

УДК 599.515:577.115

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ТКАНЕЙ СЕРОГО КИТА *ESCHRICHTIUS ROBUSTUS*: К ВОПРОСУ О ВЗАИМОСВЯЗИ СОСТАВА ЛИПИДОВ И ИХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОЙ РОЛИ В ПОДДЕРЖАНИИ ФУНКЦИИ ТКАНИ

© 2023 г. М. С. Мамаев¹, С. А. Мурзина², В. П. Воронин²,
Д. И. Литовка³, В. В. Рожнов^{1, *}

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук,
Москва, Россия

²Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ “Карельский научный центр РАН”,
Петрозаводск, Россия

³Аппарат Губернатора и Правительства Чукотского АО,
Анадырь, Россия

*e-mail: rozhnov-v-2015@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.08.2022 г.

После доработки 28.09.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Проведено исследование состава липидов в разных тканях серых китов *Eschrichtius robustus*, добытых на Чукотке. Сравнивались липидные профили пяти типов тканей с разной функциональной нагрузкой (кожа, мышцы, печень, наружный и внутренний слой жира). Выявлены отдельные классы липидов, вносящие наибольший вклад в дискриминацию между разными тканями. При этом 93% различий между тканями описываются двумя функциями, теснее всего связанными с содержанием метаболически взаимосвязанных диацилглицеринов (ДАГ), моноацилглицеринов (МАГ), триацилглицеринов (ТАГ) и восков, т.е. липидов, первоначально выполняющих энергетическую функцию, в тканях. Полученные данные о большом количестве общих липидов в жировой ткани и о содержании исследованных классов липидов свидетельствуют об успешности нагула серых китов и хорошей подготовленности их к миграции к местам размножения и обратно, а также о различных функциональных особенностях липидов исследованных тканей (обеспечение энергоёмких метаболических процессов животных во время миграции).

Ключевые слова: серый кит, *Eschrichtius robustus*, липиды, липидный профиль, липидный обмен

DOI: 10.31857/S0030157423030103, **EDN:** SRLTDD

ВВЕДЕНИЕ

Серые киты, являющиеся основой промысла коренных народов Севера, позволяют использовать их в качестве объекта для получения фундаментальных знаний о биологии крупных морских млекопитающих в целом. Возможность получения образцов тканей серых китов во время разрешенного аборигенного промысла уникальна, прежде всего, в виду природоохранного статуса этого вида (занесенного в Красную книгу Российской Федерации), что позволяет проводить комплексные исследования, в том числе с целью разработки программ по его сохранению.

Липиды — одни из самых разнообразных и полифункциональных молекул в организме, они играют фундаментальную роль во многих биологических, физиологических и метаболических

процессах. Проведение липидного анализа различными методами хроматографии — современное и перспективное направление морской биологии. Результаты таких исследований на примере серых китов позволяют описать липидные профили разных тканей и выявить как уникальные для каждого типа ткани особенности, так и общие закономерности. В настоящий момент такие исследования в мировой научной литературе освещены не полно и фрагментарно, чаще акценты в исследованиях ставятся на жирнокислотном составе и содержание загрязняющих веществ в подкожной жировой ткани [1, 13, 24].

Заострение внимания на составе липидов и соотношениях отдельных классов липидов в тканях серых китов связано с четким делением годового жизненного цикла на период размножения и

период нагула, а также продолжительными и энергозатратными миграциями между районами, в которых проходят эти фазы. Нагульные поля серых китов восточной (чукотско-калифорнийской) популяции располагаются в водах Чукотки. Именно в этих местах животным необходимо запастись большим количеством жира, а запасенной энергии должно хватить на миграцию к местам размножения и обратно.

Успешность нагула китов и подготовленность их к такой миграции можно оценить по количеству общих липидов в пробах биопсии, полученных от китов. Изучение состава общих липидов и их отдельных классов липидов позволяет выявить их физиолого-биохимическую роль в поддержании функции ткани.

Одной из ключевых форм запаса энергии у китообразных являются триацилглицерины [7], которые представляют собой три остатка жирных кислот, связанных с молекулой глицерина. При последовательном ферментативном гидролизе триацилглицеринов образуются сначала диацилглицерины, а затем — моноацилглицерины, которые известны как сигнальные молекулы, принимающие участие во многих регуляторных процессах. Полный распад триацилглицеринов приводит к высвобождению значимого количества энергии и формированию трех остатков жирных кислот. Тем самым триацилглицерины являются еще и поставщиками “строительных” блоков для других метаболических реакций и процессов в организме. Высвобождение отдельных жирных кислот является селективным и зависит от длины углеродной цепи и степени ненасыщенности [21]. Механизм избирательной мобилизации жирных кислот до конца не изучен. Известно, что жирнокислотный состав триацилглицеринов тесно связан с трофической базой организма [7].

Фосфолипиды являются основными структурными и функциональными компонентами клеточных мембран. Это амфифильные вещества — сложные липиды, имеющие в структуре жирнокислотные компоненты, так называемые гидрофобные “хвосты”, которые чаще всего представлены одной насыщенной и одной ненасыщенной жирными кислотами. Гидрофильная “головка”, элемент структуры фосфолипидов, представлена многоатомным спиртом (например, глицерин), остатком фосфорной кислоты и группой атомов (например, холин и серин), которая различается у разных фракций фосфолипидов. Физико-химическое состояние мембранных структур во многом зависит от содержания индивидуальных фосфолипидов (фракции и молекулярные виды фосфолипидов). В отличие от триацилглицеринов, фосфолипиды в значительно меньшей степени отражают жирнокислотный состав объектов питания [7].

Наряду с фосфо- и гликолипидами одним из важнейших липидов мембран является холестерин. Более того, холестерин является метаболическим предшественником стероидных гормонов и желчных кислот. При связывании холестерина с жирнокислотным остатком образуются эфиры холестерина (они являются не только еще одной формой энергозапасания липидов в организме, но и источником жирных кислот), которые утилизируются организмом согласно его потребностям в данный период развития или физиологического состояния.

