

Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря.
Влияние некоторых факторов среды обитания

Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова

Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МИДИЙ MYTILUS EDULIS L. БЕЛОГО МОРЯ. ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ



Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова

**Липидный состав мидий
Mytilus edulis L. Белого моря
Влияние некоторых факторов
среды обитания**

Петрозаводск
2010

УДК 594.124:577.115(268.46)

ББК 28.691(2 Рос.Кар.)

Ф 75

Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания / Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. 243 с.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ
(08-04-01140-а); Программы Президента РФ
«Ведущие научные школы» (НШ-3731.2010.4);
Целевой программы РАН «Поддержка молодых ученых»*

ISBN 978-5-9274-0405-6

© Институт биологии КарНЦ РАН, 2010

ВВЕДЕНИЕ

Проблема устойчивости организма, его адаптации к изменяющимся условиям среды остается одной из центральных проблем биологии. Адаптация обеспечивается деятельностью целого комплекса механизмов, среди которых важную роль играют биохимические механизмы, лежащие в основе развития компенсаторных реакций клетки в ответ на действие неблагоприятных факторов среды (Хочачка, Сомеро, 1988; Озернюк, 2003; Немова, Высоцкая, 2004; Смирнов, Богдан, 2007). Благодаря прикрепленному образу жизни, моллюски, в частности мидии *Mytilus edulis* L., обладают широким спектром адаптаций на молекулярном, биохимическом, клеточном, физиологическом, поведенческом, популяционном и других уровнях организации к воздействию различных неблагоприятных факторов (Громосова, Шапиро, 1984; Бергер, 1986; Хочачка, Сомеро, 1988; Newell, 1989; Алякринская, 2004; McDowell, 2005). Как и большинство обитателей прибрежной зоны моря, *Mytilus edulis* являются эврибионтами, т.е. они способны существовать при сильных колебаниях соленостного, кислородного и температурного режимов (Бергер, 1986).

Известно, что устойчивость организма к различным воздействиям в значительной степени определяется особенностями липидного обмена (Крепс, 1981; Thompson, 1986; Lopez et al., 2006). Поскольку липидные компоненты участвуют во всех важнейших физиолого-биохимических процессах организма (Крепс, 1981; Дятловицкая, Безуглов, 1998; Когтева, Безуглов, 1998), они играют важную роль в компенсаторных реакциях организма в ответ на воздействие неблагоприятных условий среды обитания.

Наиболее подробно изучено влияние основного фактора окружающей среды – температуры, на биохимические и физиологические процессы, происходящие в организме водных животных.

Изначально, при изучении биохимических механизмов адаптаций водных организмов на уровне липидного метаболизма, основное внимание уделялось роли структурных липидов (фосфолипидов, холестерина, насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот). Поскольку первичным ответом на стрессовое воздействие являются модификации физико-химического состояния клеточных мембран (Thompson, 1986; Lopez et al., 2006), липиды, как одни из основных компонентов бислоя, играют важную роль в процессах адаптации к изменившимся условиям среды. В литературе достаточно подробно описано явление «адаптации гомеовязкости», возникающее при влиянии пониженной температуры (Sinensky, 1974; Fodor et al., 1995; Loque et al., 2000; Los, Murata, 2004). В ходе этого процесса, в ответ на действие низкой температуры альтерации в составе липидов направлены на поддержание необходимой вязкости биологических мембран. Так, характерным адаптивным ответом на понижение температуры является усиление синтеза полиеновых жирных кислот, которые компенсируют стабилизирующее влияние данного фактора на липидный бислой. Одним из хорошо известных примеров эволюционной биохимической адаптации рыб к обитанию в холодных водах высоких широт Мирового океана служит повышенное содержание полиненасыщенных жирных кислот в составе общих липидов (Сидоров, 1983).

Помимо структурных липидных компонентов, в исследовательских работах большое внимание уделялось участию запасных липидов в адаптациях водных организмов к изменяющимся условиям среды обитания. В большинстве таких работ показано снижение концентрации триацилглицеринов у водных организмов в ответ на действие различных факторов (Лапин, Шатуновский, 1981; Гершанович и др., 1991; Sangiao-Alvarellos et al., 2003 и 2005). Например, у атлантического лосося отмечалось снижение уровня триацилглицеринов при смене пресной среды обитания на морскую, что указывает на активное участие запасных липидов, в качестве источника энергии, в процессе адаптации к морской воде (Гершанович и др., 1991).

По мере изучения регуляторной роли липидов в метаболизме у различных организмов, в литературе появлялись сведения о воз-

можном участии физиологически-активных липидов в адаптивных процессах. Например, в ответ на действие различной температуры, у рыб отмечались изменения в количестве сфингомиелина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, а также арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот (Крепс, 1981; Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1983; Roche et al., 1983; Hansen, Abraham, 1983; Bell et al., 1986; Шульман, Юнева, 1990; Гершанович и др., 1991; Babili et al., 1996; Harel et al., 2001; Hall et al., 2002; Cordier et al., 2002; Sangiao-Alvarellos et al., 2003 и 2005; Martinez-Alvares, 2005). Такие модификации в составе физиологически-активных липидов указывали на адаптивную роль этих липидных компонентов. Следует отметить, что модулирующая роль липидного состава у водных организмов в температурных адаптациях сравнительно хорошо изучена.

Помимо температуры, одним из важнейших абиотических факторов среды обитания морских организмов является соленость (Бергер, 1986; Озернюк, 2003). Имеется большое количество работ, посвященных участию липидов в адаптивной функции при изменении солености среды обитания у животных, относящихся к группе осморегуляторов, в частности высших ракообразных и рыб (Chapelle, 1978; Hansen, Abraham, 1983; Harel et al., 2001; Cordier et al., 2002; Luvizotto-Santos et al., 2003; Shivkamat, Roy, 2005; Martinez-Alvarez et al., 2005; Sangiao-Alvarellos et al., 2005). Однако исследований, описывающих изменение липидного состава при смене солености морской воды у осмоконформеров, к которым относятся двустворчатые моллюски, относительно немного (Glemet, Ballantyne, 1995; Кашин, 1997; Hall et al., 2002). В настоящей работе рассматриваются механизмы адаптации на биохимическом уровне к различной солености у осморегуляторов (гомойосмотических животных) и осмоконформеров (пойкилосмотических животных). Представленные в монографии сведения обобщают имеющиеся в литературе данные и собственные экспериментальные данные об участии липидного состава в адаптациях гомойосмотических животных к смене солености морской воды.

Объектом проведенных экспериментальных исследований была выбрана обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L. (1758), которая является

типичным обитателем прибрежной и сублиторальной зоны Белого моря. Данные моллюски широко используются в марикультуре. На базе ББС «Картеш» Зоологического института РАН в акватории губы Чупа Кандалакшского залива Белого моря создана экспериментальная марикультура мидий с целью изучения особенностей условий среды обитания культивируемых моллюсков. Для проведения сравнительного анализа липидного состава были использованы мидии, обитающие на литорали (прибрежной зоне) Белого моря и на искусственных субстратах марикультуры. Мидии, обитающие на искусственных субстратах, находятся в относительно благоприятных условиях, по сравнению с литоральными и сублиторальными моллюсками из естественной среды обитания. Преимущества обитания на искусственных коллекторах следующие: (1) – подвесные субстраты не контактируют с грунтом, постоянно промываются течениями воды, поэтому моллюски не заражены паразитами и не содержат частичек грунта, а также не подвержены влиянию хищников; (2) – относительно постоянная температура воды (1,5–2,5 м – глубина, на которой находятся субстраты, это прогреваемый поверхностный слой воды, который не подвержен приливно-отливным циклам) (Кулаковский, 2000). Показано, что у беломорских мидий *Mytilus edulis* модификации состава липидов при влиянии различной солености затрагивают структурные, энергетические и регуляторные компоненты, причем ответная реакция на уровне липидного состава органоспецифична, зависит от исходного местообитания и стадии репродуктивного цикла моллюсков.

Еще одним важнейшим фактором среды, оказывающим влияние на метаболические и физиологические процессы, происходящие в организме морских моллюсков, является периодическая смена приливов и отливов. Мидии *Mytilus edulis*, обитающие в прибрежной (литоральной) зоне моря, являются типичными факультативными анаэробами. Способность моллюсков выдерживать отсутствие кислорода, возникающее во время отлива, обеспечивается деятельностью целого ряда адаптивных механизмов (Громосова, Шапиро, 1984; Алякринская, 2004; David et al., 2005). Следует отметить, что роль липидов в адаптивных реакциях мидий в

ответ на анаэробные условия среды исследована недостаточно. В настоящей работе обсуждаются результаты, полученные в ходе аквариальных экспериментов, в которых выявлены компенсаторные изменения в составе липидов у беломорских мидий в ответ на действие краткосрочной аноксии. Помимо мембранных и физиологически активных липидов, значительным изменениям подвергаются запасные липидные компоненты, что предполагает их активное использование в качестве альтернативного источника энергии в условиях недостатка кислорода. Ранее у двустворчатых моллюсков в качестве энергетических ресурсов исследовали только углеводы и белки (Шульман и др., 1993; Щербань, Вялова, 2001).

В настоящее время, наряду с абиотическими факторами среды, значительное влияние на водные организмы оказывают антропогенные воздействия, в том числе загрязнения морских акваторий нефтепродуктами. Мидии, как и большинство двустворчатых моллюсков, выработали комплекс адаптаций на различных уровнях организации, позволяющий им выживать в условиях загрязнения нефтью и ее продуктами (Bayne et al., 1982; Moore et al., 1987; Moore, 1998; McDowell, 2005). Имеющиеся в литературе сведения о модификациях липидного состава в ответ на действие нефтепродуктов не достаточны для создания полной картины, описывающей ответную реакцию организма на такое антропогенное воздействие. В настоящей работе представлены экспериментальные данные об изменениях в составе липидов (структурных, запасных и физиологически активных компонентов) беломорских мидий в ответ на действие нефтепродуктов, дополняющие уже имеющиеся в литературе сведения о биохимических адаптациях *Mytilus edulis*.

Необходимо еще раз подчеркнуть, что представленные в настоящей работе экспериментальные данные об изменениях липидного состава *Mytilus edulis* в ответ на действие различной солёности, краткосрочной аноксии, нефтепродуктов получены в ходе аквариальных экспериментов. Такие эксперименты широко распространены при изучении механизмов адаптаций. Известно, что в ходе аквариальных экспериментов происходит акклимация организма к одному определенному фактору среды (Хлебович, 1981; Озер-

нюк, 2003), что дает возможность получить представление о специфичности адаптивного ответа.

Тем не менее, для всестороннего понимания модификаций, происходящих в метаболизме липидов у беломорских мидий *Mytilus edulis* в ответ на действие некоторых факторов среды обитания (солености, аноксии, нефтяного загрязнения) одних аквариальных экспериментов недостаточно. Поэтому, обсуждаемые в работе данные, характеризующие особенности состава липидов в зависимости от возраста и исходного местообитания, получены у моллюсков из естественной среды.

Известно, что двустворчатые моллюски служат важным промышленным объектом, обладающим высокой пищевой ценностью. Так, характерной особенностью липидного состава морских двустворчатых моллюсков является повышенная концентрация триацилглицеринов и полиеновых жирных кислот n-3 семейства. Известно, что употребление пищи, обогащенной данными ПНЖК, препятствует развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Поэтому полученные в ходе экспериментов сведения о липидном и жирнокислотном составе беломорских мидий имеют и прикладное значение.

Настоящая работа выполнена в лаборатории экологической биохимии Института биологии Карельского научного центра РАН. Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность всем сотрудникам лаборатории экологической биохимии, особенно группе липидологии к.б.н. П.О. Рипатти, к.б.н. Т.Р. Руоколайнен, к.б.н. О.Б. Васильевой, Л.В. Марковой за всестороннюю помощь, ценные советы и рекомендации. Выражаем большую признательность д.б.н. В.Я. Бергеру – руководителю ББС «Картеш» ЗИН РАН с 1982 по 2008 гг., и всему коллективу биостанции за предоставленную возможность проводить исследования на моллюсках, а также особая благодарность – ст.н.с. ББС «Картеш» ЗИН РАН, д.б.н. В.В. Халаману и н.с. ИБ КарНЦ РАН, к.б.н. И.Н. Бахмету за помощь в постановке экспериментов.

Авторы будут благодарны и признательны всем, кто пожелает высказать замечания и рекомендации по поводу настоящей работы.

ЧАСТЬ I

Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

ГЛАВА 1

Биология обыкновенной мидии *Mytilus edulis* L.

Обыкновенная (съедобная) мидия *Mytilus edulis* Linnaeus (1758) один из наиболее распространенных видов двустворчатых моллюсков.

Систематика вида:

Тип – Моллюски – *Mollusca*

Подтип – Раковинные – *Conchifera*

Класс – Двустворчатые моллюски – *Bivalvia*

Подкласс – Жаберные – *Autobranchia*

Отряд – *Mytiliformes*

Семейство – Митилиды – *Mytilidae*

Подсемейство – *Mytilinae*

Род – *Mytilus*

Вид – мидия обыкновенная (съедобная) – *Mytilus edulis*

Мидии широко распространены в морях Северного Ледовитого, Тихого и Атлантического океанов (Newell, 1989). В Тихом океане мидии обитают в Охотском и Беринговом морях. В Атлантическом океане они распространены на юге до Южной Каролины (США), встречаются у берегов Западной Гренландии и у Исландии, в Европе – от Балтийского моря до Бискайского залива. В северном полушарии поселения мидий доходят до берегов Канадской Арктики, Гренландии и Новой земли. В Северном Ледовитом океане встречаются в Баренцевом и Белом морях, реже – в Карском и Чукотском морях (Newell, 1989; Гудимов www.kolasc.net.ru).

Двустворчатые моллюски, в том числе мидия обыкновенная *Mytilus edulis*, имеют большое промысловое значение. Благодаря повсеместному распространению в акваториях морей, высокой скорости роста и доступности сбора не только в пределах марикультуры, но и в естественных условиях обитания, простоты

выращивания и вкусовым качествам мяса, мидии служат объектом промысла и культивирования во многих странах (Кулаковский, 2000; Berger, 2001; Гудимов www.kolasc.net.ru).

В качестве фильтраторов двустворчатые моллюски играют важную роль в очистке водоемов. Вместе с пищевыми частицами моллюски собирают чужеродные или вредные вещества, которые накапливаются в их организме. Способность аккумулировать разные частицы создает возможность использования двустворчатых моллюсков, в том числе мидий, для контроля и улучшения качества воды, а также они могут служить индикаторами состояния окружающей среды (Вестхайд, Ригер, 2008).

1.1.1 Особенности внешнего и внутреннего строения *Mytilus edulis* L.

Раковина у мидий клиновидно-овальная с симметричными створками и сине-фиолетовым перламутром. Передний конец раковины заостренный, а задний заметно округленный (рис.1). Спинной край выпуклый, тогда как брюшной немного вогнутый. Стенки раковины состоят из трех слоев: наружного (периостракум) – конхионлинового, внутреннего (остракум) – известкового и нижнего (гипостракум) – перламутрового. Прирост раковины осуществляется краем мантии. На раковине находятся концентрические линии, отражающие неравномерный рост моллюска в изменяющихся условиях среды обитания. Створки раковины соединяются на спинной стороне связкой – лигаментом, состоящим из утолщенного рогового слоя раковины. Створки раковины живого моллюска могут плотно смыкаться. Для этого служат мускулы–замыкатели (толстые пучки мышц, аддукторы). При их сокращении створки закрываются, а при расслаблении открываются. Механизму раскрытия створок способствует лигамент, который в положении закрытой раковины находится в натянутом состоянии, а при расслаблении мускулов-замыкателей приходит в исходное положение, раскрывая створки (Шарова, 2002; Invertebrate Anatomy OnLine), т.е. аддукторы действуют как антагонисты по отношению к напряжению эластичного лигамента. (Вестхайд, Ригер, 2008).

Нога у мидий – это мышечный вырост, который в связи с неподвижным образом жизни моллюска в естественной среде обитания не выполняет функцию перемещения, а в основном служит для выделения биссусных нитей, поскольку в ней располагается биссусная железа (Invertebrate Anatomy OnLine). Биссусные железы состоят из многих частей, производящих разные типы секрета: фенольные протеиды с высоким содержанием глицина, полифенолоксидазу и другие компоненты, совместно образующие затвердевающий материал, выходящий из биссусной ямки. До 75% массы нитей и до 26% массы прикрепительных дисков составляет коллаген (Вестхайд, Ригер, 2008). Мидии прикрепляются к субстрату (камень, щебень или другая мидия) при помощи пружинящих биссусных нитей, вследствие чего формируются их крупные поселения – «мидиевые банки» (рис.2).



Рис. 1. Мидия обыкновенная *Mytilus edulis* L. (1758)



Рис. 2. Литоральные мидии. Мидиевая банка о. Матренин (губа Чупа, Кандалакшский залив Белого моря) (фото Фокиной Н.Н.)

Мантия у мидий состоит из двух боковых листков, свешивающихся со спины и по бокам к брюшной стороне, целиком охватывая мягкое тело. Пространство между складками мантии носит название мантийной полости, в которой содержится морская вода. Два листка соединены друг с другом на спинной стороне и прикреплены к створкам вдоль мантийной линии. Мантия состоит из трех слоев: наружный, средний и внутренний. Наружный слой мантии железистый, выделяет раковину. Внутренняя поверхность мантии покрыта мерцательным эпителием, движение ресничек которого обеспечивает ток воды в мантийной полости. Кроме того, внутренний (мышечный) слой образует заметный выступ, который располагается вдоль края мантии и простирается тонким гребнем по всей ее длине, прикрепляясь к створкам раковины. Мантийные листки образуют брюшное (вводное) отверстие, через которое вода втекает в мантийную полость, и спинное (выводное) отверстие, через которое вода вытекает. Из мантийных лепестков образуются трубковидные выросты – сифоны, на конце которых вводное и выводное отверстие (Шарова, 2002; Вестхайд, Ригер, 2008; Invertebrate Anatomy OnLine).

