% от сухой массы, лишь незначительно увеличиваясь в период нагула.

Таблица 1

**Содержание ОЛ в органах трехлетних самок радужной форели в годовом цикле,
в % от сухой массы**

	май	июнь	август	сентябрь	ноябрь	январь	март	апрель
печень	16,4±1,0	18,8*±0,9	19,7±1,6	21,6±1,4	18,2±1,6	15,4*±1,3	14,3±1,1	12,6*±0,7
мышцы	10,3±0,7	14,0*±1,2	16,5±1,4	12,6*±1,0	9,9*±0,6	8,7±0,6	8,5±0,7	7,5±0,8
яичники	14,0±1,2	16,8±1,4	17,0±1,6	18,1±1,7	19,2±1,6	20,8±1,7	25,3*±1,8	25,9±2,4

Примечание: * - различия достоверны при $p < 0,05$

1.5.2. Мышцы.

Значение сезонных исследований липидного состава мускулатуры очевидно, поскольку именно они являются одним из основных депо запасных липидов у форели, и зачастую именно динамика липидов мышц определяет основные колебания липидного статуса всего организма в годовом цикле.

В целом тенденция изменения уровня ОЛ в мышцах совпадала с динамикой ОЛ в печени (табл. 1).

Основным липидным компонентом мышц являлись ФЛ и ТАГ, составляющие 45-50% и 40% от общих липидов, соответственно. Сезонная динамика их концентраций была аналогичной изменению уровня ОЛ мышц и практически полностью совпадала с изменением ФЛ и ТАГ в печени. Не обнаружено сезонных изменений для концентраций ХС и ЭФХ, их уровень оставался относительно постоянным на протяжении всего годового цикла.

1.5.3. Яичники.

В отличие от сходных в целом сезонных изменений уровней ОЛ в печени и мышцах, годовая динамика липидного состава яичников имела ряд особенностей. С начала сезона (14,0±1,25% от сухой массы) до периода нереста (25,912,41% от сухой массы) в гонадах наблюдалось постепенное увеличение концентрации ОЛ, причем наиболее значительное на последних этапах оогенеза (табл. 1).

Обнаружены существенные различия и в соотношении отдельных липидных групп в составе яичников, по сравнению с мышцами и печенью. Так, практически на протяжении всего годового цикла на долю ФЛ приходилось около 30% от общих липидов, и лишь к нересту уровень ФЛ возрастает до 40%.

Напротив, ТАГ являлись доминирующей фракцией и составляли до 50% от ОЛ. В целом, сезонная динамика ФЛ и ТАГ имела сходство и определялась постепенным возрастанием уровня этих компонентов к апрелю (нерест).

Глава 2. Липидный состав липопротеинов и сыворотки крови у четырехлетних самок радужной форели в годовом цикле.

2.1. Характер изменений различных групп липидов в сыворотке крови.

Количество ОЛ в годовом незначительно превышало уровень ОЛ у трехлетних самок и в течение оогенеза происходило постепенное увеличение уровня ОЛ, наиболее выраженное в нагульный и преднерестовый периоды (рис. 3). Содержание отдельных групп липидов в течение годового цикла представлены на рис. 4, где показано, что существенных различий в сезонной динамике для половозрелых самок трех- и четырехлетнего возраста не обнаружено.

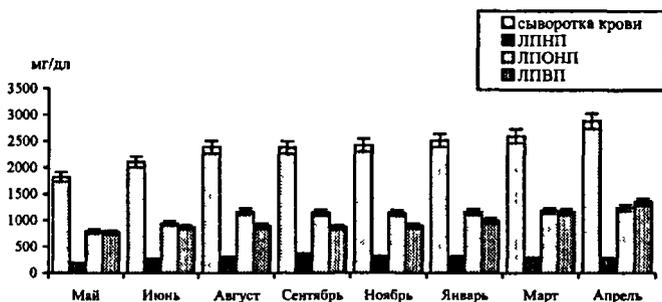


Рис. 3 Содержание общих липидов в липопротеинах и сыворотке крови четырехлетних (половозрелых) самок радужной форели в годовом цикле.

2.2. Характер изменений различных групп липидов в ЛПНП.

Как и у младшей возрастной группы, содержание ОЛ в ЛПНП у четырехлеток было самым низким по сравнению с другими фракциями липопротеинов и сезонные изменения полностью соответствовали динамике ОЛ у трехлетних самок (рис. 3).

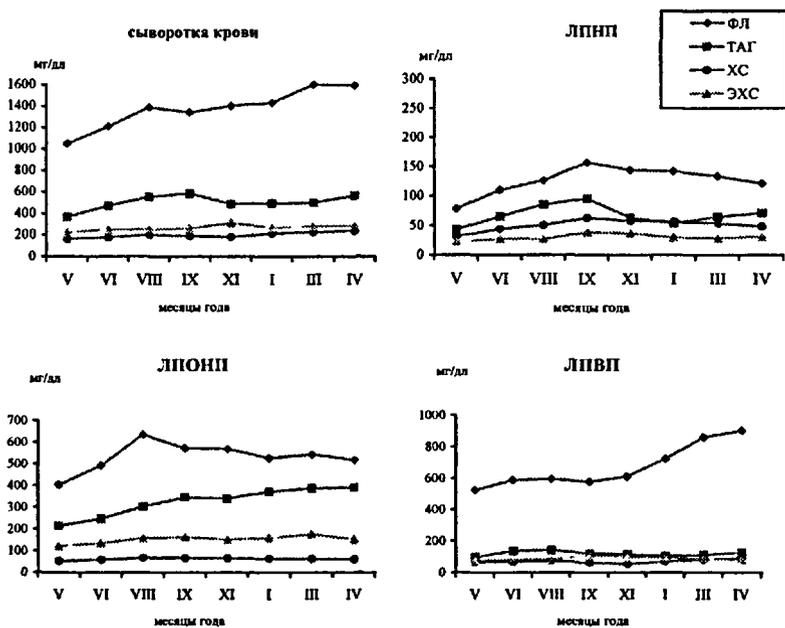


Рис. 4. Липидный состав липопротеинов и сыворотки крови четырехлетних самок радужной форели в годовом цикле.

В распределении основных групп липидов также не обнаружено возрастных особенностей. Стабильность соотношений липидных компонентов на протяжении годового цикла отражена и в индексах ХС/ФЛ (0,4) и ТАГ+ЭХС/ФЛ+ХС (около 0,6) (рис. 4).