Воска, как и триацилглицерины, являются классом липидов, депонируемых в организме в энергетических целях. Они особенно важны для карликовых кашалотов и ремнезубов [16]. Ряд видов кюворылов запасают энергию преимущественно в восках [22]. У видов, обитающих в более холодных водах, количество восков в жировом слое больше по сравнению с животными умеренных широт в виду их (восков) лучших теплоизоляционных свойств [6, 12]. Кроме того, накопление липидов в форме восков у некоторых гидробионтов северных широт является одним из вариантов биохимической адаптации к длительным периодам голодания и перехода в состояние диапаузы.

В состоянии нормы в организме количество свободных жирных кислот незначительно. Их повышенное количество может указывать на активизацию процессов распада липидов, в частности триацилглицеринов, что, в том числе, рассматривается как признак патологического или стрессиндуцированного состояния организма.

Целью настоящего исследования были оценка успешности нагула серых китов (*Eschrichtius robustus*, Lilljeborg, 1861), добытых на Чукотке во время промысла, и изучение физиолого-биохимической роли классов липидов в поддержании функции тканей различных типов. Для оценки успешности нагула было определено количество общих липидов в жировой ткани, а для выявления физиолого-биохимической роли отдельных липидных классов — целевая идентификация отдельных липидов, а также расчет их соотношений, и описание липидных профилей разных типов тканей китов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Пробы разных тканей серых китов были отобраны при разрешенном аборигенном промысле во время нагула животных у села Лорино (Чукотка) летом 2020 г. От 17 китов (11 самцов и 6 самок) была отобрана 61 проба: 17 образцов кожи, 17 — наружного слоя жира, 14 — внутреннего слоя жира, 7 — мышц и 6 — печени. Из исследуемых животных 2 особи были половозрелые, 6 неполовозре-

лых, остальные неизвестного возраста (установить возраст китов не всегда возможно). В полевых условиях образцы фиксировали в этиловом спирте (96%) с добавлением 0.001% антиоксиданта ионола в соотношении 1 : 10 по объему (образец : растворитель). Предварительно зафиксированные пробы как можно скорее доставляли в лабораторию, где их тщательно измельчали, гомогенизировали с использованием диспергатора Velp V-5 (Velp, Италия) и перефиксировали в смеси хлороформ : метанол (2 : 1, по объему).

Биохимический анализ проводили на базе лаборатории экологической биохимии Института биологии КарНЦ РАН, в том числе с использованием научного оборудования ЦКП КарНЦ РАН.

Оценка липидных профилей кожи, наружного слоя жира (НЖК), внутреннего слоя жира (ВСЖ), мышц и печени серых китов проведена по содержанию общих липидов (ОЛ), нейтральных липидов – триацилглицеринов (ТАГ), диацилглицеринов (ДАГ), моноацилглицеринов (МАГ), холестерина (ХС), эфиров холестерина (ЭХС), а также полярных липидов – общих фосфолипидов (ФЛ) и восков. Липиды экстрагировали по методу Дж. Фолча [9], затем концентрировали с помощью роторно-вакуумной установки Hei-VAP Advantage HL/G3 (Heidolph, Германия).

Качественное и количественное определение отдельных липидных классов осуществляли при помощи метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). Фракционирование общих липидов проводили на ультратонких пластинах на стеклянной основе – HPTLC Silica-gel 60 F254 Premium Purity (Merck, Германия). Микрообъемы пробы наносили с использованием полуавтоматического аппликатора Linomat 5 (CAMAG, Швейцария) штриховым методом (ширина штриха составляла 6 мм, при соблюдении отступов от края пластины в 8 мм). В качестве элюента, а также раствора для насыщения хроматографической камеры ADC2 (CAMAG, Швейцария), использовали систему растворителей: гексан–диэтиловый эфир–уксусная кислота (32 : 8 : 0.8 по объему) [18]. Контроль влажности поддерживался перенасыщенным раствором цинка азотнокислого ($ZnNO_3 \cdot 6H_2O$) (47–49% влажности). Насыщение камеры проводили в течение 20 мин с одновременным контролем влажности (10 мин), после чего проводилось насыщение пластины (20 мин). Сушка пластины составляла 5 мин. Окрашивание липидных пятен осуществляли в растворе медного купороса ($CuSO_4$) с ортофосфорной кислотой (H_3PO_4) и последующим нагреванием пластины до 160°C в течение 15 мин. Качественное и количественное определение липидных компонентов проводили в камере денситометра TLC Scanner 4 (CAMAG, Швейцария) на дейтериевой лампе при длине волны 350 нм в режиме

адсорбции [11]. Идентификацию липидных классов проводили по стандартам соответствующих компонентов (Sigma-Aldrich, США) с учетом соответствия значений Rf.

Сравнение разных типов тканей проводили с помощью дискриминантного анализа с последующим каноническим анализом. Статистические расчеты выполнены в программе Excel и Statistica 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа общих липидов и липидных классов в тканях кожи, наружного и внутреннего слоев жира, мышц и печени серых китов представлены в табл. 1, а результаты их обработки на рис. 1–3 и в табл. 2–4.

Содержание общих липидов в пробе (% сухого вещества) было тканеспецифичным, варьировало от 6.93 до 68.65% и было наименьшим в коже и наибольшим в наружном слое жира (рис. 1).

Полученные нами данные о большом количестве общих липидов в наружном слое жира свидетельствуют об успешности нагула серых китов у села Лорино (Чукотка) в 2020 г.

Данные о содержании отдельных классов липидов в исследуемых тканях представлены в табл. 2, а липидные профили (качественный и количественный состав липидов) исследуемых тканей отражены в виде гистограмм на рис. 2. Процентное соотношение отдельных липидных классов в разных тканях не одинаково, поэтому различается шкала % сухого вещества.

Во всех типах тканей определены значения соотношения холестерина к фосфолипидам (ХС/ФЛ), которое отражает состояние микровязкости биологических мембран. Наибольшее значение показателя ХС/ФЛ в коже свидетельствует о наибольшей ригидности этой ткани. Наружный слой жира характеризуется менее “вязким” состоянием биомембран этой ткани. Также показаны значения соотношения триацилглицеринов к фосфолипидам (ТАГ/ФЛ), которое характеризует активность энергетического и пластического обмена в ткани (табл. 3). Большее значение показателя говорит о преобладании энергетического обмена.