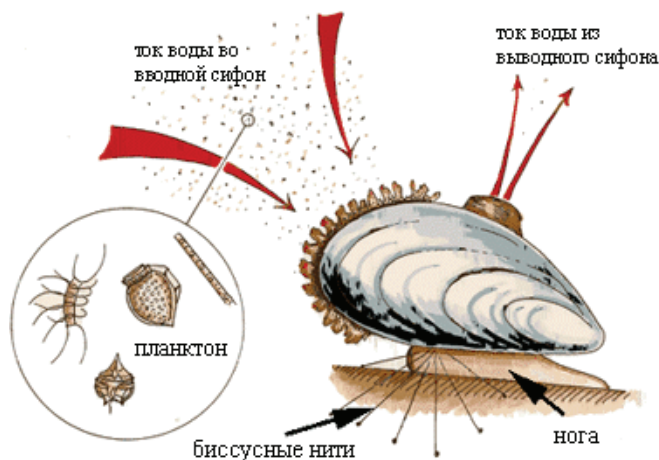


Рис. 3. Схема дыхания и питания мидий
(адаптировано из www.weichtiere.at).

Мантийная полость простирается с обеих сторон тела между ногой и внутренней поверхности мантийного листка. Самыми заметными органами в мантийной полости являются жабры. Органы дыхания у мидий представлены нитевидными жабрами – ктенидиями. Жаберные лепестки удлинены в нити, которые спадают в нижнюю часть мантийной полости, а затем загибаются вверх. При этом соседние нити скрепляются друг с другом с помощью жестких ресничек, образуя пластинки (Шарова, 2002). Жабры разделяют мантию на брюшную и спинную полость. Вода из вводного сифона поступает в брюшную полость, затем проходит между жаберными нитями, направляется в спинную полость и через выводной сифон попадает наружу (рис. 3). Жабры – это не единственный дыхательный орган у мидий. Внутренняя поверхность складок мантии также ответственна за поступление газа, однако, основные дыхательные поверхности – это парные складчатые органы. Они образованы продольным рядом поперечных слоев эпителия и располагаются между жабрами и внутренними органами. Складчатые органы пронизаны большим количеством сосудов (сильнее васкуляризованы), чем жабры (Invertebrate Anatomy OnLine).

Пищеварительная система двустворчатых моллюсков отличается своеобразием в связи с пассивным способом питания путем фильтрации. У них имеется фильтрующий аппарат. Вода, приносящая через вводной сифон в мантийную полость моллюска пищеварительные частицы и кислород (рис.3), омывает жабры и ротовые лопасти. Движение воды в мантийной полости обеспечивается мерцательным эпителием, покрывающим жабры, ротовые лопасти и внутреннюю поверхность мантии. Крупные особи могут пропускать через мантийную полость до 70 л воды в сутки. На жабрах и ротовых лопастях имеются рецепторные клетки (органы вкуса) и ресничные желобки, в которых пищевые частицы сортируются от минеральных; далее с током воды органический материал направляется к ротовому отверстию (Шарова, 2002). Непригодные частицы с помощью слизи, образованной многочисленными мантийными железами, свертываются в длинные колбаски и удаляются из мантийной полости в качестве «псевдофекалий» (Вестхайд,

Ригер, 2008). Из ротовой полости пища поступает в пищевод, а затем в желудок, где имеется «кристаллический стебелек», выделяющий пищеварительные ферменты (Шарова, 2002). Кроме того, в желудок впадают протоки двуплодной пищеварительной железы (так называемый, гепатопакреас), с помощью которой осуществляются основные процессы внутриклеточного и внеклеточного пищеварения. Важными функциями этого органа служит запасание питательных веществ, необходимых для развития гонад, а также детоксикация ксенобиотиков органической и неорганической природы (Raspor et al., 2005, Ушева и др., 2006). Через среднюю кишку экскременты попадают в мантийную полость, а из нее с током воды выбрасываются через выводной сифон наружу (Шарова, 2002).

Взрослые мидии и их личинки питаются планктоном, фильтруя органические частички из толщи воды (Newell, 1989; Иванов и др., 1989). Помимо фитопланктонных клеток – основного пищевого источника, мидии питаются детритом, бактериями и мелким зоопланктоном. В среднем она извлекает около 50 мг белка из 1 м³ воды (Маслов, 1999). Отмечено, что пищевой спектр мидий близок по составу планктона, взятому на месте их обитания (Иванов и др., 1989). Фитопланктон Белого моря представляет собой качественно обедненный планктон Баренцева моря с большой примесью литоральных эпифитных и пресноводных форм (Белое море, 1995). Обилие планктонных организмов зависит от множества причин и изменяется от сезона к сезону. Причем в разные годы, в зависимости от погодных условий, динамика обилия планктона не одинакова. Обычно с началом гидрологической весны (первая декада апреля) количество планктонных организмов начинает увеличиваться и достигает максимума в середине лета, а затем постепенно снижается (Наумов, Федяков, 1993). Весенняя вспышка биомассы и численности водорослей начинается подо льдом и после вскрытия льда достигает максимума. Фитопланктон представлен видами диатомового комплекса: *Fragilaria oceanica*, *Chaetoceros holsaticus*, *Nitzschia frigida*, *Naticula septentrionalia*. Первый летний максимум развития фитопланктона обусловлен увеличением числа

диатомовых водорослей, после спада их численности «подхватывается» перидиниевыми водорослями, образующими второй летний максимум. Доминирующими формами биологического лета являются *Skeletonema costatum* и виды рода *Chaetoceros*, главным образом *Chaetoceros compressus*. Осенняя вспышка фитопланктона выражена слабо, по росту биомассы ее выделить трудно (Белое море, 1995). Годовой рост моллюсков обусловлен обилием фитопланктона в весенне-летний период, в то время как в летне-осенний период скорость роста уменьшается вслед за уменьшением концентрации фитопланктона в воде. В зимний период основную часть рациона мидий составляет детрит, а фитопланктон представлен единичными клетками. В это время утилизируются запасенные энергетические резервы организма, наблюдается резорбция гонад, происходит сильное замедление и остановка роста (Иванов и др., 1989; Гудимов www.kolasc.net.ru).

Органы выделения у мидий – парные почки (у двустворчатых моллюсков они носят название боянусовые органы), располагающиеся у верхней стенки мантийной полости, у основания жабр. Каждая почка соединяется с полостью перикардия, а другим концом – с мантийной полостью. У мидий перикардии также выполняет выделительную функцию (Шарова, 2002; Invertebrate Anatomy OnLine).

Нервная система мидий упрощена, по сравнению с брюхоногими моллюсками, и состоит из цереброплевральных и висцеропариетальных сдвоенных узлов, а также pedalных ганглиев, расположенных в ноге (Шарова, 2002). По мягкому телу распределены многочисленные, в основном, одноклеточные рецепторы, которые местами образуют пятна.

Сердце двустворчатых моллюсков расположено на спинной стороне и состоит из одного желудочка и двух предсердий. Сквозь желудочек сердца проходит задняя кишка. Кровь циркулирует по сосудам и лакунам. Венозная кровь от внутренних органов собирается в крупную продольную лакуну под сердцем. Из лакуны кровь переходит в приносящие жаберные сосуды. Окисленная артериальная кровь из жабр по выносящим сосудам возвращается в серд-

це. Частично кровь, минуя жабры, проходит через почки, освобождаясь от продуктов обмена, и вливается в выносящие жаберные соуды, впадающие в предсердие (Шарова, 2002).

1.1.2 Половая система и развитие *Mytilus edulis* L.

Мидии *Mytilus edulis* – раздельнополые животные. Они достигают половозрелости в возрасте 2–3 года (размер раковины 20–35 мм), или, по другим данным, при размерах раковины 10–14 мм на литорали и 20–26 мм в сублиторали (Максимович, 1985; Наумов, 2006). Известно, что размножение мидий может быть стимулировано незначительным повышением температуры воды, изменением солености, механическими повреждениями, волновой активностью, осушением и высокой концентрацией фитопланктона в воде (Newell, 1989). У *Mytilus edulis* L. из Белого моря размножение начинается в конце гидрологической весны, когда температура воды в местах обитания моллюсков достигает 10–13° С. Для литоральных и верхних сублиторальных поселений мидий это время обычно приходится на первую половину июня (Кулаковский, 2000).

Мантия – основное место развития гонад у двустворчатых моллюсков рода *Mytilus*. Ткани мантии содержат запасующие клетки (адипогранулярные и васкулярные клетки), которые образуют матрикс из соединительной ткани, поддерживающий фолликулы гонад, в которых происходит дифференциация и созревание гамет. Количество фолликулов в соединительной ткани различно и зависит от стадии годового репродуктивного цикла. В период своей зрелости гонады у самцов кремового цвета, тогда как у самок – красновато-оранжевые (Mikhailov et al., 1995; Invertebrate Anatomy OnLine). Однако, по мнению некоторых авторов, такое определение пола у *Mytilus edulis* не надежно, даже в период размножения моллюсков (Максимович, 1985; Mikhailov et al., 1995; Hines et al., 2007; Petes et al., 2008), поскольку оранжевая окраска мантии у мидий может принадлежать не только самкам, но и самцам. Известно, что цвет гонад у морских беспозвоночных может изменяться в

зависимости от пищи, сезона, возраста, местообитания и репродуктивной стадии. Стрессовое воздействие окружающей среды может приводить к негативным последствиям, включая снижение роста, изменение метаболических скоростей, снижение плодовитости, и смертность. Активные формы кислорода, образующиеся в прибрежных организмах вследствие теплового стресса во время воздействия воздуха при отливе, опасны для ДНК, липидов и белков. Пигменты – каротиноиды, которые ответственны за оранжевую окраску гонад мидий, известны своими антиоксидантными свойствами. Возможно, каротиноиды как у самок, так и у самцов мидий с литоральных зон защищают гаметы от окислительного стресса (Petes et al., 2008). Наряду с методом визуального определения пола, гистологический метод – это основной и относительно точный способ идентификации пола у двустворчатых моллюсков. Однако, этот метод непригоден для отнерестившихся мидий, так как он основан на присутствии яйцеклеток или спермы в фолликулах матрикса мантии. В дополнение к традиционному гистологическому методу известны три современные методики определения пола, основанные на ПЦР анализе, спектрофотометрии липидного раствора, а также метод ЯМР (Hines et al., 2007). Кроме того, у мидий *Mytilus galloprovincialis* выделен и охарактеризован специфический белок – MAP-39, концентрация которого в зрелых гонадах у самца достигает 10%, тогда как у самок он обнаруживается в следовых количествах (Mikhailov et al., 1995).

Репродуктивный цикл мидий можно условно подразделить на следующие периоды (по Максимовичу, 1985):

0 – посленерестовое состояние (период репродуктивного покоя). Гонады заполнены соединительной тканью. Ацинусы исчезают.

I – медленный гаметогенез. Формируются ацинусы. Пролиферация гониев и их дальнейшее развитие: у самок – до ооцитов, у самцов – до сперматозоидов.

II – активный гаметогенез. Ацинусы заполнены половыми клетками на разных стадиях развития вплоть до морфологически зрелых гамет.

III – созревание и нерест мидий. Обычно в период нереста (стадия III в цикле гаметогенеза) выделяют 4 этапа (Gabbott, 1983; Максимович, 1985):

III_A – созревание гамет, преднерестовое состояние. У самок – ооциты теряют связь с базальной мембраной, а у самцов сохраняются только 1-2 периферических слоя сперматогониев, а просвет акинусов полностью заполнен сперматозоидами;

III_B – частичный или полный вымет гамет;

III_C – резорбция остаточных половых продуктов или восстановление гонад моллюска для следующего вымета;

III_D – полный вымет гамет или промежуточная подстадия перед периодом репродуктивного покоя (стадия 0).

Хотя для мидий Белого моря характерно наличие неполностью отнерестившихся особей после массового вымета гамет (*III_B* – июнь), повторный нерест (*III_D*) у них обычно не наблюдается, поэтому после этапа *III_B* у них начинается резорбция остаточных половых продуктов (*III_C*) и переход на стадию 0 (репродуктивный покой), т.е. стадию интенсивного соматического роста (Максимович, 1985).

Половые продукты выметываются в воду. После оплодотворения образующиеся личинки, представляющие собой бластулу, приобретают способность к активному плаванию. Затем формируется следующая стадия развития – конхостома, которая проявляется в ускоренном развитии раковинной железы. После происходит «выворачивание» раковинной железы и формируется следующая стадия – трохофора. Стадия трохофоры непродолжительна и она заканчивается образованием велигера (рис.4), который превращается в педивелигера и на этой стадии личинка готова к оседанию и метаморфозу (Кулаковский, 2000; Шарова, 2002). В Белом море личинки мидий, достигнув стадии велигера и педивелигера, способны длительное время (около месяца) находится в составе планктона в поисках оптимальных условий для последующего оседания и метаморфоза (Кулаковский, 2000). Массовое появление личинок в планктоне Белого моря отмечено в середине июля (Наумов, 2006). Стадия личинки длится примерно от 15 до 35 дней, и

длительность зависит от условий среды обитания, так как устойчивость мидий на личиночной стадии к изменениям окружающей среды ниже, чем у взрослого организма (Newell, 1989). Впоследствии педивелигер оседает на дно или на другие различные субстраты, прикрепляясь биссусной нитью, теряет парус и превращается во взрослого моллюска (Кулаковский, 2000; Шарова, 2002). Впоследствии молодь мигрирует вверх по литорали и в сублитораль. Известно, что взрослые особи не теряют способности к передвижению, хотя темп миграции у них существенно ниже (Наумов, 2006).

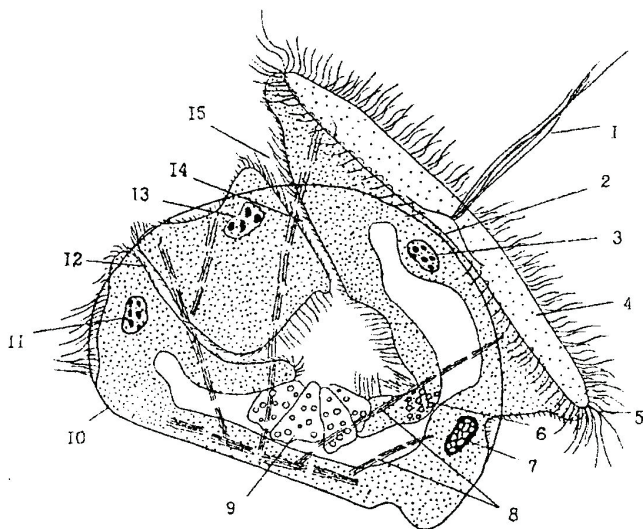


Рис. 4. Личинка мидии в стадии велигер (Кулаковский, 2000)

1 – апикальный султанчик, 2 – теменная пластинка, 3 – цереброплевральный ганглий, 4 – парус, 5 – преоральный шнур паруса, 6 – железа кристаллического стебелька, 7 – передний аддуктор, 8 – мышцы-ретракторы паруса, 9 – пищеварительная железа (печень), 10 – раковина, 11 – висцеропариетальный ганглий, 12 – задняя кишка, 13 – педальный ганглий, 14 – пищевод, 15 – рот

Продолжительность жизни мидий на литорали Белого моря составляет примерно 5–6 лет (по другим данным до 12 лет), а на сублиторали возможна от 10 до 17 лет (Сухотин и др., 1992; Наумов,

2006). В отличие от многих водных организмов, большинство беспозвоночных животных, в том числе и моллюски *Mytilus edulis* L., продолжают расти в течение всей жизни, поэтому процесс старения у них сопровождается постоянным увеличением размера тела, а также изменениями в распределении энергии (Sukhotin et al, 2002). Соматический рост уменьшается, хотя репродуктивная деятельность увеличивается. Это происходит в результате изменений основных физиологических коэффициентов – скорости метаболизма и условий питания. Известно, что малоподвижные бентосные животные из сублиторальной и литоральной зон, также как и из различных уровней приливной зоны, характеризуются ярко выраженными отличиями по некоторым физиологическим параметрам. В приливной зоне животные постоянно подвергаются воздействию гипоксии во время отлива. Этот процесс в значительной степени влияет на рост и, возможно, на процессы старения, так как скорость метаболизма сильно снижается во время гипоксии. Исследования показали, что у мидий после шестилетнего возраста уменьшается скорость роста и увеличивается смертность в результате предполагаемого снижения аэробного обмена (Sukhotin, Portner, 2001).

I.1.3 Паразиты мидий *Mytilus edulis* L.