Сезонная динамика отдельных липидных групп отражала изменение уровня ОЛ в процессе оогенеза. Превителлогенез и эндогенный вителлогенез характеризовался возрастанием содержания липидных компонентов. В сентябре был установлен максимум концентраций для ФЛ, ТАГ, ХС и ЭХС. В период экзогенного вителлогенеза происходило снижение концентраций ФЛ и ХС. Для ТАГ и ЭХС обнаружено незначительное увеличение концентраций к нересту (рис. 4).

2.3. Характер изменений различных групп липидов в ЛПОНП.

Содержание ОЛ в ЛПОНП у четырехлетних самок было примерно в 1,5 раза выше, чем у трехлетних. За период нагула уровень ОЛ увеличился до $1170,0 \pm 110,6$ мг/дл и затем, после небольшого спада, возрастал до максимума в апреле ($1247,0 \pm 112,6$ мг/дл) (рис. 3).

Доминирующей липидной группой в ЛПОНП являлись ФЛ, составляющие примерно 50% от ОЛ, на долю ТАГ приходилось 30%, ХС - чуть выше 5% и содержание ЭХС было около 15%. Коэффициент ХС/ФЛ на протяжении всего годового цикла оставался постоянным (0,1), а соотношение запасных липидов к структурным липидам с мая (0,6) по апрель (0,9) увеличилось за счет возрастания доли ТАГ и ЭХС.

Сезонная динамика концентраций структурных и запасных липидов, а также изменения соотношений ФХ/ФЭА и ФХ/СФМ в годовом цикле были аналогичны у трехлетних и четырехлетних самок.

2.4. Характер изменений различных групп липидов в ЛПВП.

Уровень ОЛ в ЛПВП у четырехлетних самок несколько превышал их концентрацию у трехлетних самок (рис. 3).

Распределение отдельных групп липидов в ЛПВП было следующим: доминирующей группой являлись ФЛ (от 65 до 75% от общих липидов), доля ТАГ составляла 15%, ХС - около 8%, содержание ЭХС - до 10%. Изменение индекса Дьерди (0,1) на протяжении всего годового цикла оставалось стабильным, а соотношение запасных и структурных липидов менялось и было 0,4 в период эндогенного вителлогенеза и 0,2 - во время экзогенного вителлогенеза.

Сезонные изменения структурных липидов были схожи и соответствовали динамике ОЛ. В годовой динамике ТАГ прослеживалось два пика: в августе ($142,1 \pm 13,8$ мг/дл) и в апреле ($128,9 \pm 11,6$ мг/дл). Сезонные изменения ЭХС определялись возрастанием их концентрации с мая ($78,1 - 1-6,2$ мг/дл) по сентябрь ($106,8 \pm 9,4$ мг/дл), а затем постепенным снижением к апрелю ($80,7 \pm 7,2$ мг/дл) (рис. 4).

Глава 3. Липидный состав липопротеинов, сыворотки крови и органов у двухлетних самок радужной форели в годовом цикле.

3.1. Характер изменений различных групп липидов в сыворотке крови.

В процессе годового цикла происходило постепенное увеличение уровня ОЛ, до максимума в апреле ($1496,0 \pm 138,4$ мг/дл). Самая низкая концентрация ОЛ была в мае ($1220,0 \pm 118,4$ мг/дл) (рис. 5). Таким образом, существенных различий (кроме количественного) в сезонной динамике ОЛ у ювенильных и половозрелых самок не обнаружено.

Распределение отдельных групп липидов в сыворотке крови свидетельствует о достаточно стабильном их соотношении на протяжении всего годового цикла (рис. 6). Так, соотношение запасных липидов к структурным липидам составляло около 0,6, а индекс Дьерди - ОД. Более высокое значение ХС/ФЛ у ювенильных самок обусловлено значительным уровнем ХС по сравнению с сывороткой крови половозрелых самок.

Самые низкие значения концентрации ФЛ обнаружены в начале сезона ($5973,8 \pm 52,4$ мг/дл), затем происходило постепенное возрастание их уровня к апрелю ($852,8 \pm 81,6$ мг/дл). На долю ФХ приходилось около 80% от общих ФЛ. Соотношение других групп ФЛ было следующим: ФЭА - 8%, СФМ - 5%, минорными фракциями являлись ФС, ЛФХ и ФК. Следует отметить, что изменение соотношений ФХ/ФЭА и ФХ/СФМ у ювенильных самок мало отличалось от динамики индивидуальных фосфолипидов в сыворотке крови половозрелых особей.

Изменение уровня ТАГ в годовом цикле характеризовалось возрастанием его концентрации с мая ($297,7 \pm 28,1$ мг/дл) по сентябрь ($332,831,4$ мг/дл) и затем снижением ($238,3 \pm 26,6$ мг/дл). При анализе уровня ХС не обнаружено четко выраженной динамики. В сезонном изменении ЭХС, помимо максимума в апреле ($224,4 \pm 21,6$ мг/дл), отмечен небольшой пик в июне ($168 \pm 14,4$ мг/дл) (рис. 6).

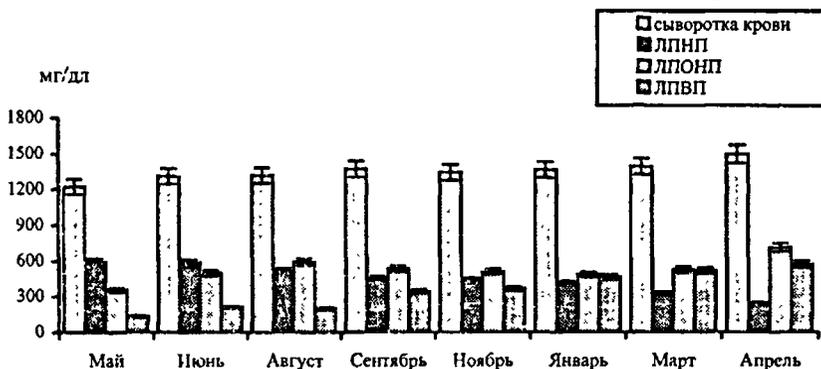


Рис. 5. Содержание общих липидов в липопротеинах и сыворотке крови двухлетних (ювенильных) самок радужной форели в годовом цикле.

3.2. Характер изменений различных групп липидов в ЛПНП.

Было обнаружено, что концентрация ОЛ в ЛПНП и ее динамика в годовом цикле кардинальным образом различается у ювенильных и половозрелых особей. У трех- и четырехлетних самок содержание липидов в данной фракции было самым низким, по сравнению с другими липопротеинами. Напротив, у ювенильных особей уровень ОЛ в ЛПНП был достаточно высоким и варьировал в пределах от 240,0 мг/дл до 600,0 мг/дл (рис. 5).