Дискриминантный анализ показал статистически значимые различия между липидными классами разных типов тканей. Для исключения мультиколлинеарности признаков значения ОЛ не включены в анализ. Общая Wilks' Lambda = 0.01; approx. F (32.182) = 12.23 при $p < 0.05$.

Последующим каноническим анализом были получены 2 дискриминантных функции. Функция 1 объясняет 70% различий между тканями, суммарно обе функции объясняют 93% различий. В функцию 1 основной вклад вносят переменные

Таблица 1. Содержание общих липидов (ОЛ) и классов липидов (ФЛ – фосфолипиды, МАГ – моноацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины, ХС – холестерин, СЖК – свободные жирные кислоты, ТАГ – триацилглицерины, ЭХС – эфиры холестерина) в пробах серых китов (% от сухого вещества)

№ пробы	Ткань	ОЛ	ФЛ	МАГ	ДАГ	ХС	СЖК	ТАГ	Воска	ЭХС	ХС/ФЛ	ТАГ/ФЛ
1	Кожа	8.69	1.11	0.22	0.53	1.59	1.43	1.64	0.73	1.45	1.43	1.47
2	НСЖ ¹	58.83	4.48	1.24	1.47	4.80	1.79	40.37	2.89	1.78	1.07	9.01
3	ВСЖ ²	22.33	1.66	0.69	0.75	1.99	0.46	13.12	1.99	1.67	1.20	7.91
4	Кожа	9.29	0.99	0.14	0.33	1.62	0.80	3.54	0.87	1.01	1.64	3.60
5	НСЖ	76.77	6.29	2.31	1.67	4.25	0.59	56.79	2.47	2.40	0.67	9.02
6	ВСЖ	53.83	4.24	1.64	1.76	5.34	1.17	35.85	1.86	1.96	1.26	8.46
7	Мышцы	10.42	0.85	0.20	0.36	1.20	0.41	6.04	0.57	0.79	1.41	7.11
8	Кожа	4.23	0.36	0.07	0.17	0.63	0.35	1.29	0.57	0.80	1.73	3.57
9	НСЖ	52.93	3.04	0.77	1.21	3.81	1.02	39.70	1.46	1.92	1.25	13.07
10	ВСЖ	18.46	1.74	0.66	0.75	2.47	0.71	10.07	1.03	1.05	1.42	5.80
11	Мышцы	5.89	0.62	0.09	0.23	0.76	0.25	2.57	0.54	0.82	1.23	4.14
12	Печень	13.34	1.52	0.22	0.42	1.84	2.17	3.88	2.27	1.01	1.20	2.55
13	Кожа	0.84	0.09	0.02	0.01	0.15	0.08	0.20	0.15	0.13	1.64	2.13
14	НСЖ	62.70	4.29	0.60	0.86	4.16	0.24	48.37	2.16	2.00	0.97	11.26
15	ВСЖ	58.42	4.12	1.45	1.45	5.47	1.95	40.61	1.62	1.75	1.33	9.86
16	Мышцы	3.46	0.31	0.07	0.09	0.45	0.19	1.52	0.16	0.66	1.44	4.90
17	Печень	13.38	1.60	0.15	0.43	1.77	1.66	4.31	2.68	0.78	1.11	2.70
18	Кожа	6.36	0.79	0.10	0.22	1.35	0.47	1.63	0.52	1.28	1.70	2.06
19	НСЖ	72.99	4.47	1.31	1.22	4.41	0.36	56.96	2.00	2.25	0.99	12.75
20	ВСЖ	21.85	1.62	0.62	0.78	2.22	0.45	13.78	1.15	1.23	1.37	8.51
21	Мышцы	13.32	1.19	0.31	0.38	1.55	0.32	7.78	0.96	0.84	1.31	6.56
22	Печень	10.70	1.28	0.19	0.37	1.70	1.88	1.88	2.54	0.86	1.32	1.47
23	Кожа	12.86	1.11	0.13	0.34	2.15	0.46	6.83	0.68	1.16	1.93	6.14
24	НСЖ	70.94	5.05	1.62	1.51	4.26	1.18	53.90	1.45	1.97	0.84	10.67
25	ВСЖ	28.94	2.07	0.95	0.89	2.42	0.21	20.74	0.67	0.99	1.17	10.02
26	Мышцы	7.15	0.70	0.13	0.21	0.96	0.14	4.05	0.13	0.84	1.36	5.78
27	Печень	11.85	1.57	0.20	0.37	1.81	1.76	2.42	3.22	0.50	1.15	1.54
28	Кожа	6.95	0.86	0.09	0.24	1.63	0.46	2.17	0.93	0.57	1.88	2.51
29	НСЖ	69.36	4.76	1.01	1.21	3.90	0.37	54.64	1.46	2.02	0.82	11.48
30	ВСЖ	28.76	2.07	0.64	0.82	2.35	0.20	20.82	0.76	1.10	1.14	10.07
31	Мышцы	7.49	0.75	0.12	0.24	1.02	0.20	3.94	0.69	0.53	1.35	5.23
32	Печень	12.41	1.89	0.18	0.51	2.36	2.03	1.94	2.65	0.86	1.25	1.03
33	Кожа	9.74	1.58	0.16	0.38	2.85	0.65	2.01	1.06	1.04	1.80	1.27
34	НСЖ	63.50	4.09	1.04	1.15	4.26	0.76	49.17	1.49	1.55	1.04	12.02
35	ВСЖ	12.17	0.88	0.48	0.57	0.68	0.92	7.57	0.42	0.65	0.78	8.62
36	Мышцы	16.50	1.40	0.46	0.53	1.88	0.13	10.59	0.63	0.89	1.34	7.59
37	Печень	11.61	1.72	0.12	0.24	2.05	2.02	1.88	3.02	0.54	1.19	1.09
38	Кожа	7.35	0.74	0.07	0.29	1.46	2.02	1.54	0.88	0.35	1.97	2.08
39	НСЖ	72.04	4.65	0.85	1.36	2.69	1.71	57.71	1.43	1.64	0.58	12.40
40	ВСЖ	25.69	2.47	0.51	0.70	2.52	1.55	14.54	2.25	1.15	1.02	5.90
41	Кожа	8.54	0.67	0.18	0.32	1.29	1.79	2.93	0.57	0.78	1.91	4.37
42	НСЖ	72.79	6.88	3.06	2.14	4.35	1.79	51.11	1.52	1.94	0.63	7.43
43	ВСЖ	7.66	0.58	0.17	0.30	0.78	0.71	4.13	0.51	0.48	1.35	7.11