Известно, что мидии обладают большим разнообразием паразитов и комменсалов. Для обыкновенной мидии отмечаются 28 видов паразитов и комменсалов, относящихся к 6 классам. Мидии, обитающие на литорали и в верхней сублиторали Белого моря, на 46,9% инвазированы метацеркариями трематод (Кулаковский, 2000). Беломорские *Mytilus edulis* служат первым промежуточным хозяином для трематод *Proisorhynchus squamatus*. Спороцисты, содержащие церкарий, могут локализоваться в любых органах моллюска и вызывать паразитарную кастрацию. Причем сублиторальные поселения мидий сильнее заражены *Proisorhynchus squamatus* (Galaktionov, 2001; Наумов, 2006). Для других видов трематод в частности, *Gymnophalus choledochus*, *Himastla elongata* и *Cercaria parvicaudata*, мидии играют роль вторых промежуточных хозяев (Наумов, 2006). У моллюсков, зараженных *Gymnophalus*

choledochus, метацеркарии которых локализуются в гонадах и пищеварительной системе, вызывая некроз тканей, возможно образование жемчуга. Трематоды рода *Himastla* и *Cercaria* инцистируются главным образом в печени моллюска (Наумов, 2006). Метацеркарии трематод, которые паразитируют в беломорских моллюсках, используют птиц в качестве конечных хозяев. Не исключается возможность, что некоторые из них могут поселяться в кишечнике человека, если в пищу использовался сырой моллюск. Однако данное предположение экспериментально не доказано (Galaktionov, 2001).

В других морях среди паразитов мидий отмечены также книдоспории, различные инфузории, брюхоногие моллюски и ракообразные (Кулачкова, Гроздилова, 1982).

На открытых, мелководных и густо заселенных мидиевых банках Белого моря, преимущественно на литорали и верхней сублиторали до глубины 1,5 м, в тканях моллюсков поселяется зеленая водоросль рода *Nannochloris*. Скопления данных водорослей заметны на тканях мидий в виде темно-зеленых пятен. Раковины таких моллюсков деформированы с переднего края, а пораженные части гонад имеют недоразвитый вид. Поселение этой водоросли вызывает дегенерацию гонад мидий, морфологически выраженную в общем отставании их развития от гонад непораженных особей (Максимович, 1985; Наумов, 2006). Количество мидий, инфицированных зелеными водорослями, варьирует от 80–90% до нуля в различных районах Кандалакшского залива Белого моря. Отмечено, что водоросли обнаруживаются в тканях мидий, обитающих на мидиевых банках недалеко от поселений человека. Предполагается, что иммунная система мидий ослаблена в результате влияния загрязнения от потока сточных вод, что в свою очередь усиливает развитие у них зеленых водорослей. Кроме того, загрязнение понижает соленость воды, что также стимулирует рост водорослей, приводя к снижению функциональной активности мидий (Galaktionov, 2001).

В мантийной полости мидий Белого моря поселяются некоторые виды комменсалов, к которым относятся ракообразные (*Tisbe*

furcata), турбеллярии (*Urastoma cyprinae*) и инфузории (*Ancistrum mytili* и *Peniculistoma mytili*). Эти организмы не приводят к видимым патологическим изменениям у беломорских мидий. Преобладание инфузорий иногда достигает 100%, что может ослаблять организм мидий (Galaktionov, 2001).

Поскольку паразиты вызывают существенные изменения в организме моллюсков, необходимо подчеркнуть влияние паразитарной инвазии на их устойчивость к ряду факторов среды обитания. Известно, что зараженные особи обычно менее резистентны к действию таких неблагоприятных факторов среды, как пониженное содержание кислорода (Oliver, Brand, 1953) и высокие температуры (Vernberg, Vernberg, 1963). Кроме того, показано существенное влияние паразитов на соленостные адаптации морских моллюсков. Трематоды, для которых моллюски служат одним из основных промежуточных хозяев, резко снижают их устойчивость к опреснению морской воды и некоторым другим абиотическим факторам, нарушая механизмы, обеспечивающие герметизацию мантийной полости при экстремально низкой солености. Однако выявлено, что паразиты не влияют на способность хозяина к адаптивным фенотипическим преобразованиям осмотической толерантности (Бергер, 1986).

I.1.4 Особенности среды обитания мидий *Mytilus edulis* L. Литораль и сублитораль

Мидии распространены в умеренных и тропических водах Мирового океана. Широкое географическое и вертикальное распределение возможно благодаря высокой пластичности реакций на разных уровнях организации в ответ на изменения условий среды (Луканин, Лангуев, 1982).

Мидии преимущественно обитают в литоральных и мелководных сублиторальных зонах мирового океана (Бергер, Луканин, 1985) (рис.5). **Литораль** (приливно-отливная полоса или зона осушения) расположена между уровнем стояния воды в самый низкий (сигизийный) отлив и максимальным уровнем воды в самый высо-

кий (сигизийный) прилив. Сверху ограничена – **супралиторалью** (зона «заплеска»), снизу – **сублиторалью**.

Супралитораль – зона заплеска, расположенная выше уровня сигизийных приливов. Ширина ее в Белом море сильно варьирует. На крутых скальных побережьях она практически не выражена, тогда как на пологих песчаных или каменисто-галечных пляжах может достигать десятки метров. Супралиторальные ванны и лужи на Белом море образуются редко. На побережьях Белого моря в супралиторали чаще всего формируется вал штормовых выбросов, состоящих из различных водорослей, бревен, щепок, хозяйственных выбросов и т.п. Важной особенностью данного биоценоза является то, что стабильность его состава и межвидовых связей поддерживается постоянными катастрофами – периодическим смыванием и обновлением состава. Для нормального функционирования супралиторальной экологической системы необходимо не регулярное, но постоянное увлажнение, вымывание разрушенной органики и привнесение новых макрофитов (Белое море, 1995).

Литораль – это часть морского дна, которая непосредственно примыкает к суше и находится под влиянием материкового стока, опресненного и насыщенного органикой. В зависимости от уклона дна и амплитуды приливно-отливных колебаний ширина литорали может быть от нескольких метров до многих километров (Белое море, 1995). Литоральная среда обитания, по сравнению со всеми морскими системам, более изменчива по ряду таких факторов, как температура, соленость, длительность воздействия воздуха и концентрация взвешенного питательного вещества (Newell, 1989). Систематические колебания приливно-отливного уровня определяют вертикальную зональность литорали. Она обусловлена как продолжительностью осушения, так и рядом факторов, опосредованных водой: соленостью, освещенностью, гидростатическим давлением, гранулометрической дифференцировкой осадка и другими. Сложность абиотической ситуации на литорали и особенности экологии видов сказываются на распределении биоты, поражающей своей мозаичностью (Белое море, 1995).

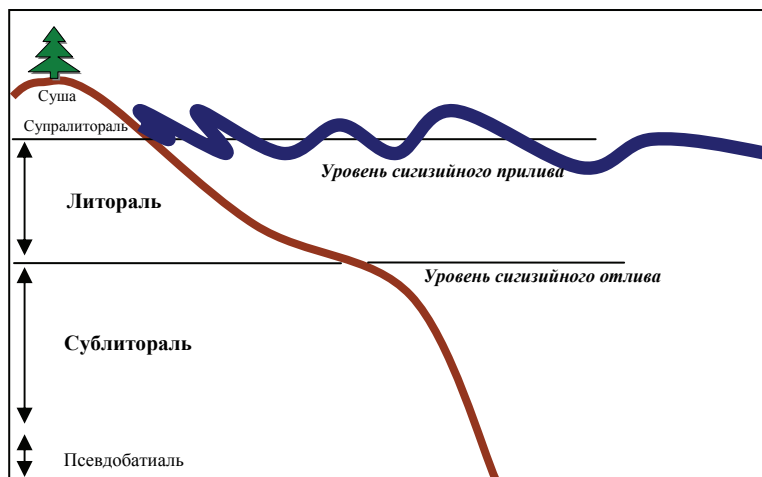


Рис. 5. Схема вертикальной зональности Белого моря (адаптировано из Белое море, 1995)

Сублитораль – наиболее сложно расчлененная зона Белого моря. Вертикальная поясность в пределах сублиторали определяется в основном условиями освещенности, а гидрологические и эдафические факторы имеют второстепенное значение. До глубины 10 м сказывается интенсивное ветровое перемешивание, а также вся эта область находится под влиянием сильных приливно-отливных и поверхностных постоянных течений, что в сочетании со сложным, в значительной степени, расчлененным рельефом дна приводит к ярко выраженной мозаичности распределения грунтов, что в свою очередь влечет к мозаичности распространения биоценозов бентоса (Белое море, 1995).

В Белом море мидии *Mytilus edulis* распространены по всей акватории, главным образом в поверхностных зонах, наиболее прогреваемых в летний период. Одиночные экземпляры встречаются как в верхних горизонтах литорали и в сублиторали, так и на значительных глубинах – 265 м. Исходя из этих особенностей распределения, можно заключить, что мидии обитают в широком диапазоне соленостей. На глубинах Белого моря, начиная

приблизительно от 130–140 м, морская вода имеет соленость от 28–30‰. В поверхностных слоях воды, омывающих литораль, соленость значительно понижается, особенно в весенне-паводковый период, когда она может опускаться до 10‰ и даже до более низких величин осенью при выпадении большого количества осадков. Массовые поселения («мидиевые банки») обнаруживаются в более узкой вертикальной зоне моря: от среднего горизонта литорали до глубин порядка 10–15 м, то есть в зоне наименее устойчивого солёностного режима (Бергер, Луканин, 1985). Литоральные мидии обычно невелики и в их поселениях преобладают некрупные моллюски (редко превышают 30 мм), что указывает на относительно высокую смертность – моллюски не успевают дорасти до значительных размеров. На сублиторали, наоборот, мидии крупные, часто достигают 50–70 мм в длину (Наумов, Федяков, 1993). В верхних участках литорали условия среды наиболее неблагоприятны. В возрастной структуре здесь преобладают (до 86%) половозрелые моллюски старших поколений, как наиболее устойчивые к действию экстремальных значений температуры, солёности, времени осушения и т.д. (Луканин, Лангуев, 1982). Молодые моллюски характеризуются низкой устойчивостью к опреснению, особенно весеннему (Бергер, Луканин, 1979), обсыханию (Соколова, 1963) и другим факторам среды. В стрессовых ситуациях даже у половозрелых особей многие функции угнетаются (Голиков, Смирнова, 1974), а молодые неполовозрелые формы вообще погибают (Бергер, Луканин, 1979). Таким образом, молодь (возраст 0+, 1+), имеющая ограниченные возможности приспособления к изменениям солёности и другим абиотическим факторам среды обитает преимущественно в верхней сублиторали, где не так сильно воздействие на организм колебаний солёности и осушения. Взрослые особи, обладающие максимальной осмотической устойчивостью и толерантностью, составляют основную часть населения на высоких горизонтах осушной зоны, характеризующейся меньшей стабильностью гидрологического режима (Бергер, 1986). Имея столь широкий ареал, подобный которому трудно найти у другого вида моллюсков, мидии *Mytilus edulis* существуют в условиях, резко

различающихся по температуре, солености и другим факторам среды, что оказывается возможным благодаря их эврибионтности (Бергер, Луканин, 1985).

I.1.5 Марикультура *Mytilus edulis* L.

Среди различных объектов марикультуры большое внимание уделяется представителям беспозвоночных животных, среди которых одно из первых мест занимают мидии. В Европе наибольшие успехи в культивировании мидий достигнуты в Испании, Франции, Нидерландах. В последнее время сфера марикультуры мидий расширились как в Европе, так и во всем мире (Италия, Дания, Германия, Норвегия, Швеция, Филиппины, Таиланд, Япония, Корея, США, Канада) (Кулаковский, 2000).

Все существующие в настоящее время способы культивирования мидий основаны на двух основных приемах – выращивание моллюсков на грунте или в поверхностных слоях воды.

В Нидерландах и некоторых других странах (Дания, Германия) используется «голландский» способ культивирования мидий, суть которого заключается в следующем: молодь мидий из естественного местообитания переносят на предварительно подготовленный участок дна, в места с более подходящими условиями для роста. Выращивание в грунте осложняется тем, что мидии подвержены прессу хищников – морских звезд и крабов, а также паразитарным инвазиям. Кроме того, моллюски сильно загрязнены частичками грунта.

На атлантическом побережье Франции широко распространен «метод бушо». На побережье устанавливается ряд свай, в виде забора («бушо»). На сваи по всей их длине по спирали укладывается веревка (или другой субстрат), на которой уже находится молодь мидий. Существенным недостатком такого способа марикультуры является загромождение прибрежных зон побережий.

Принципиальной модификацией способа выращивания мидий в толще воды является метод подвесной марикультуры, который также используется при культивировании *Mytilus edulis* в Белом море (рис. 6, 7). Он основан на использовании различного рода



Рис. 6. Подвесная мидиевая аквакультура. Коллекторы (фото Бахмета И.Н.)

носителей (плотов) для искусственных субстратов, постоянно находящихся на поверхности воды и закрепленных на якорях. К этим носителям подвешиваются искусственные субстраты, на которых происходит оседание личинок мидий и последующий рост молоди. Такой способ культивирования позволяет использовать для марикультуры более глубоководные районы акваторий. При подвесном плотовом культивировании, у осевших на искусственные субстраты моллюсков, имеются наиболее благоприятные условия для развития. Они находятся вне зависимости от приливов и отливов, в наиболее прогреваемом и богатом пищей поверхностном слое воды, у них ограничен контакт с грунтом и хищниками (в частности, морскими звездами). Такая ситуация благоприятно сказывается на темпах роста моллюсков, которые в гораздо меньшей степени подвержены как паразитарным инвазиям,



Рис. 7. Подвесная аквакультура мидий. Субстрат с мидиями (фото Бахмета И.Н.)

так и загрязнению частичками грунта (Кулаковский, 2000; Berger, 2001).

В настоящее время принцип метода подвешного культивирования в различных модификациях широко используется во всех странах, где ведется промышленная марикультура моллюсков (Кулаковский, 2000).

ГЛАВА 2

Состав липидов беломорских мидий *Mytilus edulis* L.

1.2.1 Суммарные липиды и их основные классы

Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря существенно не отличается от такового у представителей класса *Bivalvia* (Acknam et al., 1974; De Moreno et al., 1976 а,б; Paradis, Ackman, 1977; Pollero et al., 1979; Mahmoud et al., 1980; Pollero et al., 1981; Takenaka et al., 1988; Fouad et al., 1992; Gillis, Ballantyne, 1999 а, б; Uno et al., 2000; Voogt, 1983; Lubet et al., 1985; Костецкий, 1985; Wenne, Styczynska-Jurewicz, 1987; Ромашина и др., 1987; Жукова, 1992; Кашин, 1997; Freites et al., 2002 а,б; Meireles et al., 2003; Kawashima, Ohnishi, 2003; Saito, 2004; Кандюк и др., 2006).

У беломорских мидий *Mytilus edulis* L. уровень общих липидов (ОЛ) колеблется от 11,6 до 23,2 мг на 1г ткани. В тоже время для *Mytilus edulis* из других морей показана концентрация ОЛ равная от 10 до 16,5 мг на 1 г ткани (Ромашина и др., 1987; Кашин, 1997). У морских двустворчатых моллюсков *Chlamys tehuvelcha* она достигала 9,0 мг/г ткани (Pollero et al, 1979), а у обитателей Белого моря *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* – 13,8 и 17,6 мг/г ткани, соответственно. Уровень общих липидов морских двустворчатых моллюсков схож с таковым пресноводных *Bivalvia* и составлял 7,9 и 9,6 мг/г у *Unio pictorum* и *Dreissena polymorpha*, соответственно (Кашин, 1997).

В тканях *Mytilus edulis* из Белого моря, как и у других двустворчатых моллюсков, присутствуют все основные классы липидов. Для морских моллюсков характерно высокое содержание как запасных (ТАГ и ЭХС), так и структурных (ФЛ и ХС) липидов (рис.8). Липидный состав беломорских мидий, обитающих на искусственных субстратах марикультуры, отличается повышенным

содержанием холестерина и триацилглицеринов. У двустворчатых моллюсков семейства *Hiattellidae* – *Hiattella arctica*, которые совместно с мидиями являются типичными обитателями сообществ обрастаний, в составе общих липидов доминируют фосфолипиды. Двустворчатый моллюск модиолус *Modiolus modiolus* (сем. *Mytilidae*) – типичный обитатель сублиторальной зоны Белого моря, который в отличие от мидий предпочитает места обитания, лишённые негативного воздействия окружающей среды, характеризуется высокими концентрациями запасных липидов (ТАГ и ЭХС) и пониженным содержанием холестерина.

Жирные кислоты у морских двустворчатых моллюсков встречаются в свободном и, главным образом, в связанном (этерифицированном) виде в составе эфиров холестерина, ацилглицеролов и фосфолипидов (Voogt, 1983). Жирнокислотный спектр *Mytilus edulis* из Белого моря характеризуется высокой степенью ненасыщенности, за счёт полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) с 2–6 двойными связями.