Как и в липидах в сыворотке крови самой значительной в ЛПНП была концентрация ФЛ (около 45% от ОЛ), доля ТАГ составляла примерно 25%, ХС - до 20 %, ЭХС - около 10%. Таким образом, соотношение липидных компонентов в ЛПНП было одинаковым для всех исследуемых возрастных групп, что подтверждается одинаковыми значениями ХС/ФЛ (0,4) и соотношением запасных липидов к структурным липидам (0,5).

Сезонная динамика всех групп липидов в ЛПНП была сходной с таковой у ОЛ (рис. 6).

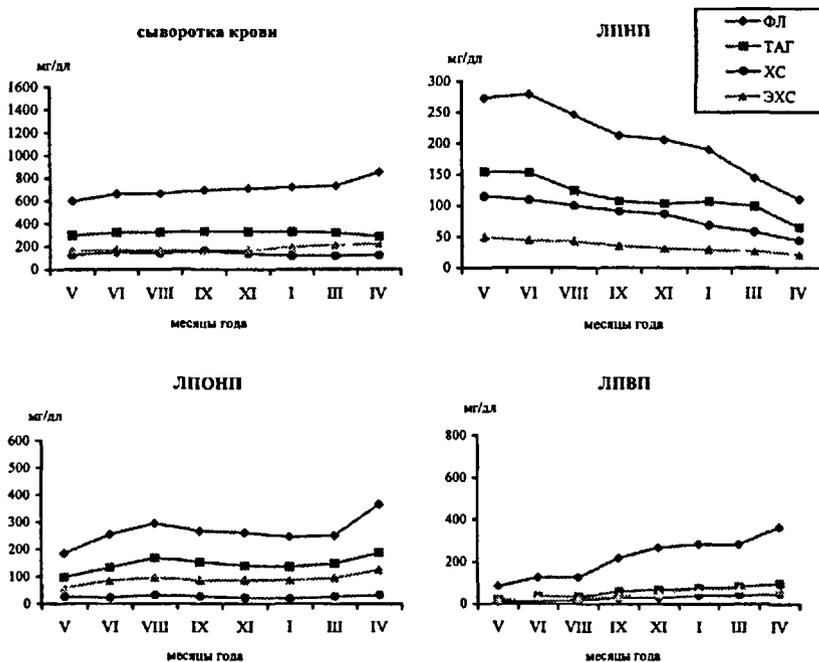


Рис 6 Липидный состав липопротеинов и сыворотки крови двухлетних самок радужной форели в годовом цикле.

В фосфолипидах доминирующей группой был ФХ (около 80% от общих ФЛ), 10% приходилось на ФЭА, около 5% на СФМ, минорными компонентами являлись ФС, ЛФХ и ФК. Изменения соотношений ФХ/ФЭА и ФХ/СФМ в годовом цикле у ювенильных и половозрелых самок были аналогичны.

3.3. Характер изменений различных групп липидов ЛПОНП.

В течение годового цикла содержание ОЛ в ЛПОНП было самым высоким по сравнению с другими фракциями липопротеинов у ювенильных самок.

Распределение липидных компонентов в ЛПОНП было одинаковым у всех исследуемых возрастных групп. Значение индекса Дьерди и соотношение запасных липидов к структурным липидам на протяжении всего годового цикла оставались стабильными.

Сезонная динамика всех липидных компонентов соответствовала изменению уровня ОЛ в годовом цикле (рис. 6).

3.4. Характер изменений различных групп липидов в ЛПВП.

Содержание ОЛ в ЛПВП у ювенильных самок было значительно ниже, чем в ЛПВП у половозрелых самок. До июня происходило возрастание уровня ОЛ и, после небольшого спада в августе ($202,0 \pm 18,6$ мг/дл), он значительно увеличивался к апрелю ($363,8 \pm 35,2$ мг/дл) (рис. 5).

Распределение отдельных групп липидов в ЛПВП у ювенильных самок несколько отличалось от их соотношения у половозрелых особей и составляло: ФЛ - около 60% от ОЛ, ТАГ - 17%, ХС - до 10% и ЭХС - 15%. Других отличий в распределении индивидуальных фосфолипидов и ХС в ЛПВП по сравнению с ЛПНП и ЛПОНП на протяжении всего годового цикла оставались достаточно стабильными (рис. 6).

3.5. Характер изменений различных групп липидов в органах.

3.5.1. Печень.

Содержание ОЛ в печени ювенильных самок было ниже концентрации липидов в печени трехлеток. Сезонная динамика ОЛ характеризовалась возрастанием их концентрации с мая ($9,1 \pm 0,82\%$ от сухой массы) по август ($12,4 \pm 1,16\%$ от сухой массы), с максимумом в апреле ($14,8 \pm 1,18\%$ от сухой массы) (табл. 2).

Доминирующей группой липидов, как и во всех других случаях, являлись фосфолипиды, составляющие более 50% от общих липидов. Вторую в количественном отношении группу липидов составляли ТАГ (3,0-5,3% от сухой массы). Сезонная динамика ФЛ и ТАГ определяла изменение содержания ОЛ в печени. В фосфолипидном составе преобладал ФХ (60% от общих ФЛ). Соотношение других групп ФЛ было следующим: ФЭА составлял 20%, СФМ - примерно 10%, около 5% приходилось на ФС, минорными фракциями являлись ЛФХ и ФК. Динамика каждой из групп фосфолипидов соответствовала общим ФЛ, и соотношения индивидуальных ФЛ были относительно стабильными на протяжении всего годового цикла.

В отличие от ФЛ и ТАГ изменение уровней ХС и его эфиров практически не выражено. Концентрация ХС варьировала в пределах 0,5-0,8% от сухой массы, а ЭХС - 0,8-1,0% от сухой массы, лишь незначительно увеличиваясь в период нагула и к апрелю.

Таблица 2

Содержание ОЛ в органах двухлетних самок радужной форели в годовом цикле, в % от сухой массы

	май	июнь	август	сентябрь	ноябрь	январь	март	апрель
печень	9,1±0,8	11,8*±0,9	12,4±1,2	12,1±1,0	12,3±1,1	12,8±1,2	13,6±1,1	14,7*±1,2
мышцы	8,6±0,7	9,2*±0,6	9,9±0,8	9,8±0,7	9,7±0,8	9,9±0,7	10,3±0,8	11,8*±0,9
яичники	9,2±0,8	9,2±0,7	9,2±0,9	9,6±0,8	9,8±0,6	11,6*±0,8	12,4±1,1	13,2±1,2

Примечание: * - различия достоверны при $p < 0,05$

3.5.2. Мышцы

Содержание ОЛ в белых скелетных мышцах ювенильных самок было значительно ниже, чем у трехлетних и изменение их уровня совпадало с динамикой ОЛ в печени (табл. 1,2).