Таблица 1. Окончание

№ пробы	Ткань	ОЛ	ФЛ	МАГ	ДАГ	ХС	СЖК	ТАГ	Воска	ЭХС	ХС/ФЛ	ТАГ/ФЛ
44	Кожа	5.17	0.42	0.08	0.22	0.83	1.32	1.28	0.57	0.45	1.98	3.03
45	НСЖ	65.34	5.07	1.63	1.60	4.16	3.57	46.29	1.54	1.48	0.82	9.13
46	ВСЖ	12.76	0.90	0.29	0.42	1.51	0.91	5.65	2.15	0.91	1.68	6.26
47	Кожа	10.33	0.76	0.12	0.38	1.53	2.26	3.83	0.77	0.69	2.01	5.03
48	НСЖ	72.52	4.31	1.07	1.99	4.41	4.62	52.37	1.62	2.12	1.02	12.16
49	ВСЖ	19.51	1.55	0.54	0.69	2.17	0.60	11.78	1.39	0.79	1.40	7.59
50	Кожа	8.25	0.65	0.16	0.31	1.33	2.20	2.30	0.73	0.57	2.06	3.57
51	НСЖ	64.73	3.77	1.16	1.89	4.30	2.01	48.73	1.56	1.31	1.14	12.93
52	Кожа	6.55	0.47	0.16	0.27	1.07	1.72	1.60	0.80	0.46	2.26	3.40
53	НСЖ	68.38	3.88	1.22	1.89	4.66	3.30	50.81	1.37	1.25	1.20	13.10
54	Кожа	4.82	0.30	0.14	0.21	0.69	1.07	1.43	0.36	0.62	2.29	4.73
55	НСЖ	79.98	4.31	1.12	1.72	4.33	2.76	61.42	1.55	2.77	1.00	14.25
56	ВСЖ	68.46	3.83	1.53	1.43	4.31	1.66	52.19	2.06	1.46	1.13	13.64
57	Кожа	5.10	0.39	0.12	0.17	0.87	1.21	1.64	0.34	0.37	2.23	4.22
58	НСЖ	68.82	2.88	0.92	1.46	4.58	2.72	52.78	1.34	2.14	1.59	18.30
59	Кожа	2.70	0.18	0.07	0.10	0.38	0.59	0.75	0.19	0.43	2.16	4.24
60	НСЖ	74.41	3.85	0.78	1.67	4.55	2.86	56.70	1.76	2.22	1.18	14.71
61	ВСЖ	60.06	3.50	1.12	1.24	3.86	1.17	45.11	2.01	2.05	1.10	12.88

Примечание: НСЖ – наружный слой жира, ВСЖ – внутренний слой жира.

ДАГ, МАГ и ТАГ, в то время как функция 2 коррелирует с содержанием восков в ткани (табл. 4). Значения, близкие к нулю, вносят минимальный вклад в построение новых функций. Чем большее значение (положительное или отрицательное) имеет показатель переменной, тем больше влияние переменной.

Выявленные особенности биохимического состава разных тканей наглядно изображены в пространстве, образованном дискриминационными функциями 1 и 2 (рис. 3). Наиболее компактно и близко (по оси абсцисс X , функция 1) располагаются кожа и мышцы, далее печень (отстоит отдельно) и затем раскидисто следует внутренний

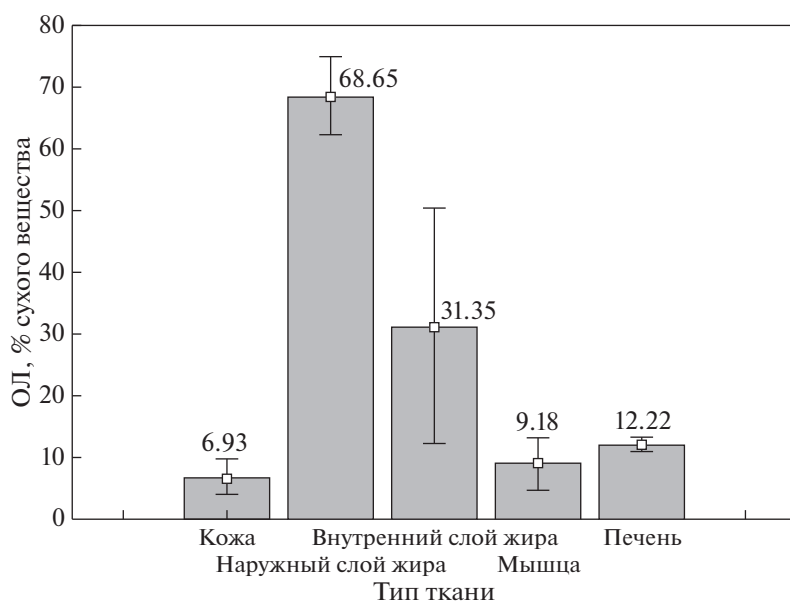


Рис. 1. Содержание общих липидов в разных типах тканей, % сухого вещества (среднее значение \pm SD).