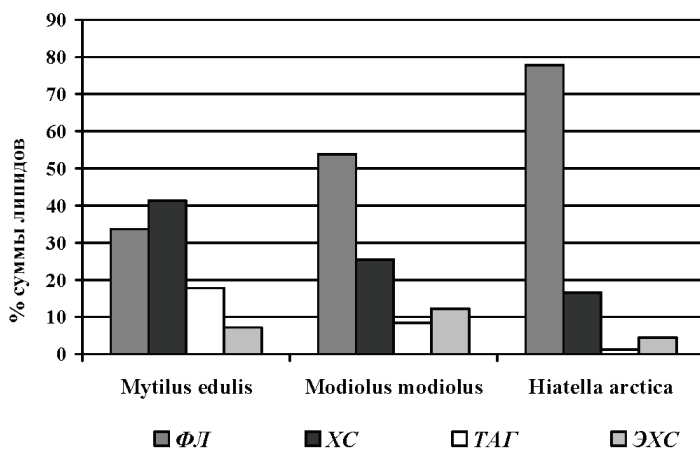


Рис. 8. Липидный состав (% суммы липидов) некоторых видов двустворчатых моллюсков Белого моря

ФЛ – фосфолипиды; ХС – холестерин; ТАГ – триацилглицерины; ЭХС – эфиры холестерина

1.2.1.1 Фосфолипиды и холестерин – основные структурные компоненты мембран

Мембраны играют ключевую роль как в структурной организации, так и в функционировании всех клеток. Они формируют внутриклеточные компартменты, а также участвуют в регуляции всех связей и взаимодействий, между наружной и внутренней сторонами компартментов (Геннис, 1995). Мембраны живых организмов участвуют во многих аспектах жизнедеятельности клеток, являясь барьером для воды и ионов, а также местом функционирования белков (ферменты, рецепторы и др.). С помощью мембранных рецепторов они реагируют на внешние сигналы и трансформируют их, передавая внутрь клетки существенную информацию (Болдырев и др., 2006). Основными структурными компонентами мембран являются липиды и белки (Quinn, Chapman, 1980; Геннис, 1997; Gibbs, 1998). Главная функция мембранных липидов состоит в том, что они формируют бислойный матрикс, с которым взаимодействуют белки (такие как, рецепторы, переносчики и ферменты), которые выполняют важные клеточные функции (Spector, Yorek, 1985; Геннис, 1997). Взаимодействие с липидами, содержащимися в липидном бислое, а также структура самого бислоя, могут изменять активность мембранных белков. В литературе описаны два возможных пути влияния мембраны на активность ферментов, встроенных к бислою: (1) мембрана, как матрикс для мембранных белков и (2) мембрана, как матрикс для гидрофобных субстратов (Spector, Yorek, 1985). Липидные компоненты представлены главным образом фосфолипидами и холестерином (Крепс, 1981; Spector, Yorek, 1985).

Фосфолипиды являются основными структурными элементами биологических мембран. Состав фосфолипидов, их жирнокислотный спектр, а также взаимоотношения с холестерином и белками определяют основные физические характеристики мембран, такие как жидкость и микровязкость (Bell et al., 1986; Hall et al., 2002; Los, Murata, 2004).

Структурные липиды – фосфолипиды и холестерин у морских и пресноводных двустворчатых моллюсков являются доминирующими и составляют значительную часть общих липидов. (33,7–

60,9% и 24,1-41,3% от суммы липидов, соответственно). Уровень фосфолипидов у девяти видов морских двустворчатых моллюсков, исследованных Костецким Э.Я. (1985), варьировал от 26,7 до 44,8% от общих липидов. У пресноводных моллюсков, в частности *Anodonta piscinalis* и *Dreissena polymorpha*, содержание фосфолипидов составляло 31,6–40,5% от общих липидов (Кашин, 1997).

Основными фракциями фосфолипидов у беломорских мидий являются фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилэтаноламин (ФЭА), а также в некоторых случаях значительную долю занимает лизофосфатидилхолин (ЛФХ). Кроме того, у мидий обнаружены минорные фосфолипиды мембран – фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилсерин (ФС) и сфингомиелин (СФМ) (рис. 9).

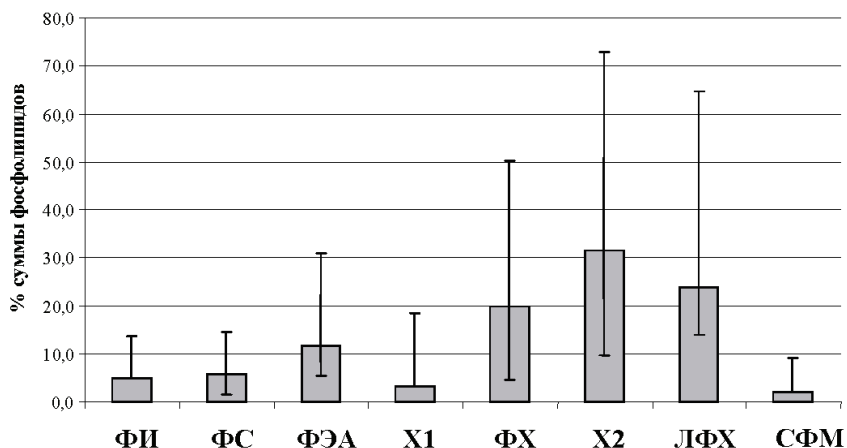


Рис. 9. Фосфолипидный состав беломорских мидий *Mytilus edulis* L.
(% суммы общих фосфолипидов)

ФИ – фосфатидилинозитол; ФС – фосфатидилсерин; ФЭА – фосфатидилэтаноламин; ФХ – фосфатидилхолин; ЛФХ – лизофосфатидилхолин; СФМ – сфингомиелин; X1 и X2 – неидентифицированные фракции липидов

У представителей рода *Mytilus*: *M. edulis* (Ромашина и др., 1987), *M. platensis* (De Moreno et al., 1976a), *M. galloprovincialis* (Freites et al., 2002a) и *M. trossulus* (Uno et al., 2000) среди основ-

ных фракций фосфолипидов показано доминирование ФХ (36,8–43,1% от общих фосфолипидов) и ФЭА (25,3–38,5% от общих фосфолипидов). В тканях морских двустворчатых моллюсков помимо ФС, ФИ и СФМ отмечается присутствие дифосфатидилглицерина (кардиолипин, КЛ) (Pollero et al., 1979; Ромашина и др., 1987; Кашин, 1997; Uno et al., 2000). Причем у морских двустворчатых моллюсков выделено три типа кардиолипина, которые отличаются между собой жирнокислотным составом. Так, например, для морских мидий, гребешков и устриц, характерен кардиолипин первого типа, в жирнокислотном составе которого преобладает докозагексаеновая 22:6n-3 кислота. Различия в жирнокислотном составе КЛ объясняются особенностями выбора пищевых ресурсов. Поскольку у двустворчатых моллюсков ограничен или вообще отсутствует синтез C20-C22 ПНЖК с более чем тремя двойными связями, они приобретают большинство полиеновых жирных кислот, в частности 20:5n-3 и 22:6n-3, из пищи, богатой ими (Kraffe et al., 2008). Предполагается, что наличие КЛ, обогащенного докозагексаеновой кислотой, у двустворчатых моллюсков отражает наличие специфических адаптаций с характерными структурными и функциональными механизмами в биологических мембранах в ответ на изменения условий окружающей среды (температура, соленость и другие) (Kraffe et al., 2002). Более того, показано, что жирнокислотный состав КЛ и его общий уровень не отличается между различными органами (жабры, мантия, нога, сифон и мышцы) (Kraffe et al., 2005). Необходимо отметить, что в некоторых работах обнаружены значительные различия в концентрации основного мембранного фосфолипида – ФХ у пресноводных и морских двустворчатых моллюсков (41,6 и 34,8%, соответственно), тогда как в содержании других классов фосфолипидов достоверных различий установлено не было (Кашин, 1997).

ФХ и ФЭА – основные мембранные фосфолипиды морских двустворчатых моллюсков (De Moreno et al., 1976a; Dembitsky et al., 1992; Saito, 2004), они играют важную роль в регуляции физических свойств биологических мембран. ФХ благодаря особенностям своей молекулярной формы стабилизирует липидный бислой,

в то время как ФЭА его дестабилизирует (Gillis, Ballantyne, 1999 а, б; Loque et al., 2000). Кроме структурной функции, ФХ участвует в процессах регуляции клеточного объема (рис. 27), а также в сигнальных процессах, посредством образования диацилглицеринов (ДАГ) и накопления бетаина и триметиламина (Seibel, Walsh, 2002; Christie, www.lipidlibrary.co.uk). ФЭА оказывает сильное активирующее влияние на семейство протеинкиназ С, а С1-домен протеинкиназ С рассматривается как сенсор в липидном бислое (Коломийцева и др., 2003). У некоторых представителей двустворчатых моллюсков, наряду с ФХ и ФЭА, выявлено высокое содержание ФС в биомембране (De Moreno et al., 1976a). Между ФС и ФЭА существует метаболическая связь, они легко обмениваются азотистыми компонентами (серин и этаноламин) (Добрынина, 1976). Помимо структурной функции и участия в синтезе других фосфолипидов, ФС является кофактором для активации протеинкиназы С – ключевого фермента сигнальной трансдукции, а также других ферментов (Na^+, K^+ -АТФ-азы и нейтральной сфингомиелиназы) (Christie, www.lipidlibrary.co.uk).

Показано, что СФМ может «заменять» ФХ при построении клеточных мембран, образуя стабильный и устойчивый липидный бислой (Christie, www.lipidlibrary.co.uk), а ФХ служит источником холина для синтеза СФМ (Коломийцева и др., 2003). Кроме того, установлено, что концентрация СФМ в плазматической мембране через генетический аппарат регулирует синтез холестерина в клетке (Scheek et al., 1997; Коломийцева и др, 2003). Взаимодействие между ХС и СФМ является важным событием при регулировании гомеостаза ХС в клетках животных. Показано, что падение концентрации СФМ способствует подавлению активности ключевого фермента синтеза ХС – 3-гидрокси-3-метилглутарилКоА редуктазы (ГМГ-редуктазы), а также повышению активности ацилКоА холестерин-ацилтрансферазы (АХАТ) – фермента, ответственного за этерификацию ХС, что сопровождается снижением скорости синтеза ХС и повышением скорости его запасаения в виде эфиров (Gatt, Bierman, 1980; Slotte, Bierman, 1988; Slotte et al., 1990; Scheek et al., 1997).

Биосинтез сфинголипидов включает большое количество промежуточных метаболитов, многие из которых выполняют разнообразные функции в организме. У животных взаимодействия между метаболитами сфинголипидов объединяется в «сфингомиелиновый цикл» (Рис.10). Данный цикл является генератором вторичных посредников, передающих внеклеточные сигналы с цитоплазматической мембраны в ядро (Цюпко и др., 2001). Церамид, являясь предшественником для синтеза сфинголипидов, а также сфингозин, выполняют функции внутриклеточных мессенджеров, участвуя в клеточном сигналинге при дифференцировке, трансформации и пролиферации клеток, а также при стрессовых воздействиях окружающей среды (Цюпко и др., 2001; Christie, www.lipidlibrary.co.uk).

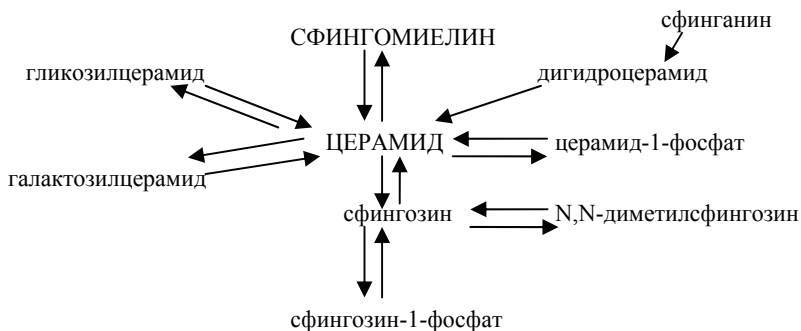


Рис. 10. Сфингомиелиновый цикл
(адаптировано с сайта www.lipidlibrary.co.uk)

Различные группы фосфолипидов распределены неравномерно на внешнем и внутреннем слоях биомембраны. Так, ФЭА и ФС сосредоточены на внутренней поверхности, а ФХ и СФМ на внешней поверхности мембраны. В нормальной мембране существует постоянное динамическое равновесие между синтезом и распадом фосфолипидов, которое меняется при активации клеток или при возникновении каких-либо патологических состояний (Сергеева, Варфоломеева, 2006). Снижение в клеточных мембранах доли

липидов, повышающих вязкость фосфолипидного бислоя мембран и модифицирующих их структуры (таких как, холестерин, СФМ и ФХ), и рост количества фосфолипидов, уменьшающих вязкость мембраны (например, ФЭА), увеличивают латеральную подвижность мембранных белков, таких как субъединицы каналов, ферментов и рецепторов (Коломийцева и др., 2003).

Лизофосфатидилхолин (ЛФХ) – центральный метаболит в синтезе холинсодержащих фосфолипидов и ацетилхолина. Он является вторичным мессенджером, влияющим на трансмембранную передачу сигнала через различные рецепторы, сопряженные с G-белками. ЛФХ активирует протеинкиназы С в присутствии фосфолипидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты (Проказова и др., 1998; Коломийцева и др., 2003) и влияет на активность Na^+/K^+ -АТФ-азы (Oishi et al., 1990).

Фосфатидилинозитол (ФИ) – минорный компонент клеточных мембран, однако играет важную роль в регуляции ряда функций клеток. При расщеплении ФИ образуются диацилглицерины (ДАГ) и инозитфосфаты (Bell et al., 1986; Ткачук, 1998; Tocher, 2005; Сергеева, Варфоломеева, 2006). Основная часть ФИ находится во внутренних мембранах, а инозитфосфаты (в частности, фосфатидилинозитол-4-фосфат и фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат) расположены преимущественно в плазматической мембране. Фосфолипаза С активирует гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат на две молекулы: гидрофильную (инозитол-1,4,5-трифосфат), которая диффундирует в цитоплазму; и гидрофобную (ДАГ), которая остается в мембране (рис.11). Инозитол-1,4,5-трифосфат связывается со своими рецепторами на мембране эндоплазматического ретикулума, или в некоторых случаях на цитоплазматической мембране, в результате чего открываются ионные каналы и в цитоплазму выходят ионы Ca^{2+} . Дальнейший метаболизм инозитол-1,4,5-трифосфата приводит к его полному дефосфорилированию и образованию инозитола. ДАГ, в свою очередь, активирует протеинкиназу С, а затем фосфорилируется, т.е. превращается в фосфатидную кислоту (Ткачук, 1998). Следовательно, продукты расщепления ФИ, в частности ДАГ и инозитфосфаты, метаболически

активны, и играют центральную роль в передаче гормонального сигнала через биомембрану (Bell et al., 1986; Tocher, 2005; Сергеева, Варфоломеева, 2006), а также регулируют проницаемость и транспортные функции мембран; процессы, происходящие в цитоскелете и в ядре (Кучеренко, Блюм, 1986; Ткачук, 1998; Di Paolo, de Camilli, 2006).

Известно, что ФИ морских рыб и моллюсков содержит большое количество стеариновой 18:0 и арахидоновой 20:4n-6 кислот. Предполагается, что такой жирнокислотный состав подвергается строгому контролю со стороны ферментных систем в организме водных животных (Bell et al., 1986). ФИ является источником арахидоновой кислоты, необходимой для образования физиологически активных эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов и др.).

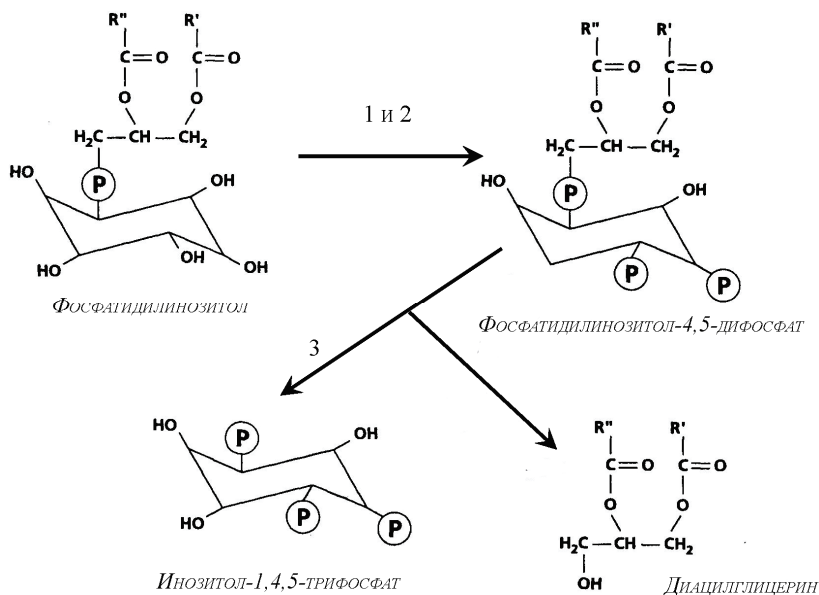


Рис. 11. Схема образования физиологически активных веществ из фосфатидилинозитола (адаптировано из Сергеева, Варфоломеева, 2006).

1 – 1-фосфатидилинозитол-4-киназа; 2 – 1-фосфатидилинозитол-4-фосфат-5 киназа; 3 – фосфатидилинозитол-фосфолипаза С

В составе фосфолипидов, главным образом во фракциях ФХ, ФЭА и ФС, у морских беспозвоночных отмечается высокое содержание плазмалогенов (до 35%) (Дембицкий, Васьковский, 1976; Дембицкий, 1979; Nevenzel et al., 1985; Chapelle, 1987; Dembitsky et al., 1992; Kraffe et al., 2004). Это отдельная группа фосфолипидов с винилэфирной и простой эфирной связью. Плазмалогены выполняют функции структурных компонентов биомембран, они вовлечены в движение мембран, участвуют в поступлении холестерина (Сергеева, Варфоломеева, 2006). Предполагается их участие в регуляции проницаемости мембран (Chapelle, 1987), а также показано, что различная утилизация плазмалогенов специфическими фосфолипазами может играть определенную роль в образовании липидных медиаторов, которые включаются в сигнальную трансдукцию (Paltauf, 1994). Необходимо отметить, что у беломорских мидий в составе фосфолипидов были обнаружены неидентифицированные липиды (НЛ, в частности Х1 и Х2), которые в некоторых случаях занимали доминирующее положение (рис. 9). Ранее предполагалось, что данные липидные фракции являются плазмалогенными формами фосфолипидов (Алексеева, 2004). Однако данное предположение оказалось неверным, поскольку используемые нами методы разделения фосфолипидов не позволяют выделить и идентифицировать плазмалогены в составе фосфолипидов (Фокина, 2007).