Основным липидным компонентом мышц также были ФЛ, составляющие от 40 до 50% от ОЛ. В течение годового цикла не обнаружено четкой динамики ФЛ, их уровень варьировал в пределах 4,0-5,5% от сухой массы, и лишь с января постепенно увеличивался ($4,2 \pm 0,42\%$ от сухой массы), достигая максимума в апреле ($5,4 \pm 0,47\%$ от сухой массы; $P < 0,05$). В отличие от печени, доля ТАГ в мышцах была более значительна и составляла до 50% от общих липидов. Сезонная динамика концентрации ТАГ и ЭХС аналогична изменению уровня ОЛ в мышцах и практически полностью соответствует изменению запасных липидов в печени. Уровень ХС постепенно возрастал в течение сезона и варьировал в пределах 0,4-0,6% от сухой массы.

3.5.3. Яичники.

Годовая динамика липидного состава яичников несколько отличалась от сезонной вариабельности ОЛ в печени и мышцах. С мая по август концентрация ОЛ оставалась постоянной (9,2% от сухой массы), а с сентября ($9,6 \pm 0,84\%$ от сухой массы) до апреля ($13,2 \pm 1,24\%$ от сухой массы) постепенно увеличивалась (табл. 2).

Концентрация ФЛ составляла 4,2-4,3% от сухой массы и в абсолютных единицах сезонной динамики не установлено. Однако, в процентном соотношении к ОЛ обнаружены изменения уровня ФЛ: если в начале сезона доля ФЛ составляла примерно 45%, то к апрелю - около 30%. Соотношение индивидуальных ФЛ в яичниках было аналогично распределению отдельных групп ФЛ в печени и мышцах.

Значительно более выражены изменения ТАГ в годовом цикле, их концентрация колебалась от 3,0 до 6,5% от сухой массы. Именно динамика уровня ТАГ и определяет сезонные изменения ОЛ яичников ювенильных самок. Возрастала и доля ТАГ: 35% от ОЛ в начале сезона до 50% к апрелю. Следует отметить, что в яичниках в течение годового цикла наблюдалось увеличение содержания ХС и ЭХС, их концентрация изменялась: с 0,7 до 1,1% от сухой массы и с 1,0 до 1,3% от сухой массы, соответственно.

Глава 4 Липидный состав липопротеинов, сыворотки крови и органов у трехлетних самцов радужной форели в годовом цикле.

4.1. Характер изменений различных групп липидов в сыворотке крови.

В процессе годового цикла содержание ОЛ практически не отличалось от концентрации ОЛ у трехлетних самок. В течение сперматогенеза происходило постепенное увеличение уровня ОЛ, достигающее своего максимума в апреле ($2060 \pm 192,6$ мг/дл). Отмечено небольшое снижение уровня ОЛ в ноябре ($1736,0 \pm 152,2$) (рис. 7).

Доминирующей группой липидов в сыворотке крови самцов, как и у самок, являлись ФЛ (60% от ОЛ). Второй в количественном отношении фракцией являлись ТАГ — от 25% до 30%; на долю ХС приходилось около 8%, а ЭХС — примерно 5%. Таким образом, у самок и самцов несколько различалось процентное соотношение запасных липидов: у самок доля ТАГ составляла около 20%, а ЭХС - 15%. Распределение отдельных групп липидов в сыворотке крови свидетельствует о достаточно стабильном их соотношении на протяжении всего годового цикла. Так, отношение запасных липидов к структурным липидам составляло 0,5, а индекс Дьерди - 0,1.

Анализ распределения отдельных групп ФЛ свидетельствует о значительном преобладании ФХ, доля которого составляла около 70% от общих ФЛ; примерно 10% приходилось на ФЭА, около 7% - на СФМ, 5% - на ФС, около 4% - на ЛФХ, самым незначительным компонентом являлась ФК. Характер изменений индивидуальных фосфолипидов отражает годовую динамику ФЛ и, в целом, именно сезонная динамика ФЛ определяет изменения липидного состава в сыворотке крови.

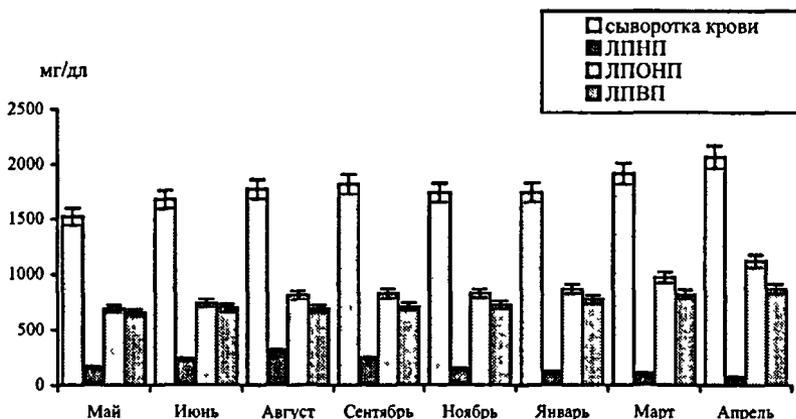


Рис 7 Содержание общих липидов в липопротеинах и сыворотке крови трехлетних (половозрелых) самцов радужной форели в годовом цикле.

4.2. Характер изменений различных групп липидов в ЛПНП.

Как и для самок, содержание ОЛ в ЛПНП у самцов было самым низким по сравнению с другими фракциями липопротеинов (рис. 7). В распределении основных групп липидов обнаружены некоторые половые различия: как и для самок, ФЛ являлись доминирующей фракцией, но содержали до 40% от ОЛ (у самок — 50%); доля ТАГ составляла от 30 до 35% (у самок около 20%); на содержание ХС приходилось примерно 20%, а на ЭХС — около 10% (у самок для ХС и его эфиров аналогичные соотношения). Несколько различались и уровни ХС/ФЛ и ТАГ+ЭХС/ФЛ+ХС: индекс Дьерди для самцов — 0,5, а для самок — 0,4; соотношение запасных липидов к структурным для самцов — 0,8, а для самок — 0,4. Сезонная динамика отдельных липидных групп отражает изменение уровня ОЛ в процессе сперматогенеза (рис. 8).