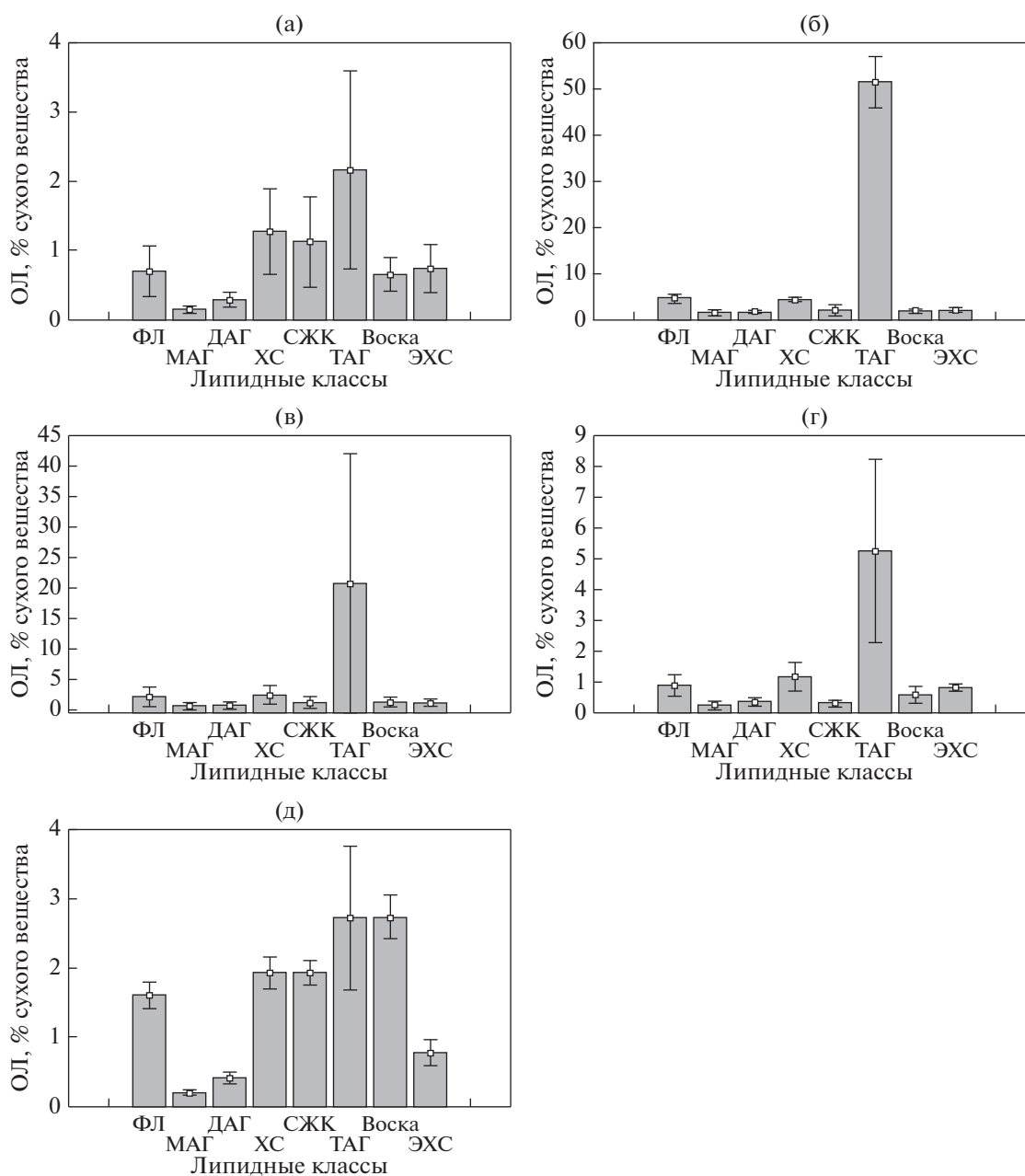


Рис. 2. Содержание липидных классов (% сухого вещества) в разных тканях: а – кожа, б – наружный слой жира, в – внутренний слой жира, г – мышцы, д – печень. ФЛ – фосфолипиды, МАГ – моноацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины, ХС – холестерин, СЖК – свободные жирные кислоты, ТАГ – триацилглицерин, ЭХС – эфиры холестерина.

слой жира, несколько сгруппированнее – наружный слой жира. Интересно, что по оси ординат Y , функция 2, печень обозначена обособленно от других типов тканей. Нами показано, что ТАГ и воска в печени имели практически равнозначное количество, в то время как в других тканях абсолютное доминирование среди запасных липидов показано для ТАГ.

Содержание ОЛ, а также качественный и количественный состав липидов в образцах исследуемых тканей, напрямую отражает их функциональную нагрузку. Наибольшее содержание ОЛ установлено для наружного жира – 68.55% сухого вещества, далее в порядке убывания следуют внутренний слой жира, печень, мышцы и кожа.

Доминирующим классом запасных липидов являлись ТАГ во всех исследованных органах за исключением печени, где содержание восков незначительно превышало таковое ТАГ (табл. 2, рис. 2). В коже содержание ТАГ было почти в 2 раза

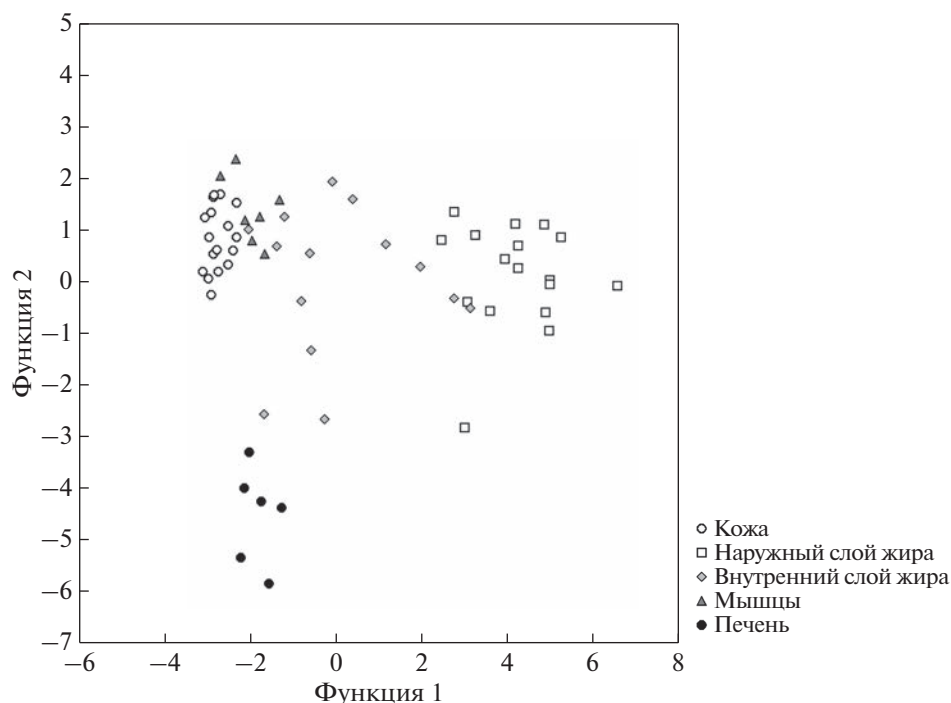


Рис. 3. Ткани, расположенные в пространстве дискриминационных функций 1 и 2.