Морские организмы содержат сложные, трудноразделимые стероидные соединения, часто отсутствующие у наземных животных. В морских растениях и животных идентифицировано более 500 стерина. У двустворчатых моллюсков в качестве основного стерина присутствует холестерин (ХС) в количестве 19,0 – 39,0% от суммы липидов (Сореман, Parrish, 2000; Кандюк, 2006), а также значительное содержание С₂₈- и С₂₉-стеринов и следы необычных стерина (Кандюк, 2006). У мидий *Mytilus edulis* в составе стерина также идентифицированы 22-дегидрохолестерин и транс-22-дегидрохолестерин (Kanazawa, 2001; Kawashima et al., 2007). Присутствие у мидий таких необычных для моллюсков соединений, как 24-метиленхолестерин и 24-метилдегидрохолестерин, свиде-

тельствуют о питании их фитопланктоном, а именно диатомовыми водорослями, поскольку данные соединения являются типичными метаболитами этих водорослей (Кандюк, 2006). Следовательно, содержание стеринов в организме мидий можно использовать в качестве биохимических маркеров, указывающих на состав и источник пищи, поскольку стерины поступают в организм моллюсков в основном с фитопланктоном и донными остатками (Kawashima et al., 2007).

Как отмечалось выше, содержание ХС в беломорских мидиях было от 24,1 до 41,3% от суммы липидов. Необходимо отметить, что для Нитежаберных (*Filibranchia*) моллюсков, к которым относится *Mytilus edulis*, и Настоящих пластинчатожаберных (*Eulamellibranchia*) моллюсков доля холестерина (ХС) составляла 37,7 и 36,3% от общих липидов, соответственно, тогда как у представителей отряда Первичножаберные (*Protobranchia*) концентрация ХС достигала 82,0% от общих липидов (Voogt., 1983).

Холестерин – основной представитель группы стеринов. Он регулирует проницаемость клеточных мембран, влияя на микровязкость и молекулярную подвижность липидов в мембране (Крепс, 1981). Молекула холестерина отличается особым строением: жесткий углеводородный скелет и наличие в гидрофобной структуре гидрофильной части (спиртовой группы), благодаря чему эта молекула очень легко проникает через мембрану (Ивков, Берестовский, 1981). Известно, что холестерин локализуется на внешней стороне мембраны, где он взаимодействует с жирнокислотными цепями фосфолипидов, уменьшая их подвижность, способствует переходу липидов из гелеобразного состояния в жидкокристаллическое (разжижает гель), а также может повышать вязкость и жесткость биомембраны (Алимова и др., 1975; Гурин, 1986; Степанов, 1991). Увеличение содержания холестерина в мембранах уменьшает подвижность жирнокислотных молекул в фосфолипидах, тем самым, повышая вязкость и снижая проницаемость биологических мембран для ионов (Хочачка и Сомеро, 1977; Крепс, 1981; Кагава, 1985). Как следствие этого, изменяется активность встроенных в мембрану ферментов. Показано, что повышение вязкости клеточ-

ных мембран ввиду избытка холестерина может привести к ухудшению работы ферментных систем. В частности, показано, что накопление холестерина в мембране ингибирует активность Na^+, K^+ -АТФ-азы, а при снижении концентрации ХС, наоборот, активность данного фермента повышается (Лопухин и др., 1985). Рост концентрации ХС в мембране способствует его взаимодействию с фосфолипидами, что приводит к повышению вязкости липидного бислоя. В тоже время такие липидные молекулы, как ненасыщенные жирные кислоты, ЛФХ, ДАГ, сфингозин, которые функционируют, как внутриклеточные медиаторы, взаимодействуют с фосфолипидами на внутренней мембране (а именно, с ФС и фосфатидной кислотой), и, как следствие, понижают вязкость бислоя, активируя тем самым Na^+/K^+ -АТФ-азу. Кроме того, роль липидных метаболитов в трансмембранной сигнальной трансдукции заключается в их способности к регулированию активности протеинкиназы С. Причем Na^+/K^+ -АТФ-аза служит дополнительной мишенью, с которой взаимодействуют вторичные мессенджеры для того, чтобы изменить клеточную активность посредством протеинкиназы С (Oishi et al., 1990). Более того, установлено, что к вязкости липидного окружения чувствительны только те мембранные ферменты, при работе которых происходит изменение их конформации. На примере Ca^{2+} -АТФазы было показано, что с ростом вязкости бислоя снижается скорость переноса ионов кальция через мембрану. Это наблюдается на той стадии, когда происходят изменения в конформации данного фермента (Владимиров, 1998). Таким образом, изменение вязкости липидного бислоя, вызванного включением холестерина в мембраны, модификациями состава жирных кислот фосфолипидов и окислением мембранных липидов, влияет на активность мембранных ферментов.

Известно (Дятловицкая, 1977; Еляков, Стоник, 1988), что холестерин и фосфолипиды, как структурные компоненты мембран, образуют в них комплексы различной стехиометрии, а соотношение холестерин/фосфолипиды (коэффициент Дьердии) является одним из основных показателей, отражающий вязкость и текучесть биологических мембран. Незначительное отклонение

соотношения ХС/ФЛ в мембране от нормального значения вызывает довольно резкое изменение микровязкости с сопутствующими модификацией активности ферментов, встроенных в бислой, в частности это показано для Na^+/K^+ -АТФ-азы (Болдырев, 1985; Vickers, Rathbone, 1979; Cooper, Shattil, 1980; Лопухин и др., 1985).

Общее содержание стерина изменяется под воздействием ряда биотических и абиотических факторов. У многих двустворчатых, также как и у растительноядных брюхоногих моллюсков, обнаружен биосинтез стерина, тогда как хищные брюхоногие и головоногие моллюски не способны его синтезировать. Кроме того, известно, что в анаэробных условиях не происходит синтеза стерина и ненасыщенных жирных кислот. В данных условиях содержание стерина в клетках минимально, т.е. необходимое для жизнедеятельности организма (Кандюк, 2006). Однако у морских моллюсков *Chlamys tehuatl* (Pollero et al., 1979), гребешка *Pecten maximus* (Pazos et al., 2003), а также у пресноводного представителя двустворчатых *Diplodom patagonicus* (Pollero et al., 1981) показано отсутствие сезонных изменений в содержании фосфолипидов и холестерина. Хотя известно, что в некоторых случаях структурные липиды (в частности, фосфолипиды) могут выступать в роли источников энергии в ооцитах. (De La Parra et al., 2005) Одна из основных функций стерина в тканях – это сохранение структурной целостности клеточных мембран, в которых они находятся в свободной форме. Физиологическая роль эфиров стерина у двустворчатых моллюсков мало изучена, возможно, они представляют собой запасные формы или метаболический пул стерина (De La Parra et al., 2005).

Известно, что у двустворчатых моллюсков холестерин используется не только в качестве структурной составляющей биологических мембран – он является источником для синтеза стероидных гормонов, провитаминов (главным образом характерно для репродуктивной ткани) и желчных кислот (Fouad et al., 1992; Кандюк, 2006). Так, например, показано, что у *Mytilus edulis* высокий уровень свободных стероидов, в частности холестерина, находится в

гонадах, по сравнению с периферическими тканями – мантией и жабрами. В свою очередь, высокие концентрации холестерина обеспечивает повышенный синтез половых стероидов в репродуктивной ткани (Quinn et al., 2004; Lavado et al., 2006). Кроме того, у моллюсков холестерин играет важную роль в образовании раковины (Лагунов, Рехина, 1967; Кандюк, 2006). Предполагается, что стерины принимают участие в транспорте жирных кислот и поддерживают равновесие между насыщенными и ненасыщенными кислотами, а также служат защитным фактором против токсического действия многих природных соединений и некоторых внешних воздействий (Кандюк, 2006).

Стерины ускоряют рост живых организмов, а также могут заменять друг друга. Холестерин является необходимым компонентом для роста морских организмов и включается в клетки в неизменном состоянии. Эргостерин и холестанин могут заменить холестерин в качестве фактора роста и включаются в клетки без значительного биохимического изменения, выполняя в них все функции холестерина (Кандюк, 2006).

I.2.1.2 Триацилглицерины и эфиры холестерина – основные запасные липиды

Триацилглицериды (ТАГ) – одна из универсальных запасных форм липидов, которые могут быть использованы организмом как основной энергетический источник, когда возникает дефицит кормовых объектов. Запасные вещества в форме ТАГ выгодны организму, так как при определенных условиях они быстро мобилизуются из жировых депо, легко превращаются в другие соединения, а при окислении на единицу массы дают в 2,5 раза больше энергии, чем углеводы (Лапин, Шатуновский, 1981). У животных ТАГ преимущественно содержат насыщенные (16:0, 18:0, 20:0) и мононенасыщенные (16:1n-7, 16:1n-5, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:1n-5, 20:1n-11, 20:1n-9 и 20:1n-7) жирные кислоты (Christie, www.lipidlibrary.co.ua; Bockerhoff et al., 1966; Bockerhoff et al., 1968; Bockerhoff, 1971). Кроме того, семейство n-3 ПНЖК (главным образом 16:4 n-3, 18:4 n-3, 20:5 n-3 и 22:6 n-3), которые

синтезируются морским фитопланктоном, накапливаются в организме моллюсков в составе ТАГ (Brockerhoff et al., 1968; Freitas et al., 2002a,б; Saito, 2004) и могут быть источником метаболической энергии у мидий. Отмечено, что вариации в содержании ТАГ у морских моллюсков, сопровождаются колебаниями в концентрациях этих кислот.

У морского гребешка *Pecten maximus* (Pazos et al., 2003) и моллюска *Mesodesma macroides* (De Moreno et al., 1976a) показано присутствие ТАГ в составе липидов в количестве 19–77% от общих липидов. У морских моллюсков *Mytilus trossulus* и *Chlamys tehuatla* среди запасных липидов доминируют ТАГ, которые составляют 10 и 60% от общих липидов, соответственно (Uno et al, 2000; Pollero et al, 1979), тогда как у пресноводного моллюска *Diplodom patagonicus* содержание ТАГ равно 21% от общих липидов (Pollero et al., 1981). У беломорских мидий *Mytilus edulis* запасные липиды представлены ТАГ и ЭХС, которые составляют 0,4–17,8% и 0,0–11,5% от суммы липидов, соответственно.

Неподвижный образ жизни двустворчатых моллюсков ограничивает их трофические возможности определенным ареалом, поэтому различия в содержании липидных компонентов зависят от температуры, газового режима, солености, а также от трофического уровня ареала. Метаболизм липидов у мидий подчиняется сезонным колебаниям, связанным с репродуктивным циклом и доступностью пищи (Кандюк и др., 1993; Arts, Wainman, 1998; Cancio et al., 1999; De La Parra et al., 2005;). Перед гаметогенезом у морских моллюсков в различных тканях накапливается гликоген, липиды и белки, которые затем используются вместе с доступной пищей во время процессов гаметогенеза (Виноградова, 1967; Voogt, 1983; Wenne, Styczynska-Jurewicz, 1987; Saito, 2004; De La Parra et al., 2005). Липиды играют важную роль в физиолого-биохимических процессах двустворчатых моллюсков, в частности, они являются важным источником питания в ооцитах, обеспечивая жизнеспособность личинок. Установлено, что запасные липиды (в частности, ТАГ) используются моллюсками в качестве энергетического источника во время зимнего роста, когда запасы углеводов

истощены (De La Parra et al., 2005). В тоже время ФЛ и ХС служат структурными компонентами биологических мембран, обеспечивая целостность и стабильность бислоя. Для морских и пресноводных моллюсков, например *Pecten maximus*, *Mesodesma macroides*, *Dreissena polymorpha*, *Diplodon delodontus* и *Diplodon patagonicus*, характерны сезонные колебания в концентрации ТАГ (De Moreno et al., 1976a; Pollero et al., 1981; Arts, Wainman, 1998; Pazos et al., 2003). Предполагается, что ТАГ играют определенную функциональную роль в репродуктивной ткани, так как было показано увеличение их содержания в преднерестовый период у двустворчатых моллюсков *Diplodon patagonicus* и *Chlamys tehuelcha*, а дальнейшее снижение их уровня соответствовало выведению половых продуктов из организма (Pollero et al., 1981; Pollero et al., 1979). Кроме того, накопление ТАГ связывают с усиленным потреблением пищи (Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Pollero et al., 1981; Besnard et al., 1989; Chu et al., 1990; Arts, Wainman, 1998). Осенью организм запасается питательными веществами на зимний период, который беден фитопланктоном. Весенний и осенний максимумы содержания органических веществ у беспозвоночных являются своего рода биологической адаптацией, проявлению которой способствует пищевой фактор (Виноградова, 1967; DeMoreno et al., 1976; Saito, 2004).

Помимо ТАГ к запасным липидам относят эфиры холестерина (ЭХС) – депо холестерина в организме. В своем составе ЭХС, помимо основного структурного компонента мембран – холестерина, содержат ненасыщенные ЖК, которые также могут быть источниками метаболической энергии (Freites et al., 2002b). В клетках существует сбалансированная система, регулирующая содержание свободного холестерина в клеточных мембранах. Часть его этерифицируется и образует депо в виде эфиров холестерина (Полякова, 1981). Физиологическое значение ЭХС в организме весьма велико, благодаря наличию в их составе ненасыщенных жирных кислот. Образование этерифицированного холестерина представляет собой один из путей выведения из метаболических превращений избытка свободных жирных кислот. Значительное увеличение коли-

чества эфиров холестерина связано, как правило, с усилением фосфолипазной активности, что может быть причиной патологического состояния (Грибанов, 1979). Поскольку кислотные остатки эфиров холестерина включаются в ТАГ и ФЛ быстрее и легче, чем свободные жирные кислоты, то эфиры холестерина могут служить предшественниками и переносчиками жирнокислотных радикалов при биосинтезе некоторых классов липидов (Лапин, Шатуновский, 1981).

1.2.1.3 Жирные кислоты как структурные компоненты липидов

Жирные кислоты (ЖК) являются наиболее лабильными компонентами липидных молекул, быстро и четко реагирующими на всевозможные воздействия и обеспечивающие адаптивные возможности организма (Крепс, 1981). Для каждого класса липидов характерен определенный жирнокислотный спектр (Takenaka et al., 1988).

Две наиболее распространенные жирные кислоты – пальмитолеиновая 16:1n-7 и олеиновая 18:1n-9 – образуются из пальмитиновой 16:0 и стеариновой 18:0 кислот (рис.12). Синтез ненасыщенных жирных кислот из насыщенных идет с помощью ферментов десатураз и элонгаз. Положение двойной связи определяется типом десатуразы, причем некоторые из них присутствуют не во всех организмах. Например, $\Delta 9$ десатураза обнаружена только у животных, $\Delta 6$ – у животных и низших растений, а $\Delta 15$ – у водорослей и растений, имеющих хлорофилл (Brett, Muller-Navarra, 1997; Christie, www.lipidlibrary.co.ua). По типу метаболизма ненасыщенные жирные кислоты делят на семейства в зависимости от предшественника, из которого они синтезируются (рис.12).

Главными предшественниками этих кислот являются линоленовая 18:3n-3, линолевая 18:2n-6, пальмитолеиновая 16:1n-7 и олеиновая 18:1n-9 кислоты (Сергеева, Варфоломеева, 2006). Линолевая и линоленовая кислоты являются эссенциальными для всех животных, поскольку $\Delta 12$ и $\Delta 15$ десатуразы присутствуют только в растительных клетках (Christie, www.lipidlibrary.co.ua). Многие организмы, в том числе морские двустворчатые моллюски, могут в незначительных количествах превращать линоленовую кислоту в

эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты. Однако данный процесс считается неэффективным, поскольку он не способен обеспечить оптимальные скорости роста и развития водных беспозвоночных. Большинство организмов (водных и наземных, беспозвоночных и позвоночных) для лучшего роста и развития должны получать эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты извне, т.е. с пищей (Brett, Muller-Navarra, 1997).

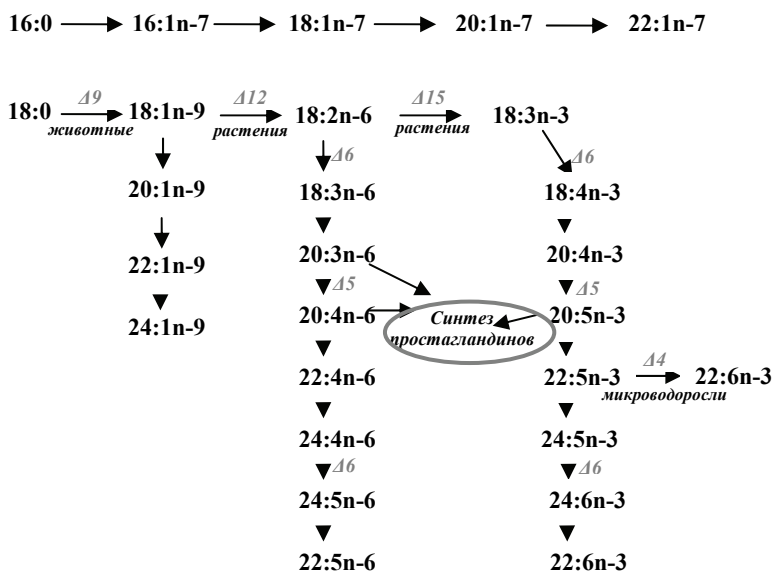


Рис. 12. Синтез ненасыщенных жирных кислот в тканях растений и животных (адаптировано из Сергеева, Варфоломеева, 2006; www.lipidlibrary.co.uk и www.lipid.narod.ru)

У мидий *Mytilus edulis* Белого моря отмечено характерное для морских животных высокое содержание n-3 полиеновых кислот, таких как эйкозапентаеновой (20:5) и докозагексаеновой (22:6). Среди n-6 ПНЖК доминирующими были линолевая (18:2), арахидоновая (20:4) и 22:2 кислоты. Необходимо отметить, что харак-

терным отличием пресноводных моллюсков, в частности *Diplodom patagonicus*, от морских представителей *Bivalvia* является преобладание в составе общих жирных кислот арахидоновой (20:4n-6) кислоты, а также сравнительно низкие количества n-3 ПНЖК (Pollero et al., 1981). Высокие концентрации арахидоновой кислоты в жабрах пресноводной мидии *Ligumia subrostrata* обеспечивают активный синтез простагландинов, которые участвуют в транспорте ионов Na^+ (Saintsing et al., 1983). У беломорских мидий обнаружены неметиленразделенные (НМР), а также n-9 жирные кислоты. Среди мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) преобладали пальмитолеиновая 16:1n-7, олеиновая 18:1n-9, вакценовая 18:1n-9 и гондоиновая 20:1n-9 кислоты. Пальмитиновая 16:0 кислота была преобладающей среди насыщенных жирных кислот (НЖК).

Жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов, определяют ряд свойств этих молекул. Чем больше двойных связей в молекуле, тем сложнее пространственная конфигурация радикалов ЖК, и, следовательно, более рыхлая структура липидного бислоя. Кроме того, полиненасыщенные ЖК имеют более низкие точки плавления, по сравнению с насыщенными кислотами. Ассиметричное строение и температура плавления – две характеристики полиенов, которые увеличивают текучесть биологических мембран и, соответственно, обуславливают высокую метаболическую активность мембранных ферментов (Хочачка, Сомеро, 1977; Gillis, Ballantyne, 1999a, б; Valentine, Valentine, 2004), таких как аденилатциклаза и Na^+, K^+ -АТФ-аза (Poon et al., 1981). Кроме того, полиеновые кислоты n-3 и n-6 семейств отличаются между собой по физическим свойствам: температура плавления n-6 полиеновых кислот выше, чем у n-3 полиенов, поэтому мембраны, обогащенные n-6 кислотами более стабильны к воздействию неблагоприятных факторов среды (Крепс, 1981). Соотношение n-3/n-6 полиненасыщенных ЖК является одним из важных показателей характеризующих вязкость и жидкость биологических мембран (Хочачка, Сомеро, 1977; Gillis, Ballantyne, 1999a, б). Для поддержания нужной вязкости биомембран путем изменения характера жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов, необходим целый ряд механизмов, регулирующих

синтез этих кислот и включение их в липиды. Такие механизмы у животных различны. У одних животных вязкость мембран, по-видимому, регулируется путем изменения числа двойных связей в молекулах жирных кислот. У других, изменяются типы жирных кислот, включающихся в молекулы фосфолипидов во время их синтеза. Существуют также животные, у которых главным механизмом, регулирующим вязкость биомембран, служит активация или инактивация ферментов-десатураз (Хочачка, Сомеро, 1977).

Характерными жирными кислотами, содержащимися в фосфолипиде мембран морских двустворчатых моллюсков являются пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1), линолевая (18:2n-6), линоленовая (18:3n-3), арахидоновая (20:4n-6), эйкозапентаеновая (20:5n-3) и докозагексаеновая (22:6n-3) кислоты, а также неметиленразделенные диеновые ЖК (Науменко, Костецкий, 1986; Takenaka et al., 1988; Kawashima, Ohnishi, 2003; Saito, 2004). У мидий *Mytilus edulis* Белого моря показан аналогичный жирнокислотный состав фосфолипидов (табл.1). При этом ФЭА и ФС содержат больше ненасыщенных ЖК, чем другие фосфолипиды (Mahmoud et al., 1980; Saito, 2004). Помимо того, что полиеновые ЖК, входящие в состав фосфолипидов, влияют на физические свойства мембран, они вовлечены в синтез эйкозаноидов (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены и др.) (Takenaka et al., 1988; Tocher, 2005). Показано, что арахидоновая (20:4n-6) кислота и ее метаболиты могут выступать в качестве местных гормонов и медиаторов, активируя рецепторы той же клетки или окружающих клеток, играя при этом важную роль в регуляции различных физиологических процессов, таких как иммунный ответ, секреция и др. Содержание арахидоновой кислоты и ее метаболитов в организме увеличивается при многих патологических состояниях, например, при воспалительных процессах (Крутецкая, Лебедев, 1993; Сергеева, Варфоломеева, 2006). Основным источником арахидоновой кислоты у морских организмов является ФИ (Bell et al., 1986). Однако в настоящем исследовании показано, что у беломорских мидий помимо фракции ФИ, высокие концентрации арахидоновой кислоты характерны и для фракции ФХ (табл.1). Подобная

Таблица 1

Жирнокислотный состав фракций фосфолипидов беломорских мидий (% суммы жирных кислот)

	ФИ	ФС	ФЭА	ФХ	НЛ X2	ЛФХ	СМ
14:0	5,81	10,65	4,92	2,26	8,15	11,29	6,51
15:0	1,73	2,60	2,03	1,36	2,49	2,37	2,30
16:0	41,38	37,41	33,21	33,60	37,66	34,54	38,12
18:0	1,04	0,30	0,55	1,69	0,36	0,43	0,44
20:0	0,42	0,33	0,55	0,65	0,34	0,37	0,42
Σ НЖК	50,39	51,28	41,26	39,55	49,00	49,00	47,78
15:1	1,46	1,60	1,49	1,23	1,38	1,57	1,74
16:1n-9	0,00	0,99	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00
16:1n-7	2,45	3,77	10,29	5,28	4,18	4,02	4,30
16:1n-5	0,98	0,80	0,52	5,57	0,83	0,42	0,55
18:1n-9	11,00	12,03	11,85	12,38	13,75	12,88	14,64
18:1n-7	11,64	12,47	13,57	9,04	14,33	13,68	12,56
18:1n-5	1,13	1,95	4,95	1,19	2,05	1,96	1,98
20:1n-11	0,28	0,61	0,35	0,89	0,69	0,67	0,47
20:1n-9	0,99	4,35	1,87	1,18	4,24	3,55	2,47
20:1n-7	0,27	0,54	0,44	0,20	0,63	0,66	0,31
22:1n-11	0,00	0,00	0,43	0,19	0,00	0,00	0,00
Σ МНЖК	30,20	39,11	45,76	37,14	42,81	39,40	39,02
16:4n-3	0,90	0,24	0,52	0,93	0,25	0,35	0,18
18:3n-3	2,03	1,38	1,26	2,83	1,17	1,43	0,94
18:4n-3	0,47	0,04	0,00	0,07	0,02	0,00	0,00
20:2n-3	0,45	0,34	1,41	2,00	0,30	1,12	1,13
20:3n-3	0,00	0,07	0,53	0,00	0,00	0,12	0,33
20:4n-3	0,00	0,00	0,18	1,08	0,00	0,00	0,59
20:5n-3	0,50	0,49	0,33	1,91	0,20	0,79	1,41
22:5n-3	0,00	0,94	0,89	0,55	0,36	0,71	0,25
22:6n-3	0,00	2,14	0,00	0,85	1,79	1,68	1,50
Σ n-3 ПНЖК	4,34	5,63	5,10	10,21	4,09	6,20	6,34
16:2n-6	0,41	0,32	0,58	0,42	0,35	0,28	0,31
16:3n-6	2,07	1,19	1,94	1,73	1,09	1,11	1,60
18:2n-6	1,07	0,28	1,28	1,42	0,25	0,52	0,62
20:2n-6	0,00	0,64	0,23	0,40	0,70	0,62	0,20
20:4n-6	3,92	1,00	0,46	2,47	0,68	0,61	0,51
22:2n-6	7,60	0,00	2,22	2,93	0,00	0,17	1,34
22:3n-6	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,53	0,00

Окончание табл. 1

22:4n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,13	1,51
22:5n-6	0,00	0,00	0,00	0,16	0,16	0,50	0,53
Σ n-6 ПНЖК	15,06	3,44	6,71	10,00	3,57	4,47	6,61
20:2n-9	0,00	0,15	0,11	0,95	0,20	0,25	0,00
22:2n-9	0,00	0,00	0,47	0,46	0,00	0,32	0,00
Σ n-9 ПНЖК	0,00	0,15	0,59	1,41	0,20	0,57	0,00
Σ НМРЖК	0,00	0,40	0,59	1,68	0,34	0,36	0,25
Σ ПНЖК	49,61	48,72	58,74	60,45	51,00	51,00	52,22
НЖК/ПНЖК	1,02	1,05	0,70	0,66	0,96	0,96	0,92
n-3/n-6	0,29	1,64	0,76	1,34	1,14	1,39	0,96
18:2/20:4n-6	0,27	0,28	2,79	0,74	0,37	0,85	1,44

особенность жирнокислотного состава ФХ была также показана в литературе (Saito, 2004). За освобождение арахидоновой кислоты из мембранных липидов ответственен фермент фосфолипаза A₂, активность которого зависит от фазового состояния мембранных липидов (Крутецкая, Лебедев, 1993). Снижение содержания арахидоновой кислоты свидетельствует о её интенсивном использовании как в процессах ферментативного (генерация простагландинов), так и неферментативного перекисного окисления, особенно при антропогенных нагрузках (Тойвонен и др., 2001).

Следует отметить, что соотношение 20:4n-6/18:2n-6 отражает уровень превращения эссенциальной линолевой кислоты в арахидоновую. У большинства животных, в том числе у двусторчатых моллюсков, линолевая кислота превращается в ее высших гомологов путем последовательной десатурации и элонгации (De Moreno et al, 1976б). У морских организмов помимо арахидоновой кислоты в синтезе эйкозаноидов участвуют эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты (Bell et al., 1986; Tocher, 2005). Известно, что продукты эйкозапентаеновой кислоты оказывают противонаправленное действие веществам арахидоновому каскада (Tocher, 2005; Сергеева, Варфоломеева, 2006).

У морских двусторчатых моллюсков обнаружены жирные кислоты семейств n-4, n-7 и n-9, которые синтезируются в заметных

количествах только при недостатке n-3 и n-6 ПНЖК в организме (Saito, 2008; Christie, www.lipidlibrary.co.ua). Так, у глубоководных моллюсков обнаружены n-4 ПНЖК, которые сохраняют жидкостность мембран взамен обычных n-3 полиеновых кислот (Saito, 2008).

Жирные кислоты, которые являются алифатическими компонентами липидов, в частности в составе ТАГ и фосфолипидов, отражают экологические условия и спектр питания морских беспозвоночных. Морская вода обычно содержит небольшое количество растворенных жирных кислот, которые образуются при распаде липидов морских организмов. Было показано, что фильтрующие моллюски абсорбируют и включают в свой метаболизм эти кислоты (De Moreno et al., 1976b), но, в основном, жирнокислотный состав моллюсков определяется типом пищи (Хардин и др., 2002; Ramos et al., 2003). Детритный материал – это источник насыщенных и мононенасыщенных C_{14} - C_{18} жирных кислот, тогда как бактериальная флора содержит в большом количестве насыщенные C_{14} - C_{16} кислоты (Freites et al., 2002b). Кроме того, показано, что морские простейшие – инфузории и бесцветные жгутиконосцы, которые входят в состав детрита, содержат ПНЖК (в частности, арахидоновую, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты) и обладают способностью синтезировать эти эссенциальные липидные компоненты (Жукова, 2009). Высокое содержание насыщенных ЖК, таких как C_{20} , описано у двустворчатых, распространенных в среде, богатой органическим материалом бактериального происхождения, по сравнению с теми моллюсками, которые в основном питаются фитопланктоном, в котором доминируют n-3 полиненасыщенные ЖК C_{18} , C_{20} и C_{22} (Freites et al., 2002b). Структурное разнообразие жирных кислот, характерных для морских микроводорослей, относительная стабильность этих молекул, а также ограниченные способности морских беспозвоночных животных синтезировать ПНЖК, позволяет использовать их в качестве трофических маркеров (Fouad et al., 1992; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Латышев и др., 2001; Ramos et al., 2003; Жукова, 2009). Определенные жирные кислоты (или их сочетание, или соотношение) могут служить

таксономическими маркерами отделов морских фитопланктонных водорослей (Zhukova, Aizdaicher, 1995; Saito, 2004; Жукова, 2009). Известно, что диатомовые водоросли содержат в большом количестве эйкозапентаеновую 20:5n-3 кислоту, а линолевую 18:2n-6 и линоленовую 18:3n-3 – в следовых количествах. Докозагексаеновая 22:6n-3 кислота - это главный компонент динофлагеллятов (Pollero et al, 1979; Ackman et al, 1974; Fouad et al., 1992; Joseph, 1982; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Ramos et al., 2003). КRYPTOФИТОВЫЕ водоросли помимо 20:5n-3 и 22:6n-3 кислот в больших количествах содержат 18:3n-3 кислоту. У хлорофитов наряду с высокими концентрациями линоленовой кислоты, отсутствует или находится в следовых количествах ЭПК и ДГК. Жирнокислотный состав фитопланктона изменяется под действием условий окружающей среды (Viso, Marty, 1993; Brett, Muller-Navarra, 1997), однако, характерные таксономические жирнокислотные признаки у них сохраняются (Жукова, 2009). Таким образом, по мнению многих авторов, фитопланктонными являются 14:0, 16:0, 16:4n-3, 18:4n-3, 18:3n-3, 20:5n-3, 22:6n-3, 18:2n-6, 18:3n-6 кислоты; к зоопланктонным относятся 20:1n-9, 22:1n-9 кислоты, а ЖК n-7 ряда, такие как 16:1n-7 и 18:1n-7 являются бактериального происхождения (Bell et al., 1986; Fouad et al., 1992; Gopakumar, Rajendranathan Nair, 1972; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Латышев и др., 2001; Ramos et al., 2003; Saito, 2004; Phleger et al., 2005; Жукова, 2009). Доминирование двух полиненасыщенных кислот: 20:5n-3 и 22:6n-3 в жирнокислотном спектре двустворчатых моллюсков указывает на использование органического материала в световой зоне, где фитопланктон является основным продуктом питания (Fouad et al., 1992; Jahnke et al., 1995; Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Copeman, Parrish, 2000; Meireles et al., 2003). Таким образом, ПНЖК поступают в организм двустворчатых моллюсков с пищей, главным образом с микроводослями, обогащенными данными кислотами (Жукова, 2009). Следовательно, отмеченный повышенный уровень ПНЖК (в частности, линолевой, арахидоновой, линоленовой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот) в фосфолипидах беломорских мидий (табл.1) свидетельствует о том, что они питаются

планктоном, обогащенным данными эссенциальными липидными компонентами. Однако показано, что у морских двустворчатых моллюсков докозагексаеновая 22:6n-3 кислота может быть как водородослевого происхождения, так и частично синтезирована из эйкозапентаеновой 20:5n-3 кислоты (Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979). Для морских беспозвоночных характерны сезонные изменения полиненасыщенных кислот, коррелирующие с колебаниями ТАГ, которые тесно связаны с уровнем фитопланктона в морской воде (De Moreno et al., 1976a,б; Pazos et al., 2003). Основными жирными кислотами ТАГ морских беспозвоночных являются насыщенные - 14:0, 16:0 и 18:0 кислоты; моноеновые - 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7 кислоты; полиеновые - 20:4n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3 (Kraffe et al., 2002; Saito, 2004).

В настоящее время имеется немало сведений о присутствии в липидах морских беспозвоночных неметиленразделенных жирных кислот (НМРЖК), у которых двойные связи отделены друг от друга более чем одной метиленовой (-CH₂-) группой (Ackman, Hooper, 1973; Paradis, Ackman, 1975; Paradis, Ackman, 1977; Klingensmith, 1982; Жукова, 1992; Dembitsky et al., 1992; Захарцев и др., 1998; Pazos et al., 2003; Phleger et al., 2005). Помимо липидов беспозвоночных животных, НМРЖК описаны в жировом депо некоторых морских позвоночных, а также в некоторых видах морских водорослей (Ackman, Hooper, 1973; Paradis, Ackman, 1975; Paradis, Ackman, 1977; Johns et al., 1979; Klingensmith, 1982), но особенно высокие концентрации отмечены в морских двустворчатых моллюсках (Joseph, 1982). Необычная структура НМР жирных кислот придает им физико-химические свойства, позволяющие компенсировать недостаток полиенов обычного строения, обеспечивая необходимую жидкость мембран (Жукова, 1992). Для двустворчатых моллюсков характерна тканевая специфичность распределения НМРЖК (Klingensmith, 1982; Жукова, 1992). Они накапливаются в органах, выполняющих некоторые сходные функции: обеспечение организма кислородом, адсорбция веществ из морской воды, защита организма моллюска от воздействия микроорганизмов. Установлено, что НМРЖК локализируются в основном в фосфоли-

пидной фракции (Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998). Фосфолипиды являются структурными и функциональными компонентами клеточных мембран, а доминирование НМРЖК и полиненасыщенных кислот в фосфолипидах моллюсков подчеркивает важность этих кислот в поддержании необходимой степени ненасыщенности, мембранной целостности и проницаемости. Установлено (Zhukova, 1986), что моллюски способны синтезировать НМР кислоты *de novo* и избирательно включать их в различные классы липидов, главным образом в фосфолипиды. Предполагается, что 16:1n-7, 18:1n-7 и 20:1n-7 кислоты являются биосинтетическими предшественниками диеновых НМР кислот в морских моллюсках (Zhukova, 1991; Жукова, 1992; Хардин и др., 2002; Freitas et al., 2002б; Saito, 2004; Жукова, 2009). У них присутствуют ферменты для элонгации МНЖК до C22 и десатурации до неметиленразделенной структуры с помощью $\Delta 5$ десатуразы. Показано повышение концентрации НМРЖК при одновременном снижении уровня насыщенных (например, 14:0) и мононенасыщенных (в частности, 16:1n-7, 18:1n-9 и 18:1n-7) жирных кислот (Saito, 2004). Прослеживается обратная зависимость между содержанием НМРЖК и полиеновых кислот n-3 серии в липидах моллюсков. Вероятно, это связано с тем, что скорость автоокисления НМР кислот, имеющих изолированные двойные связи, ниже, чем у полиенов обычного строения. Этот эффект делает мембраны более стабильными к окислению, тогда как необходимый уровень мембранной жидкости сохраняется (Жукова, 1992).