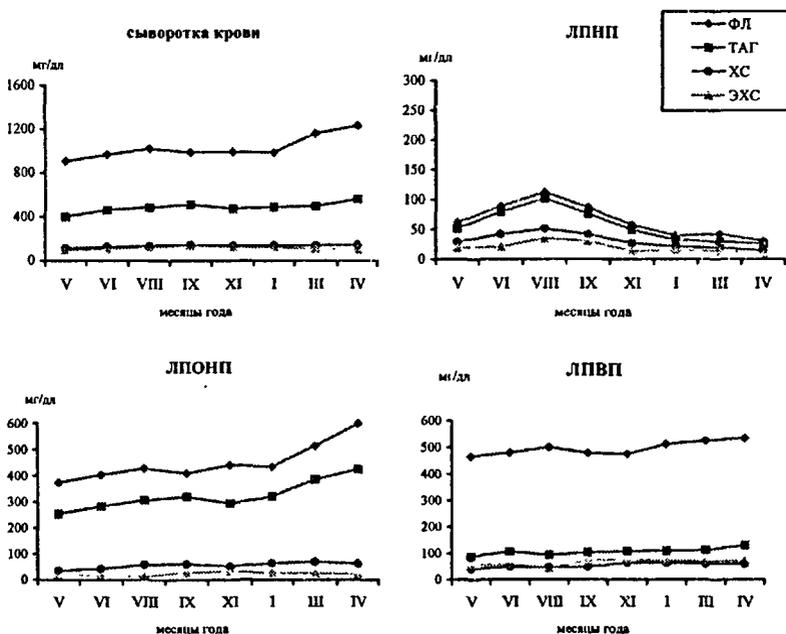


Рис. 8. Липидный состав липопротеинов и сыворотки крови трехлетних самцов радужной форели в годовом цикле.

4.3. Характер изменений различных групп липидов в ЛПОНП.

Уровень ОЛ у самцов незначительно превышал в ЛПОНП соответствующие показатели у трехлетних самок.

Существенные половые различия обнаружены в распределении отдельных липидных компонентов. Преобладающей группой у самцов являлись ФЛ (около 55% от ОЛ), доля ТАГ составляла примерно 40%, уровень ХС колебался в пределах 5-7%, концентрация ЭХС составляла 3-5%. Таким образом, в основном, различия между самками и самцами определялись соотношением запасных липидов - ТАГ и ЭХС (рис. 2, 8).

4.4. Характер изменений различных групп липидов в ЛПВП.

Концентрация ОЛ у самцов варьировала в пределах 650,0-860,0 мг/дл, что несколько ниже уровня ОЛ в ЛПВП у самок, и с начала сезона постепенно увеличивалась, достигая к нересту максимума (865,0±82,4 мг/дл) (рис. 7).

Различий в распределении отдельных групп липидов в ЛПВП у самок и самцов не установлено. Сезонная динамика содержания ФЛ в ЛПВП у самцов в марте-апреле значительно менее выражена, чем у самок. Уровни соотношений ХС к ФЛ (0,1) и запасных липидов к структурным липидам (0,3) на протяжении всего годового цикла не изменялись.

4.5. Характер изменений различных групп липидов в органах.

4.5.1. Печень.

Показано, что уровень ОЛ в печени самцов форели практически не отличался от концентрации липидов в печени трехлетних самок (табл. 1,3).

Как и во всех других случаях, фосфолипиды составляли основную массу общих липидов (более 50% от ОЛ) и их сезонная динамика соответствовала изменениям ОЛ. Уровень ТАГ незначительно превышал их содержание у самок. Сезонные изменения ТАГ были аналогичны динамике ОЛ. Концентрация ХС варьировала в пределах 0,8-1,1% от сухой массы, а ЭХС — 0,7-1,1% от сухой массы.

Таблица 3

Содержание ОЛ в органах трехлетних самцов радужной форели в годовом цикле, в % от сухой массы

	май	июнь	август	сентябрь	ноябрь	январь	март	апрель
печень	14,9±0,9	16,7*±1,1	19,4*±1,5	18,5±1,6	18,0±1,5	15,1*±1,3	14,5±1,1	12,8*±0,9
мышцы	15,7±1,1	16,9±1,3	20,6*±1,7	22,7±2,1	20,0±1,8	19,8±1,2	19,7±1,8	18,0±1,6
яичники	16,3±1,5	16,8±1,4	17,2±1,4	17,7±1,7	18,1±1,6	19,5±1,8	20,0±1,7	20,5±1,9

Примечание * - различия достоверны при $p < 0,05$

4.5.2. Мышцы.

Уровень ОЛ в белых скелетных мышцах самцов был значительно выше, чем у самок. Тенденция изменения содержания ОЛ в мышцах совпадает с динамикой ОЛ в печени (табл. 3).

Основным липидным компонентом мышц являлись ФЛ. Соотношение индивидуальных ФЛ в мышцах было аналогично таковому в печени. Сезонная динамика концентрации ТАГ и ХС и ЭХС в этой ткани была аналогичной изменению уровня ОЛ в годовом цикле. Следует отметить, что хотя концентрация ТАГ и

превышала его уровень в мышцах самок, но изменение содержания ТАГ в мышцах у самцов в процессе сперматогенеза было значительно менее выражено. Так, если к нересту у самок концентрация ТАГ в этом органе снижается на 5,5% от сухой массы, то у самцов на 3,9% от сухой массы.

4.5.3. Семенники.

Обнаружены половые различия в соотношении ФЛ и ТАГ в гонадах: у самцов ФЛ составляли около 55% от ОЛ (у самок - 30-40%), а на долю ТАГ приходилось около 25% (у самок — 50%). Содержание ФЛ составляло 9,0-11,0% от сухой массы. Динамика этого показателя совпадала с изменением ОЛ в течение сперматогенеза. В отличие от печени и мышц, обнаружена существенная разница в распределении индивидуальных ФЛ: ФХ и ФЭА составляли примерно 30% от общих ФЛ, на долю СФМ приходилось около 15%, в годовом цикле уровень ФС возрастал от 10% до 30%, количество ЛФХ и ФК было незначительно.

Сезонные изменения содержания ТАГ в семенниках отличались от динамики ОЛ: максимальные значения ТАГ были обнаружены в период нагула (4,2% от сухой массы), а к нересту происходило постепенное снижение их уровня. Концентрация ХС и ЭХС варьировала в пределах 2,0-4,0% от сухой массы и 1,1-1,7% от сухой массы, соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Каждый этап годового цикла радужной форели характеризуется определенными параметрами липидного состава органов и тканей, отражающими физиолого-биохимические особенности состояния организма.