выше такового для ХС и СЖК, а также других липидов. В наружном слое жира количество ТАГ было более чем в 11 раз больше, чем ХС, ФЛ и других классов. Во внутреннем слое жира содержание всех липидных классов было ниже, чем в наружном слое. При этом различия между ТАГ и ХС, ФЛ сократились почти до 8 раз. В мышцах ТАГ было в 4,5 раза больше, чем ХС и других классов. В печени отмечено почти одинаковое содержание ТАГ и восков.

Кроме того, интересным результатом настоящего исследования стало обнаруженное домини-

рование ХС над ФЛ во всех тканях за исключением наружного слоя жира, где данные липиды были практически в равном количестве. При этом значение показателя ТАГ/ФЛ (табл. 3) было наибольшим именно в наружном слое жира, а затем снижалось в порядке “внутренний жир—мышцы—кожа—печень”. Сопоставляя значения данных соотношений и содержание отдельных липидов, в частности, структурных ХС и ФЛ, для наружного жира по сравнению с внутренним, можно предположить, что в этом слое преобладают процессы депонирования энергоемких липидов. При этом

Таблица 2. Содержание липидных классов (% сухого вещества) в разных типах тканей

Класс липидов	Кожа		НСЖ		ВСЖ		Мышцы		Печень	
	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD
ФЛ	0.67	0.39	4.47	1.00	2.23	1.23	0.83	0.36	1.60	0.20
МАГ	0.12	0.05	1.28	0.61	0.81	0.46	0.20	0.14	0.18	0.04
ДАГ	0.26	0.12	1.53	0.34	0.90	0.42	0.29	0.14	0.39	0.09
ХС	1.26	0.66	4.23	0.47	2.72	1.50	1.12	0.48	1.92	0.24
СЖК	1.11	0.70	1.86	1.28	0.91	0.54	0.23	0.10	1.92	0.19
ТАГ	2.15	1.51	51.64	5.88	21.14	15.74	5.21	3.16	2.72	1.09
Воска	0.63	0.26	1.71	0.43	1.42	0.66	0.53	0.29	2.73	0.34
ЭХС	0.72	0.36	1.93	0.40	1.23	0.48	0.77	0.13	0.76	0.20

Примечание: ФЛ – фосфолипиды, МАГ – моноацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины, ХС – холестерин, СЖК – свободные жирные кислоты, ТАГ – триацилглицерины, ЭХС – эфиры холестерина.

Таблица 3. Значения соотношений ХС/ФЛ и ТАГ/ФЛ, показателей микровязкости биомембран и отношения запасных липидов к структурным в исследованных тканях

Отношение	Кожа		НСЖ		ВСЖ		Мышцы		Печень	
	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD	среднее	SD
ХС/ФЛ	1.92	0.24	0.99	0.25	1.24	0.21	1.35	0.07	1.20	0.07
ТАГ/ФЛ	3.38	1.34	11.98	2.57	8.76	2.38	5.90	1.25	1.73	0.72

Таблица 4. Показатели вклада отдельных переменных в дискриминантные функции

Переменная	Функция 1	Функция 2
Фосфолипиды (ФЛ)	0.63	-0.24
Моноацилглицерины (МАГ)	-0.85	0.22
Диацилглицерины (ДАГ)	1.05	-0.11
Холестерин (ХС)	-0.73	0.38
Свободные жирные кислоты (СЖК)	-0.34	-0.27
Триацилглицерин (ТАГ)	0.80	0.19
Воска	0.16	-1.07
Эфиры холестерина (ЭХС)	-0.13	0.22
Eigenval	8.49	2.66
Cum. Prop	0.70	0.93

их накопление и сохранение в наружном слое обеспечивается тонкими регуляторными механизмами поддержания надлежащего состояния биомембран. Липидный профиль кожи отличается самым низким содержанием общих липидов и липидных классов (% от сухого вещества). Липидные профили наружного и внутреннего слоев жира представляют наибольший интерес при сравнении друг с другом как в рамках одного вида, так и при сравнении с другими видами китов.

Различия значений показателей ХС/ФЛ и ТАГ/ФЛ в наружном и внутреннем слое жира демонстрируют различия липидного обмена в данных слоях ткани. Полученные в рамках данного исследования результаты подтверждают ранее высказанное мнение о внутреннем слое жира как более активном с точки зрения метаболизма слое [4, 15, 23]. При этом следует отметить некоторые исследования [20], в которых обсуждается связь питания только с подкожным слоем жира у крупных китов. Наши предыдущие исследования [2] показывают, что степень стратификации жирных кислот общих липидов относительно невелика. Настоящие результаты убедительно демонстрируют “биохимическую идентичность” конкретного типа ткани или, другими словами, мы обсуждаем различия липидных профилей, основанную на различиях ОЛ, отдельных классов липидов

и их соотношений во внутреннем и наружном слое жира серых китов. Нами обнаружено, что во внутреннем слое жира в метаболические реакции и процессы синхронно вовлекаются все липиды, что приводит к одновременному снижению их количества. При этом модификации качественного и количественного состава жирных кислот общих липидов (процент от общей суммы ЖК) происходят таким образом, чтобы оставаться относительно постоянными в обоих слоях жира, обеспечивая тем самым поддержание функционального состояния и физиологической значимости каждого из этих слоев. Повышенное же содержание всех липидных классов в наружном слое жира связано, прежде всего, с энергозапасующей и терморегуляционной функциями. Исследования на других видах морских млекопитающих показали, что чем больше содержание липидов, тем лучше термоизоляционные свойства жира [8, 14, 17, 26]. Проведенный нами анализ показал, что термоизоляционные свойства наружного жира серых китов достигаются накоплением энергоемких ТАГ, в дополнение к этому повышенное содержание ХС позволяет рассматривать еще одну функцию наружного жира как органа, участвующего в поддержании плавучести [19].