I.2.2 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. из разных местообитаний в Белом море (литораль и марикультура)

Липидный состав литоральных беломорских *Mytilus edulis* значительно отличается от такового у мидий, обитающих на искусственных субстратах подвесной марикультуры (возраст моллюсков 4+). Необходимо указать, что размер раковины у субстратных мидий примерно в 3 раза больше, чем у литоральных моллюсков.

У субстратных *Mytilus edulis* повышенное содержание запасных липидов (рис.13), а также 16:0, 16:1n-7, 20:5n-3 и 22:6n-3 ЖК (рис.14), которые, как известно, имеют фитопланктонное происхождение и выполняют энергетические функции, свидетельствует о благоприятных условиях обитания данных моллюсков (доступность кормовых объектов, отсутствие приливно-отливных циклов) по сравнению с литоральными особями. Преобладание структурных липидов (ХС, ФХ, ФЭА, СФМ, ФИ) и 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6 и 20:4n-6 ЖК у литоральных мидий (рис. 14, 15 и 16) указывает на их важную функциональную роль при адаптации данных моллюсков к обитанию в постоянно изменяющейся приливно-отливной среде.

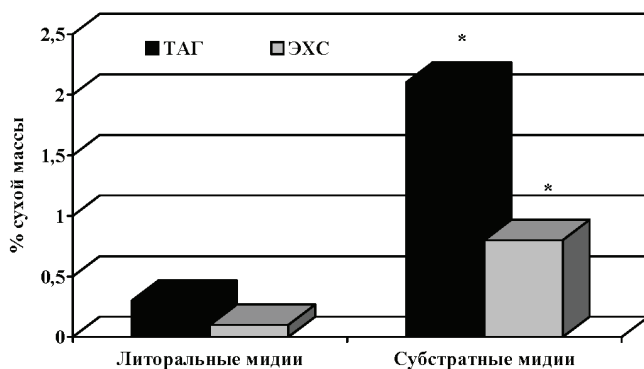


Рис. 13. Содержание запасных липидов (ТАГ и ЭХС) у литоральных и субстратных мидий (возраст моллюсков 4+)

* - различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении двух групп мидий

В подобных работах по изучению особенностей липидного состава у *Mytilus edulis* из различных местообитаний использовались моллюски с одинаковым размером раковины, тогда как возрастные характеристики исследуемых особей не учитывались (Freites et al., 2002а, б). При сравнительном анализе состава липидов беломорских мидий из разных мест обитаний (литораль и марикультура), но с одинаковым размером раковины (19–23 мм) были обнаружены некоторые различия в их составе. Важно отметить, что возраст литоральных мидий был равен 4-м годам, а субстратных – 0+.

Часть I. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

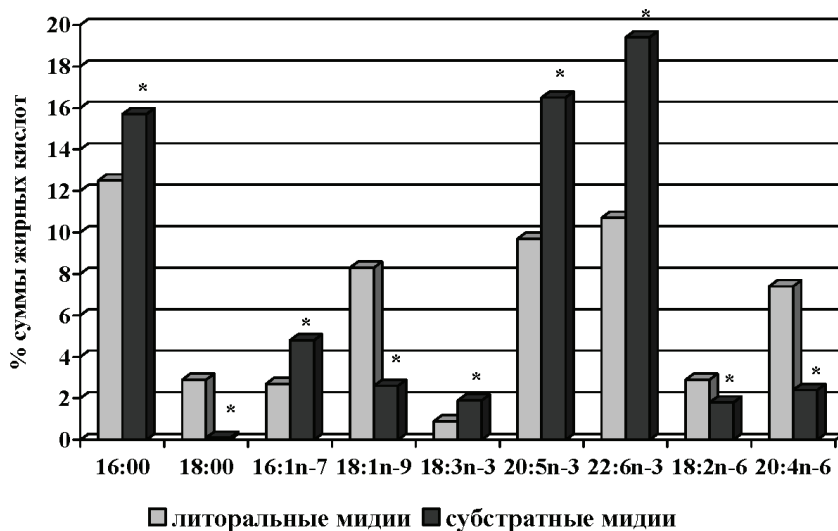


Рис. 14. Жирнокислотный состав литоральных и субстратных мидий (возраст моллюсков 4+).

* - различия достоверны ($p < 0,05$) между двумя группами мидий.

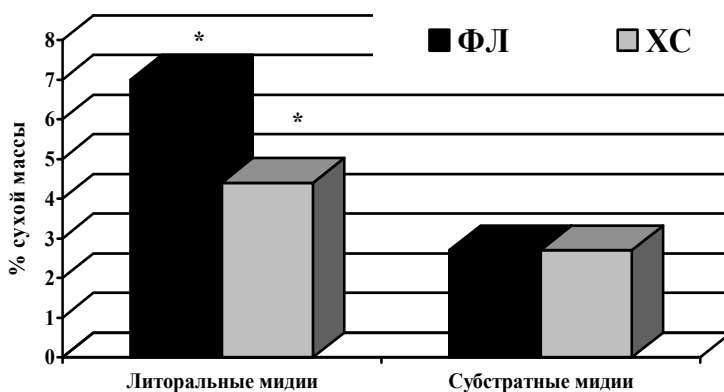


Рис. 15. Содержание структурных липидов (ФЛ и ХС) у литоральных и субстратных мидий (возраст моллюсков 4+).

* - различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении двух групп мидий

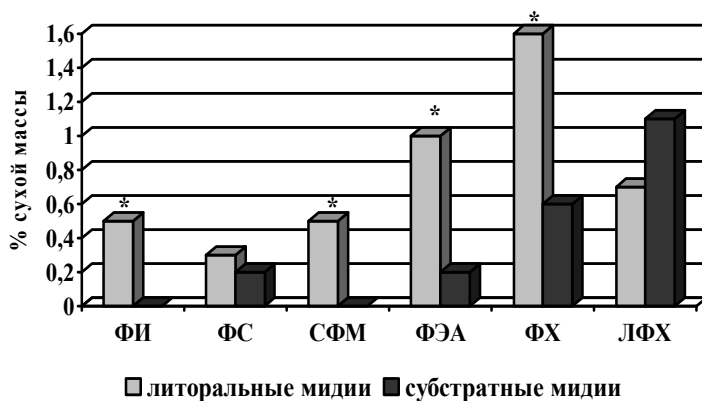


Рис. 16. Состав фосфолипидов у литоральных и субстратных мидий (возраст моллюсков 4+).

* - различия достоверны ($p < 0,05$) между двумя группами мидий



Рис. 17. Содержание основных липидных фракций у литоральных и субстратных мидий, возраст которых составлял 4+ и 0+, соответственно.

* - различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении двух групп мидий

Для литоральных мидий характерен высокий уровень липидов, выполняющих структурную (ФХ, ФЭА, СМ и 18:0 кислота) и регуляторную (18:1n-9 и 20:4n-6 ЖК) функции, тогда как субстратные

мидии отличались повышенным содержанием компонентов с запасной функцией (n-3 ПНЖК; 14:0 и 16:0 ЖК) (рис.17, 18 и 19).

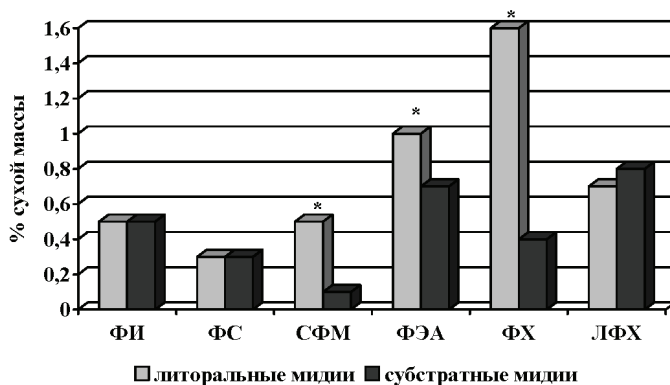


Рис. 18. Состав фосфолипидов у литоральных и субстратных мидий, возраст которых составлял 4+ и 0+, соответственно.

* - различия достоверны ($p < 0,05$) между двумя группами мидий.

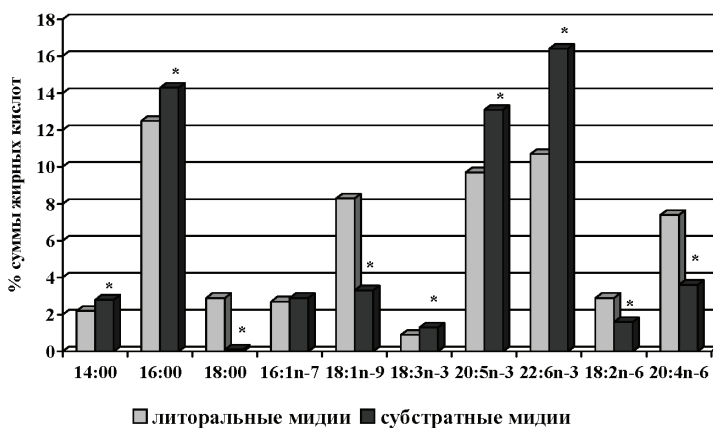


Рис. 19. Жирнокислотный состав литоральных и субстратных мидий, возраст которых составлял 4+ и 0+, соответственно.

* - различия достоверны ($p < 0,05$) между двумя группами мидий

В отличие от литоральных мидий 4+, которые устойчивы к воздействию различных факторов среды обитания, субстратные *Mytilus edulis* – неполовозрелые особи, поэтому выявленные отличия в их липидном составе могут быть вызваны не только особенностями исходных местообитаний моллюсков, но и стадией полового созревания. Таким образом, при сравнительном анализе липидного состава литоральных и субстратных мидий Белого моря корректнее использовать особей одного возраста, но с разным размером раковины. Сбор моллюсков одного возраста и с одинаковым размером раковины на литорали и субстратах марикультуры Белого моря не представляется возможным, так как периодические обсыхания, возникающие в прибрежной зоне моря во время приливо-отливных циклов, приводят к снижению метаболизма и, следовательно, к замедлению роста литоральных животных (Sukhotin, Portner, 2001). При этом, суровые условия обитания в прибрежной зоне моря препятствуют выживанию неполовозрелых моллюсков на данной территории. Показано, что моллюски располагаются в различных вертикальных зонах моря в соответствии со своими адаптивными потенциями. Молодь – сеголетки и годовики (возраст 0+ и 1+), имеющая ограниченные возможности приспособления к изменениям абиотических факторов, в том числе солености, обитает преимущественно в верхней сублиторали, где не так сильно сказывается на организм воздействие солености и обсыхания. Взрослые особи (старше 2-3 – летнего возраста), обладающие максимальной осмотической устойчивостью и толерантностью, составляют основную часть населения осушной зоны, характеризующейся меньшей стабильностью гидрологического режима (Бергер, 1986).

Таким образом, для каждой группы мидий, обитающих в двух различных зонах Белого моря (литораль и искусственные субстраты марикультуры) выявлены определенные особенности в количественном составе липидов. Литоральные моллюски, которые наиболее подвержены воздействию неблагоприятных факторов среды обитания, характеризуются высоким уровнем структурных липидов, тогда как мидии, обитающие на искусственных субстратах

марикультуры, отличаются повышенным содержанием запасных липидов, что указывает на сравнительно стабильные условия обитания данной группы *Mytilus edulis*.

1.2.3 Возрастные особенности липидного состава мидий *Mytilus edulis* L.

В прибрежных поселениях мидий на Белом море в основном обитают половозрелые особи (до 86%), которые наиболее устойчивы к воздействию экстремальных факторов окружающей среды (температура, соленость, обсыхание). Неполовозрелые 0+ и 1+ *Mytilus edulis* характеризуются низкой устойчивостью к действию данных неблагоприятных факторов и высокой смертностью в литоральной зоне, поэтому они преимущественно обитают в верхних сублиторальных зонах моря (Бергер, Луканин, 1979). Исходя из этого, для изучения липидного состава литоральных мидий были отобраны *Mytilus edulis*, средний возраст которых составлял 4+ и 8+.

У литоральных мидий 4-х и 8-ми летнего возраста не было выявлено значительных различий в составе структурных липидов. Следовые количества запасных липидов (ТАГ и ЭХС) у 8+ мидий (табл.2), вероятно, связаны с особенностями их местообитания (о. Матренин, губа Чупа, Кандалакшский залив). Показано, что у взрослых *Bivalvia* запасные липиды накапливаются, главным образом, в половых продуктах (Pollero et al., 1979; Pollero et al., 1981; Gabbott, 1976, 1983; Pieters et al., 1980; Davis, Wilson, 1983; Wenne, Styczynska-Jurewicz, 1987), поэтому отсутствие их у 8+ мидий может указывать на прекращение репродуктивных функций у моллюсков. Однако известно, что взрослые *Mytilus edulis* (6–8 лет) производят несоизмеримо больше гамет, чем молодые особи (2–4 года) (Hole et al., 1995; Sukhotin, Portner, 2001). Возможно, наличие следовых количеств запасных липидов у 8+ мидий в преднерестовый период связано с резорбцией половых продуктов, которая вызвана присутствием зеленых водорослей из рода *Nannochloris* в организме *Mytilus edulis*. Считается, что симбиоз моллюсков и данных водорослей вызывает дегенерацию гонад (Максимович, 1985; Galaktionov, 2001; Наумов, 2006) и, следовательно, приводит к снижению запасных липидов у прибрежных мидий.

Таблица 2

**Состав общих липидов и отдельных фракций фосфолипидов
у литоральных и сублиторальных мидий (% сухой массы)**

	Литоральные мидии		Сублиторальные мидии					
	4+	8+	0+	1+	2+	3+	4+	5+-6+
ОЛ	11,8	12,9	10,5	8,8	8,7	8,9	7,3 ⁴⁺	6,8
ФЛ	7,0	7,9	5,9 ⁴⁺	4,7	4,8	3,9	2,7 ⁴⁺	2,3
ХС	4,4	4,8	4,1	2,6	2,1	2,4	2,7 ⁴⁺	2,8
ТАГ	0,3 ⁸⁺	0,0	0,4	0,8	1,3	2,1	1,1 ⁴⁺	1,2
ЭХС	0,1 ⁸⁺	0,0	0,1	0,4	0,5	0,5	0,8 ⁴⁺	0,5
ХС/ФЛ	0,6	0,6	0,7	0,6	0,4	0,6	1,0 ⁴⁺	1,2
Фракции фосфолипидов:								
ФИ	0,5	0,7	0,5	0,2	0,1	0,1	0,0 ⁴⁺	0,1
ФС	0,3	0,4	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
ФЭА	1,0	1,1	0,7 ⁴⁺	0,9	0,3	0,3	0,2 ⁴⁺	0,3
НЛ X1	0,1	0,2	0,9	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
ФХ	1,6	1,3	0,9 ⁴⁺	0,9	0,8	0,6	0,6 ⁴⁺	0,7
НЛ X2	2,9	2,9	2,4	1,7	1,1	1,0	0,7 ⁴⁺	0,5
ЛФХ	0,7	1,1	0,8	0,5	1,8	1,5	1,1	0,6
СМ	0,5	0,2	0,1 ⁴⁺	0,2	0,0	0,0	0,0 ⁴⁺	0,0
ФХ/ФЭА	1,6	1,2	1,3	1,0	2,7	2,0	3,0 ⁴⁺	2,3

Примечание к таблице 2 и 3:

⁴⁺ - различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении субстратных мидий (0+ и 4+) с литоральными особями (4+);

⁸⁺ - различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении литоральных мидий (4+) с литоральными особями (8+).

Накопление 20:5n-3, 22:6n-3 и 18:0 кислот у 8+ мидий (табл.3) указывает на возможное участие этих кислот в поддержании целостности структуры мембран, поскольку у двустворчатых моллюсков данные кислоты в основном входят в состав фосфолипидов мембран (Pazos et al., 1997; Perry et al., 1979; Freitas et al., 20026). Высокий уровень 18:1n-7, 20:1n-7 и неметиленразделенных жирных кислот (НМРЖК) у 8+ мидий (табл.3) может свидетельствовать об усиленном метаболизме НМРЖК, поскольку известно, что моноеновые кислоты 16:1n-7, 18:1n-7 и 20:1n-7 участвуют в биосинтезе НМРЖК. Благодаря особенностям своей структуры,

НМРЖК более устойчивы к воздействию ряда неблагоприятных факторов окружающей среды (Klingensmith, 1982; Zhukova, 1986; Жукова, 1992).