Для половозрелых особей радужной форели изменение жирности органов в сезонном плане в значительной степени определяется репродуктивным циклом. Нагульный период характеризовался интенсивным депонированием липидов в печени и мышцах; в период зимовки происходила постепенная мобилизация всех липидных фракций; в преднерестовый период наблюдалось интенсивное использование депонированных липидов, которые играют роль субстратов окислительных процессов в энергетическом обмене и служат пластическим материалом для созревающих ооцитов и спермиев; в период нереста было отмечено наибольшее снижение концентрации липидов в мышцах и печени. Противоположная динамика была установлена для липидного состава гонад, где в течение оо- и сперматогенеза происходило постепенное возрастание концентрации ОЛ. Все этапы, как сезонных изменений, так и генеративного обмена контролируются комплексом гормонов, но центральная роль в осуществлении поздних этапов этого процесса принадлежит гонадотропинам и половым стероидам (Саутин, 1989; Христоворов, Мурза, 1998).

Несколько иная динамика липидного состава была в органах ювенильных самок. Обнаруженное возрастание концентрации ОЛ во всех исследованных органах в течение годового цикла связано с усиленным соматическим ростом рыб в данный период.

Сезонная динамика общих липидов сыворотки крови для всех исследуемых групп радужной форели была сходна. Выявлены лишь количественные различия в содержании ОЛ и степени интенсивности изменений в различные месяцы. Возрастание концентрации общих липидов сыворотки крови в нагульный период коррелировала с увеличением их уровня в печени и мышцах. У половозрелых особей наиболее значительное возрастание ОЛ в крови было отмечено на заключительных этапах оо- и сперматогенеза, что следует связать с растущими потребностями в энергетическом и пластическом материале для гонад в процессе их созревания, который доставляется от различных органов, увеличивая тем самым концентрацию всех групп липидов сыворотки крови к периоду нереста. Сезонные изменения ОЛ в сыворотке крови ювенильных самок соответствовали годовой динамике липидного состава органов.

Исследование липидного состава сыворотки крови и липопротеинов радужной форели показало, что основной липидной группой являлись фосфолипиды, составляющие примерно половину ОЛ, остальная часть приходилась на триацилглицерины и суммарный холестерин, причем самую незначительную долю составлял ХС. Согласно ранее проведенным исследованиям липидов тканей рыб (Кизеветтер, 1973; Сидоров, Лизенко, 1978; Сидоров и др., 1994; Лизенко и др., 1998), установлено, что преобладание ФЛ и относительно низкое содержание ХС является характерной особенностью представителей семейства лососевых.

Следует отметить, что для анализа влияния различных факторов на липидный состав наибольшее значение имеют не абсолютные величины, а их соотношения (Микельсаар и др., 1974; Карагезян, 1979; Бурлакова, 1981; Крепе, 1981; Мелконян, Караизян, 1989; Demel, Kruuff, 1976). Одним из наиболее важных показателей является индекс Дьерди, отражающий соотношения структурных липидов (ХС/ФЛ) и определяющий протекание метаболических процессов в мембранных структурах (Бурлакова, 1981; Крепе, 1981; Inbar et al., 1974; Shinitzky et al., 1974). Особенно значимым, с нашей точки зрения, был постоянный уровень коэффициента ХС/ФЛ, так же как и соотношения запасных липидов (ТАГ+ЭХС) к структурным (ФЛ+ХС), что свидетельствовало о четкой регуляции липидных компонентов липопротеинов и сыворотки крови в сезонной динамике.

Не обнаружено существенных отличий в динамике липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) у половозрелых особей. На протяжении всего года липидный состав ЛПНП был ниже по сравнению с другими фракциями ЛП. Учитывая стабильные соотношения липидной и белковой компоненты для липопротеиновых частиц, можно, с достаточной степенью уверенности, утверждать, что динамика липидного состава ЛП в годовом цикле отражает и изменение уровня самих фракций. В этом отношении наши данные близки к литературным источникам, из которых следует, что половозрелые рыбы синтезируют незначительное количество ЛПНП, что характерно и для форели (Шелухин, 1985; Skinner and Rogie, 1978; Chapman et al, 1978; Chapman, 1980; Fremont, 1981).

Основная функция ЛПНП заключается в транспорте ХС от печени к периферическим органам и тканям, что обуславливало высокую концентрацию ХС в ЛПНП по сравнению с другими ЛП. Максимальные значения ЛПНП в данный период можно объяснить возросшей интенсивностью стероидогенеза. Таким образом, динамика липидного состава ЛПНП в годовом цикле свидетельствовала о первоочередности затрат липидов этой фракции липопротеинов в то время, когда идет начальное формирование ооцитов и сперматозоидов, что подтверждается исследованиями ряда авторов (Black, Skinner, 1987; Wallert, Babin, 1994a).

У самцов, по сравнению с самками, динамика ЛПНП наиболее выражена в нагульный период и учитывая более высокий уровень ТАГ, можно предположить, что данная фракция играет более значительную роль у самцов в транспорте запасных липидов в период активного их депонирования, что подтверждали изменения концентраций ОЛ в печени и мышцах.

Для двухлетних самок годовые изменения ОЛ в ЛПНП кардинально отличались от особей старших возрастных групп. Годовой цикл двухлеток соответствовал периоду достижения половой зрелости и к апрелю перераспределение липидных профилей ЛП совпадало с трех- и четырехлетними самками. Ранее проведенные исследования показали преобладание ЛПНП у ювенильных особей форели (Freemont et al., 1981; Freemont, Marion, 1982; Chapman, Forgez, 1985), что отражалось в липидном составе ЛПНП однолетних самок в начале сезона.

Основной функцией ЛПОНП является транспорт нейтральных липидов, о чем свидетельствовали высокие концентрации ТАГ и ЭХС. Возрастное урвня ОЛ в ЛПОНП у половозрелых самок (особенно у четырехлеток) в течение эндогенного вителлогенеза коррелировало с накоплением запасных липидов в печени и мышцах (Nomura, 1963; Nassour, Leger, 1989) и значительным увеличением активности липопротеинлипазы и печеночной липазы в этих органах (Black, Skinner, 1987). Как и в ЛПНИ половые различия обусловлены более высокой концентрацией ТАГ в ЛПОНП у самцов.

Половые различия в содержании запасных липидов в ЛПНП и ЛПОНП отчасти можно объяснить особенностями репродуктивного поведения самок и самцов. Последние ведут борьбу за доминирование, активно участвуют в ухаживании и охраняют территорию, что, вероятно, требует значительных энергетических затрат и более высокий уровень аккумуляции ТАГ в основных депонирующих органах, следствием чего становится более высокий уровень ТАГ в крови.