Липидный профиль жира серого кита отличается от липидного профиля финвала [15] незна-

чительно меньшим количеством ФЛ и ЭХС, однако у серого кита значительно меньшее количество СЖК. Это может быть связано с продолжительным временем вскрытия финвалов, что привело к деградации липидов, в частности ТАГ, и высвобождению СЖК. Также у финвалов отмечено [5], что содержание липидов в наружном слое жира, в отличие от внутреннего слоя, не зависит от репродуктивного статуса и возраста. У синего кита и минке [10] не обнаружено различий в содержании липидов между слоями жира, хотя выборка в приведенном исследовании небольшая. Липидный профиль жира горбачей гораздо менее разнообразен, чем серых китов: он состоит почти на 98% из ТАГ [25]. Наружный слой жира серых китов состоял на 75% из ТАГ (от суммы общих липидов), а внутренний – на 67%.

Таким образом, среди глицеролипидов для исследованных типов тканей показано доминирование энергоёмких ТАГ, затем в количественном отношении следуют ДАГ и МАГ. Являясь сигнальными и регуляторными молекулами, ДАГ и МАГ в наибольшей степени выражены в таком метаболически активном органе как печень. Липидный профиль печени в полной мере отражает основную физиологическую роль этого органа как связующего звена различных видов обмена веществ в организме. По сравнению с другими исследованными органами и тканями содержание липидных классов в печени низкое, при этом количество ТАГ и восков одинаково и такое же, как СЖК и ХС.

Липидный профиль мышц, как показано нами, характеризуется доминированием ТАГ в композиции с другим классом запасных липидов ЭХС, что указывает на значение именно данного набора липидов для удовлетворения энергетических потребностей ткани. Более того, ЭХС – универсальные молекулы, распадающиеся на свободные жирные кислоты, которые могут быть использованы для энергетических нужд или при биосинтезе собственных липидов, тогда как ХС может служить источником стероидных гормонов и желчных кислот, а также компонентом для построения биомембран [3]. Тем самым мышцы четко отличаются от других исследованных тканей. Обращает внимание относительно высокий уровень ХС среди структурных липидов мышц.

Таким образом, наряду с полученными нами данными о большом количестве общих липидов в жировой ткани, данные о содержании липидных классов свидетельствуют о достаточной обеспеченности и подготовленности китов к миграции к местам размножения и обратно, а также о конкретных особенностях исследованных тканей в поддержании энергозатрат животных во время миграции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен состав общих липидов и их отдельных классов липидов, определены липидные профили разных типов тканей серых китов, добытых во время аборигенного промысла на Чукотке в 2020 г. Показаны липидные профили тканей в соответствии с их функциональной нагрузкой. Среднее значение общих липидов в ткани варьировало от 6.93 в коже до 68.65 в наружном слое жира.

Выявлено, что все ткани достоверно отличаются друг от друга, 93% различий между тканями описываются двумя дискриминационными функциями, функция 1 коррелирует с содержанием в тканях ДАГ, МАГ и ТАГ, а функция 2 с содержанием восков в тканях.

Показатель микровязкости мембран тканей изменяется почти в 2 раза. Наиболее ригидной тканью является кожа. Все ткани различаются по активности энергетического и пластического обмена. В наружном слое жира происходит активное накопление основных энергетических молекул, что отражено в показателе ТАГ/ФЛ, равном 11.98. Внутренний слой жира, помимо запасания энергии, расходуется на потребности организма. В нем значение этого показателя 8.76.

Обнаружено, что во внутреннем слое жира в метаболические реакции и процессы синхронно вовлекаются все липидные классы, что приводит к одновременному снижению их количества относительно наружного слоя жира, значение которого строго специфицировано в организме животного. При этом качественный и количественный состав жирных кислот относительно постоянен.

Обсуждаются видовые особенности липидного профиля жира серых китов по сравнению с другими видами китообразных.

Полученные данные о большом количестве общих липидов в жировой ткани и о содержании исследованных липидных классов свидетельствуют об успешности нагула серых китов у села Лорино (Чукотка) в 2020 г. и хорошей подготовленности их к миграции к местам размножения и обратно, а также о различных функциональных особенностях липидных классов исследованных тканей (обеспечение энергоёмких метаболических процессов животных во время миграции).

Финансовая поддержка. Полевые и лабораторные исследования проведены при финансовой поддержке Правительства Чукотского автономного округа. Аборигенный промысел серых и гренландских китов осуществляется ежегодно с 1993 г. по разрешению Росприроднадзора согласно выделяемой Международной китобойной комиссией блок-квоты для России и США.

Благодарности. Авторы благодарят бесстрашных китобоев ТСО КМНЧ “Лорино” за их тяже-