Ювенильный период онтогенеза характеризуется усиленным линейным и весомым ростом рыб, обеспечивающим накопление пластических и энергетических ресурсов, необходимых для генеративного обмена при достижении половой зрелости рыб (Шатуновский, 1980; Кошелев, 1984). Активный соматический рост однолетних самок требует значительных поступлений липидных компонентов в органы и ткани, с чем, вероятнее всего, было связано преобладание содержания ОЛ в ЛПОНП практически на протяжении всего годового цикла.

Характерной особенностью распределения липопротеиновых профилей является доминирование ЛПВП у половозрелых рыб (Charman et al., 1978; Gjoen, Berg, 1989; Gjoen, Berg, 1992; Wallaert, Babin, 1992). Показано, что транспортная роль ЛПВП возрастает в течение репродуктивного цикла и самая высокая концентрация ЛПВП обнаружена в сыворотке крови лососевых в преднерестовый и нерестовый периоды (Nelson, Shore, 1974; Fremont, Marion, 1982). Данная тенденция подтверждается и при сезонных изменениях липидного состава ЛПВП. Следует отметить, что возрастание уровня ОЛ было наиболее выражено в январе у двух- и трехлетних самок, что связано с синтезом вителлогенина (ВГ).

Вителлогенин представляет собой липофосфогликопротеиновый комплекс, связанный с кальцием, который синтезируется клетками печени и является предшественником желтка (Campbell, Idler, 1980; Norberg, 1989; Tyler, 1991). В течение экзогенного вителлогенеза эстрадиол-17 α индуцирует синтез ВГ и с током крови он транспортируется в яичники, где специфически включается в ооциты (Naga, Hirai, 1978; van Bohemen, Lambert, 1980; van Bohemen, Lambert, 1981; Petersen, Korsgaard, 1989). Вителлогенин был идентифицирован как ЛПОВП (Babin, 1987b; Babin, Vernier, 1989). Учитывая методические особенности выделения ЛП в нашей работе, ЛПВП представляли не чистую, а смешанную с ЛПОВП фракцию, что объясняло половые различия в липидной динамике ЛПВП на поздних сроках гаметогенеза.

Предполагают, что липиды поступают в яичники не только в составе ВГ, но и непосредственно из ЛП (Back and Skinner, 1987). При эстрогенной стимуляции возрастание уровня общих липидов в сыворотке крови самок вызывается как увеличением концентрации ВГ, так и мобилизацией липидов из жировых депо, поступающих в кровь в составе липопротеинов (Wiegand and Peter, 1980; Norberg and Naux, 1985).

Основными параметрами окружающей среды, контролирующими сезонные изменения липидного состава в сыворотке крови, служат температура воды и фотопериод (Navarro et al., 1991; Johnson, Casillas, 1991; Sumpter, 1997).

Характерной адаптационной реакцией организма рыб на понижение температуры является увеличение доли структурных липидов и возрастание концентрации ФЭА (при соответствующем уменьшении доли других фосфолипидов) в разных мембранных структурах большинства органов и тканей (Сидоров, 1981; Hazel, 1979; Brichon et al., 1980; Van Den Thillart, De Bruin, 1981; Cordier et al., 2002). У всех исследованных групп рыб была установлена однотипная сезонная динамика коэффициентов ФХ/ФЭА и ФХ/СФМ. В зимние месяцы значения ФХ/ФЭА были минимальны, что связано с увеличением содержания ФЭА. Уровень ФХ/СФМ, напротив, зимой был максимален. Известно, что СФМ относится к самым насыщенным ФЛ и снижение его концентрации в ноябре-январе увеличивает долю ненасыщенных жирных кислот, что является характерной адаптационной перестройкой мембранных структур при воздействии низких температур.

Обнаружено, что фотопериод является главным фактором окружающей среды, определяющим стадии репродуктивного цикла и контролирующим сезонную динамику уровня ЛП самок и самцов радужной форели (Wallaert, Babin, 1994a). Эти изменения связаны с эндогенными биологическими часами, контроль которых осуществляют внешние факторы, а именно изменение длины светового дня (Whitehead, Bromage, 1980; Duston, Bromage, 1988; Mananos et al., 1997).

Таким образом, в организме рыб действует иерархически организованная регуляторная система, начинающаяся с воздействия сигнальных внешних факторов окружающей среды, к которым относятся температура и фотопериод. Указанные факторы запускают каскад нейроэндокринных реакций организма, способных осуществлять самый сложный контроль адаптивных перестроек липидного состава липопротеинов и соотношения отдельных фракций ЛП в течение годового цикла (Саутин, 1989; Христофоров, Мурза, 1998).

ВЫВОДЫ

1. Установлены сезонные изменения липидного состава липопротеинов, сыворотки крови и органов у всех изученных групп рыб. Соотношения основных липидных компонентов в ЛП остаются постоянными на протяжении всего годового цикла, что свидетельствует о стабильности их состава, не зависящем от пола и возраста.

2. Обнаружена разнонаправленная сезонная динамика липидного состава ЛП у половозрелых особей. На фоне увеличения уровня липидов в сыворотке крови, к нересту возрастает содержание ОЛ в ЛПОНП и ЛПВП и снижается в ЛПНП, что свидетельствует о различиях в функциональной нагрузке фракций липопротеинов в течение годового цикла, где приоритетную роль в транспорте липидов на ранних этапах гаметогенеза играют ЛПНП, а на более поздних - ЛПВП.

3. При сравнении липидного состава липопротеинов, сыворотки крови и органов у трехлетних самок и самцов установлено некоторое преобладание ЛПОНП и ЛПНП у самцов, что связано с более высоким уровнем ТАГ в сыворотке крови, отражающим годовую динамику липидов в мышцах и печени. Половые различия в липидной динамике ЛПВП на поздних сроках гаметогенеза обусловлены возрастанием уровня вителлогенина у самок.

4. Анализ липидного статуса у двух-, трех- и четырехлетних самок показал, что с возрастом увеличивается общая концентрация липидов в липопротеинах, сыворотке крови и органах.