лый труд и всестороннюю помощь в проведении полевых работ и сборе проб от добытых китов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аюшин Н.Б., Караулова Е.П., Ковкековдова Л.Т. и др. Технохимическая характеристика органов и тканей серого кита *Eschrichtius robustus* // Известия ТИНРО. 2017. Т. 190. С. 212–221.
2. Мамаев М.С., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н. и др. Стратификация жировой ткани восточных серых китов *Eschrichtius robustus* // Морские млекопитающие Голарктики. Сборник тезисов XI-ой Международной конференции “Морские млекопитающие Голарктики”. 2021. С. 64–65.
3. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М., Нефедова З.А. Тканевая специфичность ряпушки *Coregonus albula* L. // Липиды рыб. 1. Методы анализа. Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР. 1972. № 1. С. 152–163.
4. Ackman R.G., Eaton C.A., Jangaard P.M. Lipids of fin whale (*Balaenoptera physalus*) from the north Atlantic waters // Canadian Journal of Biochemistry. 1965. V. 43. P. 1513–1520.
5. Aguilar A., Borrell A. Patterns of lipid content and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*) // J. Mammalogy. 1990. V. 71. No. 4. P. 544–554.
6. Bagge L.E., Koopman H.N., Rommel S.A. et al. Lipid class and depth-specific thermal properties in the blubber of the short-finned pilot whale and the pygmy sperm whale // J. Experimental Biology. 2012. V. 215. P. 4330–4339.
7. Budge S.M., Iverson S.J., Koopman N.H. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation // Marine Mammal Science. 2006. V. 22. P. 759–801.
8. Dunkin R.C., McLellan W.A., Blum J.E., Pabst D.A. The ontogenetic changes in the thermal properties of blubber from Atlantic bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* // J. Experimental Biology. 2005. V. 208. P. 1469–1480.
9. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. No. 5. P. 497–509.
10. Gauthier J.M., Metcalfe C.D., Sears R. Validation of the blubber biopsy technique for monitoring of organochlorine contaminants in Balaenopterid whales // Marine Environmental Research. 1997. V. 43. No. 3. P. 157–179.
11. Hellwig J. Defining parameters for a reproducible TLC-separation of phospholipids using ADC 2 // Diploma thesis. University of Applied Sciences Northwestern Switzerland (FHNW). 2005.
12. Koopman H.N. Phylogenetic, ecological, and ontogenetic factors influencing the biochemical structure of the blubber of odontocetes // Marine Biology. 2007. V. 151. P. 277–291.
13. Krahn M.M., Ylitalo G.M., Burrows D.G. et al. Organochlorine contaminant concentrations and lipid profiles in eastern North Pacific gray whales (*Eschrichtius robustus*) // J. Cetacean Res. Manage. 2001. V. 3(1). P. 19–29.
14. Kvadsheim P.H., Folkow L.P., Blix A.S. Thermal conductivity of minke whale blubber // J. Thermal Biology. 1996. V. 21. P. 123–128.
15. Lockyer C.H., McConnell L.C., Waters T.D. The biochemical composition of fin whale blubber // Canadian J. Zoology. 1984. V. 62. P. 2553–2562.
16. Lonati G.L., Phelps C.E., Koopman H.N., Pabst D.A. The density of odontocete integument depends on blubber lipid composition and temperature // Marine Mammal Science. 2018. V. 35 (22). P. 595–616.
17. Liwanag H.E.M., Berta A., Costa D.P. et al. Morphological and thermal properties of mammalian insulation: The evolutionary transition to blubber in pinnipeds // Biological J. Linnean Society. 2012. V. 107. P. 774–787.
18. Olsen R.E., Henderson R.J. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1989. V. 129. P. 189–197.
19. Phleger C.F. Buoyancy in marine fishes: direct and indirect role of lipids // American Zoologist. 1998. V. 38. No. 2. P. 321–330.
20. Pomerleau C., Lesage V., Winkler G. et al. Contemporary Diet of Bowhead Whales (*Balaena mysticetus*) from the Eastern Canadian Arctic Inferred from Fatty Acid Biomarkers // Arctic. 2014. V. 67. No. 1. P. 84–92.
21. Raclot T. Selective mobilization of fatty acids from adipose tissue triacylglycerols // Progress in Lipid Research. 2003. V. 42 P. 257–288.
22. Singleton E.M., McLellan W.A., Koopman H.N. Lipid composition and thermal properties of the blubber of Gervais’ beaked whale (*Mesoplodon europaeus*) across ontogeny // Marine Mammal Science. 2017. V. 33. No. 2. P. 695–705.
23. Strandberg U., Kakela A., Lydersen C. et al. Stratification, composition, and Function of Marine Mammal Blubber: The Ecology of Fatty Acids in Marine Mammals // Physiological and Biochemical Zoology. 2008. V. 81. No. 4. P. 473–485.
24. Tilbury K.L., Stein J.E., Krone C.A. et al. Chemical contaminants in juvenile gray whales (*Eschrichtius robustus*) from a subsistence harvest in Arctic feeding grounds // Chemosphere. 2002. V. 47. P. 555–564.
25. Waugh C.A., Nichols P.D., Noad M.C., Nash S.B. Lipid and fatty acid profiles of migrating Southern Hemisphere humpback whales *Megaptera novaeangliae* // Marine Ecology Progress Series. 2012. V. 471. P. 271–281.
26. Worthy G.A.J., Edwards E.F. Morphometric and biochemical factors affecting heat loss in a small temperate cetacean (*Phocoena phocoena*) and a small tropical cetacean (*Stenella attenuata*) // Physiological Zoology. 1990. V. 63. P. 432–442.

The Lipid Profile of the Tissues of the Gray Whale (*Eschrichtius robustus*): to the Relationship of Composition of Lipids and Their Physiological and Biochemical Role in Maintaining Tissue Function

M. S. Mamaev^a, S. A. Murzina^b, V. P. Voronin^b, D. I. Litovka^c, V. V. Rozhnov^{a, #}

^aA.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^bInstitute of Biology of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

^cOffice of the Governor and Government of the Chukotka Autonomous Okrug, Anadyr, Russia

[#]e-mail: rozhnov-v-2015@yandex.ru

A study was made of the composition of lipids in different tissues of gray whales *Eschrichtius robustus*, and the lipid profiles of tissues with different functional loads were compared. Five types of tissues (skin, muscle, liver, outer and inner layers of fat) were collected from seventeen individuals of eastern gray whales during the permitted aboriginal fishing in the village. Lorino of the Chukotka Autonomous Okrug in the summer of 2020. For all of the listed tissues, the composition of total lipids and their individual lipid classes was studied by high-performance thin-layer chromatography (HPTLC), the identification and description of lipid profiles of different types of tissues was carried out, which made it possible to identify their general and specific features of lipid metabolism according to the studied parameters. Comparative analysis of lipid profiles of tissues revealed individual lipid classes that make the greatest contribution to discrimination between different tissues. Both the content of total lipids and individual lipid classes varied significantly in different tissues. At the same time, 93% of the differences between tissues are two functions that are most closely related to the content of metabolically associated diacylglycerols (DAG), monoacylglycerols (MAG), triacylglycerols (TAG) and waxes, mainly energetic lipids, in tissues. The paper discusses the relationship between the qualitative and quantitative composition of lipids and the functional load and the physiological role of tissues. The metabolic features of the accumulation and consumption of lipid classes during the feeding period were noted. The revealed differences in certain parameters of lipid metabolism of the outer and inner layers of fat are due to different metabolic activity of tissues and their function in the body, which, among other things, is provided by lipids.

Keywords: gray whale, *Eschrichtius robustus*, lipids, lipid profile, lipid metabolism