5. Наиболее выражены различия в сезонной динамике липидного состава ЛПНП и ЛПВП у половозрелых и ювенильных самок, что обусловлено спецификой разных периодов жизненных циклов. Таким образом, определяющее значение в перераспределении липидных профилей ЛП имеют этапы онтогенеза.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Сидоров В.С., Высоцкая Р.У., Смирнов Л.П., Богдан В.В., Такшеев С.А., Васильева О.Б. К проблеме использования биохимических методов в мониторинге и тестировании природных экосистем // Тез. докл. Всероссийской научно-практической конференции, посвященная И.Д. Сапрыгину. Пенза, 1998. С. 61-64.
2. Васильева О.Б., Регеранд Т.И., Лизенко Е.И. Липопротеиды как биоиндикаторы в процессе годового цикла рыб // Тез. докл. Международной молодежной научной школы «Биоиндикация-98». Петрозаводск, 1998. Т. 2. С. 162-163.
3. Васильева О.Б., Богдан В.В., Смирнов Л.П., Лизенко Е.И., Сидоров В.С. Лизофосфолипиды как индикаторы токсикогенных повреждений тканей рыб // Тез. докл. Совещания молодых ученых «Проблемы рыбного хозяйства внутренних водоемов». СПб, 1998. С. 138.
4. Лизенко Е.И., Регеранд Т.Н., Васильева О.Б., Сидоров В.С. Исследование липопротеидов для оценки состояния животных и их охраны // Тез. докл. Международной конференции и выездной научной сессии отделения общейбиологии РАН «Животный и растительный мир Восточной Феноскандии». Петрозаводск, 1999. С. 8-10.
5. Васильева О.Б., Лизенко Е.И., Регеранд Т.Н., Сидоров В.С. Липидный состав липопротеидов сыворотки крови судака в процессе формирования гонад // Тез. докл. IV Молодежной научной конференции "Актуальные проблемы биологии и экологии". Сыктывкар, 1999. С. 14-16.
6. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Регеранд Т.Н., Васильева О.Б. Липиды сывороточных липопротеидов рыб // Тез. докл. II (XXV) Международной конференции «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера». Петрозаводск, 1999. С. 246-250.
7. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Регеранд Т.И., Васильева О.Б. Биохимическое эроморфозы (эробихимозы); адаптация животных и растений к условиям арктических морей (на уровне организма, популяции, экосистемы) // Матер, докл. Международного семинара, посвященного памяти академика Е.М. Крепса. Мурманск, 1999. С. 166-169.
8. Regerand T., Vasiljeva O., Lisenko E. Lipid content in blood serum lipoproteins of *Coregonus lavaretus* L. taken from lake Onego // 3rd International Lake Ladoga symposium. Monitoring and sustainable management of Lake Ladoga and other large lakes. Petrozavodsk, 1999. P. 67.
9. Васильева О.Б., Лизенко Е.И., Регеранд Т.И., Сидоров В.С. Динамика липидного состава липопротеидов сыворотки крови самок форели на некоторых стадиях развития их гонад // Тез. докл. IX Всероссийской конференции «Экологическая физиология и биохимия рыб». Ярославль, Т. I. 2000. 43-45.
10. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Лукьяненко В.И., Регеранд Т.Н., Васильева О.Б., Такшеев С.А., Лукьяненко В.В. Новая функция липопротеидов

высокой плотности // Тез. докл. IX Всероссийской конференции «Экологическая физиология и биохимия рыб». Ярославль, Т. II. 2000. 179-182.

11. Васильева О.Б., Лизенко Е.И., Ретеранд Т.И., Сидоров В.С. Сравнение липидного состава липопротеидов сыворотки крови и гонад судака и форели // Тез. докл. Международной конференции «Атлантический лосось (биология, охрана и воспроизводство)». Петрозаводск, 2000. С. 10-11.

12. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Ретеранд Т.И., Лизенко М.В., Бахирев А.М., Петровский В.И., Васильева О.Б. Сравнительное исследование уровня холестерина в липопротеидах сыворотки крови человека и некоторых животных // Вопр. биол. мед. и фармацевтической химии. 2000. № 4. С. 34-38.

13. Васильева О.Б., Лизенко Е.И., Сидоров В.С. Возрастное изменение липидного состава сывороточных липопротеидов самок радужной форели // Тез. докл. XII Международной конференции молодых ученых «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия». Борок, 2002. С. 168.

14. Васильева О.Б. Сезонная динамика липидного состава липопротеидов сыворотки крови радужной форели // III Республиканская молодежная научная конференция «XXI век: экологическая наука в Армении». Ереван. 2002. С. 61.

15. Нефедова З.А., Васильева О.Б., Руоколайнен Т.Р., Маркова Л.В., Рипатти П.О. Особенности липидного состава и спектров жирных кислот мидий *Mytilus Edulis* из Белого моря при изменении солёности // Тез. докл. III (XXVI) Международной конференции "Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского севера". Сыктывкар, 2003. С. 60,150.

16. Васильева О.Б. Динамика липидного состава липопротеидов сыворотки крови самок радужной форели (*Salmo Gairdneri*) в годовом цикле // Матер, докл. X Молодежной научной конференции "Актуальные проблемы биологии и экологии". Сыктывкар, 2003. С. 42-45.

17. Васильева О.Б., Мешерякова О.В. Некоторые особенности липидного и углеводного обменов мидий *Mytilus Edulis* Белого моря в условиях краткосрочной гипоксии // Матер, докл. X Молодежной научной конференции "Актуальные проблемы биологии и экологии". Сыктывкар, 2003. С. 45-47.

18. Лизенко Е.И., Ретеранд Т.И., Лизенко М.В., Бахирев А.М., Петровский В.И., Васильева О.Б. Состав структурных липидов сыворотки крови и липопротеидов у человека и некоторых животных // Вопр. биол. мед. и фармацевтической химии. 2004. № 1. С. 32-37.

19. Васильева О.Б., Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Липидный состав липопротеинов самок радужной форели *Salmo Gairdnerii* R. в годовом цикле // Вопр. ихтиологии. 2004. Т. 44. № 3. С. _____

20. Васильева О.Б., Лизенко Е.И., Ретеранд Т.И., Юровицкий Ю.Г., Сидоров В.С. Биохимические особенности липидного состава липопротеидов у рыб разной экологии: форели *Salmo irideus* L. и сига *Coregonus lavaretus* L. // Известия РАН, серия биологическая. 2004. № 2. С. 146-149.

Изд. лиц. № 00041 от 30.08.99. Подписано в печать 13.05.04. Формат 60x84/1₆.

Бумага офсетная. Гарнитура «Times». Печать офсетная.

Уч.-изд. л. 1,5. Усл. печ. л. 1,5. Тираж 100 экз. Изд. № 37. Заказ № 425

Карельский научный центр РАН
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50
Редакционно-издательский отдел

3

12050

482