Таблица 3

**Состав жирных кислот у литоральных и субстратных мидий
(% суммы жирных кислот)**

	Литоральные мидии		Сублиторальные мидии					
	4+	8+	0+	1+	2+	3+	4+	5+-6+
14:0	2,2	2,3	2,8 ⁴⁺	3,2	2,7	3,2	2,5	2,8
15:0	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7
16:0	12,5	12,6	14,3 ⁴⁺	15,0	15,0	15,5	15,7 ⁴⁺	14,2
18:0	2,9 ⁸⁺	1,7	0,1 ⁴⁺	0,1	0,1	0,1	0,1 ⁴⁺	0,1
20:0	0,1 ⁸⁺	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1
Σ НЖК	18,3⁸⁺	17,5	18,1	19,0	18,5	19,6	19,1	17,9
15:1	1,5 ⁸⁺	1,3	1,2	1,0	1,0	0,9	0,8 ⁴⁺	0,8
16:1n-9	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2
16:1n-7	2,7	1,6	2,9	4,6	4,3	5,5	4,8 ⁴⁺	5,7
16:1n-5	1,8	2,2	1,8	1,6	1,7	1,4	1,6	1,4
18:1n-9	8,3	5,8	3,3 ⁴⁺	3,7	3,0	2,4	2,6 ⁴⁺	2,3
18:1n-7	3,5 ⁸⁺	5,8	3,4	3,6	2,8	3,1	2,5 ⁴⁺	2,8
18:1n-5	3,9	3,1	2,0 ⁴⁺	2,6	2,3	2,3	2,5	2,7
20:1n-11	0,8 ⁸⁺	1,5	1,1	1,0	1,0	1,1	0,9	1,0
20:1n-9	3,5	2,6	4,8 ⁴⁺	4,4	4,1	4,1	3,8	4,1
20:1n-7	0,9	2,0	0,6	0,8	0,7	0,8	0,7	1,0
22:1n-11	0,4	0,4	0,1 ⁴⁺	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2
Σ МНЖК	27,6	26,5	21,5⁴⁺	24,0	21,4	21,8	20,6⁴⁺	22,1
16:4n-3	6,0	6,0	6,3	4,2	5,4	4,2	5,3	4,6
18:3n-3	0,9	0,9	1,3 ⁴⁺	1,7	2,0	2,2	1,9 ⁴⁺	2,1
18:4n-3	2,3	1,8	1,8	0,6	0,8	0,6	0,8 ⁴⁺	0,8
20:2n-3	0,2 ⁸⁺	0,1	0,5 ⁴⁺	0,5	0,3	0,2	0,3	0,2
20:3n-3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
20:4n-3	0,3 ⁸⁺	0,2	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5
20:5n-3	9,7 ⁸⁺	11,5	13,1 ⁴⁺	13,1	14,8	14,7	16,5 ⁴⁺	15,4
22:5n-3	0,6	0,8	0,9 ⁴⁺	1,2	1,0	1,1	1,1 ⁴⁺	1,2
22:6n-3	10,7 ⁸⁺	11,8	16,4 ⁴⁺	17,3	18,8	18,8	19,4 ⁴⁺	19,4
Σ n-3 ПНЖК	31,0	33,2	41,0⁴⁺	39,3	43,7	42,6	45,9⁴⁺	44,4

Окончание табл. 3

16:2n-6	0,8	0,8	0,7	0,6	0,6	0,5	0,6 ⁴⁺	0,4
16:3n-6	1,4	1,5	1,5	1,4	1,6	1,4	1,5	1,4
18:2n-6	2,9	1,9	1,6	1,8	1,8	2,0	1,8	2,0
20:2n-6	0,6	0,6	0,8 ⁴⁺	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
20:3n-6	1,2	1,2	1,2	0,9	0,8	0,7	0,8 ⁴⁺	0,7
20:4n-6	7,4	7,4	3,6 ⁴⁺	2,7	2,5	2,3	2,4 ⁴⁺	2,7
22:2n-6	2,6	2,8	2,9 ⁴⁺	2,8	2,6	2,3	1,8 ⁴⁺	2,0
22:3n-6	1,3	1,3	1,5 ⁴⁺	1,5	1,2	1,2	0,9 ⁴⁺	1,1
22:4n-6	0,8	0,7	0,4 ⁴⁺	0,2	0,2	0,2	0,1 ⁴⁺	0,3
22:5n-6	0,7	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5
Σ n-6 ПНЖК	19,6	18,8	14,9⁴⁺	13,1	12,4	11,5	10,9⁴⁺	11,6
20:2n-9	2,4	2,7	3,3 ⁴⁺	3,1	2,8	3,0	2,3	2,5
22:2n-9	0,4 ⁸⁺	0,5	0,5	0,6	0,4	0,5	0,3	0,5
Σ n-9 ПНЖК	2,8	3,2	3,8⁴⁺	3,7	3,2	3,4	2,6	3,0
Σ НМРЖК	0,7⁸⁺	0,8	0,7	0,9	0,8	1,0	0,9⁴⁺	1,1
18:2/20:4	0,4	0,3	0,5	0,7	0,8	0,9	0,8 ⁴⁺	0,8
Σ ПНЖК	54,1	56,0	60,4⁴⁺	57,0	60,1	58,6	60,3⁴⁺	60,1
<i>НЖК/ПНЖК</i>	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
<i>n-3/n-6</i>	1,6	1,8	2,8 ⁴⁺	3,0	3,6	3,7	4,2 ⁴⁺	3,8

Искусственные субстраты марикультуры характеризуются более стабильным температурным, соленостным и кислородным режимом, по сравнению с литоральной зоной моря. На субстратах мидии развиваются от планктонной личинки (велигер) до прикрепленного организма (Кулаковский, 2000). Для изучения возрастных особенностей липидного состава мидий, обитающих на искусственных субстратах марикультуры (бухта Круглая, губа Чупа, Кандакшский залив Белого моря), были использованы прикрепленные моллюски в возрасте от 0+ до 5+-6+ лет.

В содержании липидов у субстратных мидий были выявлены некоторые особенности, связанные с различным возрастом исследованных моллюсков. У молодых 0+-3+ мидий уровень ХС и ФЛ повышен, по сравнению с моллюсками старших возрастов (табл. 2), что указывает на замедление метаболизма структурных липидов у

последних. Накопление ТАГ у взрослых мидий может быть вызвано, с одной стороны, замедлением энергетического обмена, а с другой – созреванием половых продуктов и накоплением в них запасных липидов, так как известно, что с двухлетнего возраста *Mytilus edulis* L. становятся половозрелыми (Бергер, Луканин, 1979), а ТАГ накапливаются главным образом в репродуктивной ткани (De Moreno et al., 1976a; Pollero et al., 1979; Pollero et al., 1981; Arts, Wainman, 1998; Pazos et al., 2003). У неполовозрелых мидий (0+–1+) высокий уровень структурных липидов, а именно ФХ, СФМ и холестерина, очевидно, обеспечивает устойчивость мембран к воздействию различных факторов среды (табл.2). В тоже время у молодых особей соотношение доминирующих фосфолипидов – ФХ/ФЭА близко к единице (1,3 и 1,0 у 0+ и 1+ мидий, соответственно), что также способствует стабилизации мембран. Повышенное содержание ЛФХ у 2+–4+ мидий (табл.2), вероятно, свидетельствует о его дополнительном синтезе и важной метаболической роли для моллюсков на данной стадии развития. Известно, что ЛФХ принимает участие в регуляторных процессах жизнедеятельности клетки, а также влияет на трансмембранную передачу сигнала внутрь клетки через различные рецепторы, активирует протеинкиназы С (Проказова и др., 1998) и Na^+, K^+ -АТФазу (Oishi et al., 1990). У 0+ мидий повышенный уровень ФИ, а также 20:4n-6 кислоты указывает на значимость данных липидов для неполовозрелых моллюсков (табл.2 и 3). ФИ является основным источником диацилглицерина (ДАГ), арахидоновой 20:4n-6 кислоты и фосфатов (ФИ-4-фосфат и ФИ-4,5-дифосфат). ДАГ выступает в роли вторичного посредника и активирует протеинкиназу С, которая, в свою очередь, контролирует ключевые функции клетки (Кучеренко, Блюм, 1986; Ткачук, 1998; Di Paolo, de Camilli, 2006). Арахидоновая 20:4n-6 кислота – это основной предшественник биологически активных веществ – эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов и др.), которые имеют широкий спектр физиологического действия (Tocher, 2005). Пониженное содержание 20:4n-6 кислоты наряду с высокими концентрациями 18:2n-6 кислоты у 1+–6+ моллюсков указывает на снижение метаболизма

арахидоновой кислоты у мидий старшего возраста (табл. 3). Низкий уровень полиеновых кислот n-3 ряда (20:5 и 22:6) у неполовозрелых мидий свидетельствует об использовании данных кислот либо для синтеза эйкозаноидов, либо для получения метаболической энергии. Эйкозапентаеновая 20:5n-3 кислота может быть предшественником для синтеза эйкозаноидов, а докозагексаеновая 22:6n-3 кислота может выступать в роли источника энергии при экстремальных условиях среды обитания (Freites et al., 2002б; Tocher, 2005). Наряду с n-3 ПНЖК, у морских животных для удовлетворения энергетических нужд используются моноеновые кислоты (Tocher, 2005), поэтому колебания в количестве 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7 и 20:1n-9 кислот, а также их изомеров по положению двойной связи (табл.3), у молодых мидий предполагают их использование в качестве источников метаболической энергии.

1.2.4 Распределение липидов по некоторым органам мидий *Mytilus edulis* L.

Жабры и мантия двустворчатых моллюсков наиболее сильно подвержены воздействию различных факторов среды обитания, особенно, для них характерна специфичность в регуляции клеточного объема в ответ на понижение солености (Neufeld, Wright, 1996). Липидный состав данных органов имеет некоторые особенности. В жабрах литоральных и субстратных мидий, по сравнению с остальными органами, заметно доминирование ХС в составе ОЛ, а также повышенное содержание ФХ по отношению к ФЭА (табл. 4). Указанные особенности состава липидов жабр свидетельствуют о повышенной вязкости липидного бислоя, что, по-видимому, необходимо для поддержания целостности мембран при влиянии неблагоприятных факторов среды обитания. Некоторыми авторами также показано накопление ХС и ПНЖК в жабрах мидий, а также предполагается участие данных липидных компонентов в дыхательном процессе (Кандюк, 1979; Кандюк, 1987; Bergmann, 1962; Bloomfield, Bloch, 1958; Bloomfield, Bloch, 1960).

Таблица 4

**Липидный состав некоторых органов литоральных
и субстратных мидий Белого моря (% сухой массы)**

	Литоральные мидии				Субстратные мидии			
	Жабры	Край мантии	Мантия	Нога	Жабры	Край мантии	Мантия	Нога
ОЛ	14,1	10,5	14,3	9,8	9,9	8,8	12,4	11,6
ФЛ	5,8	6,4	9,3	6,7	4,1	5,8	5,9	7,5
ХС	7,8	3,6	4,0	2,9	5,7	3,0	2,5	4,1
ТАГ	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0	4,0	0,0
ЭХС	0,6	0,2	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
ХС/ФЛ	1,4	0,6	4,0	0,4	1,5	0,5	0,4	0,6
Фракции фосфолипидов:								
ФИ	0,0	0,2	0,0	0,1	0,01	0,0	0,0	0,1
ФС	0,1	0,2	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	0,3
ФЭА	0,2	0,6	1,1	0,8	0,2	0,6	0,7	0,7
Х1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
ФХ	3,2	4,8	5,7	4,0	2,3	2,6	3,8	4,1
Х2	0,8	1,0	0,5	0,6	0,8	0,3	0,5	0,7
ЛФХ	1,2	0,0	1,5	0,9	0,5	1,1	0,7	0,5
СМ	0,01	0,0	0,1	0,0	0,02	0,1	0,0	0,0
ФХ/ФЭА	14,0	8,0	5,2	5,0	12,1	4,3	5,4	5,9

Накопление ТАГ, а также высокое содержание ПНЖК (табл.4 и 5) (в частности, 18:3n-3, 20:5n-3 и 22:6n-3), которые, как известно, имеют фитопланктонное происхождение, наблюдается главным образом в сагиттальной части мантии мидий, где происходит созревание половых продуктов, а также накопление питательных веществ, необходимых для развития гонад (Pollero et al., 1979; Pollero et al., 1981).

На поверхности мантийной ткани и жабр моллюсков находятся осмо- и натриорецепторы (Бергер, 1986), активность которых во многом зависит от их липидного окружения, поэтому повышенный уровень основных и минорных фосфолипидов (ФЭА, ФХ, ФС, ЛФХ и СФМ) обеспечивает нормальную работу встроенных в мембрану белков и рецепторов. Для дистальной части мантии (край мантии) и жабр мидий характерно высокое содержание 20:4n-6 и 22:2n-6 кислот (табл.5), причем в этих органах

были отмечены следовые количества ФИ. Вероятно, у мидий 20:4n-6 кислота может содержаться в большом количестве не только во фракции ФИ (Кучеренко, Блюм, 1986; Bell et al., 1986; Ткачук, 1998; Tocher, 2005), но и во фракции ФХ, что было показано нами у беломорских *Mytilus edulis* (табл.1). Повышенный уровень n-6 кислот в жабрах и дистальной части мантии может указывать не только на необходимость этих кислот для синтеза метаболитов с высокой физиологической активностью (эйкозаноидов), но и для придания определенной вязкости мембранам. Известно, что температура плавления n-6 ПНЖК выше, чем у n-3 полиенов, поэтому мембраны, обогащенные n-6 кислотами более стабильны к воздействию факторов внешней среды (Крепс, 1981; Bell et al., 1986).

Нога – это основной мышечный орган двустворчатых моллюсков, который в связи с неподвижным образом жизни мидий в естественной среде обитания не выполняет функцию перемещения, а в основном служит для выделения биссусных нитей. Липидный состав этого органа у мидий характеризуется высокими концентрациями ФХ, ФЭА и ЛФХ, а также повышенным содержанием 16:1n-7, 20:1n-9, 18:2n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3 кислот (табл.4 и 5).

Во всех исследованных органах литоральных и субстратных мидий, за исключением сагиттальной части мантии, отмечен высокий уровень n-9 кислот (табл.5), которые, как известно, накапливаются в тканях животных при недостатке незаменимых n-3 и n-6 ПНЖК. Необходимо отметить, что у беломорских мидий все изученные органы характеризуются относительно высокими концентрациями НМРЖК. Это согласуется с литературными данными (Freites et al., 2002 а, б), где показано, что жабры, мантия и нога – органы, которые наиболее сильно подвержены воздействию окружающей среды, обладают повышенным содержанием жирных кислот с необычной структурой, в частности НМРЖК. Вероятно, наличие НМРЖК и n-9 ЖК придает устойчивость наружных мембран морских беспозвоночных к липазному микробному воздействию, а также к неблагоприятному влиянию условий среды обитания (температуры, солёности, недостатку кислорода и др.).

Таблица 5

**Жирнокислотный состав некоторых органов литоральных
и субстратных мидий (% суммы жирных кислот)**

	Литоральные мидии				Субстратные мидии			
	Жабры	Край мантии	Мантия	Нога	Жабры	Край мантии	Мантия	Нога
14:0	3,3	1,6	1,6	0,9	1,6	1,6	3,4	1,8
15:0	0,5	1,0	1,1	0,7	0,5	0,7	0,7	0,9
16:0	11,4	16,6	14,8	15,0	11,4	15,9	18,5	17,1
18:0	8,1	2,4	2,5	2,6	5,2	3,8	1,8	1,3
20:0	0,9	0,2	0,5	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4
Σ НЖК	24,1	21,6	20,5	19,4	19,1	22,2	24,6	21,3
15:1	1,4	1,1	0,6	0,6	1,0	0,9	0,3	1,0
16:1n-9	0,4	0,5	0,0	0,0	0,4	0,1	0,1	0,3
16:1n-7	4,0	2,3	4,6	7,8	3,5	6,1	9,8	4,3
16:1n-5	1,4	1,1	1,2	2,8	1,2	1,4	1,0	1,3
18:1n-9	3,9	5,5	4,4	4,0	3,0	4,3	3,0	4,8
18:1n-7	3,4	2,1	2,2	2,3	1,7	2,7	2,0	3,1
18:1n-5	1,8	1,9	2,3	1,6	2,2	2,1	2,9	2,1
20:1n-11	1,9	2,2	1,4	1,9	2,5	2,2	1,4	1,9
20:1n-9	1,7	4,8	3,4	4,8	1,6	4,0	2,5	4,3
20:1n-7	0,4	0,9	1,1	1,3	0,7	1,1	1,0	1,1
22:1n-11	0,2	0,0	0,0	0,1	0,4	0,1	0,0	0,0
22:1n-9	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,2
Σ МНЖК	20,4	22,7	21,2	27,3	18,0	24,8	24,2	24,5
16:4n-3	0,3	6,1	3,0	0,8	3,9	1,0	0,9	5,1
18:3n-3	0,6	0,9	1,6	1,4	0,6	0,8	1,6	0,9
18:4n-3	0,7	1,8	1,7	0,7	1,2	1,3	2,7	1,1
20:2n-3	1,1	0,8	0,6	0,7	1,4	0,5	0,4	0,5
20:3n-3	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0,1
20:4n-3	0,3	0,2	0,5	0,3	0,3	0,4	0,5	0,2
20:5n-3	9,8	9,0	13,4	13,6	13,1	11,6	15,6	10,8
22:5n-3	1,1	1,1	1,7	1,5	1,0	1,3	1,2	1,2
22:6n-3	13,7	12,8	16,3	17,9	15,6	15,7	14,8	14,7
Σ n-3 ПНЖК	27,7	33,0	39,0	37,2	37,3	32,9	38,0	34,5
16:2n-6	0,4	0,6	0,5	1,1	0,4	0,6	0,4	0,5
16:3n-6	1,3	1,6	1,3	1,5	1,2	1,8	1,5	1,7
18:2n-6	1,3	1,5	2,3	1,7	0,9	1,8	2,0	2,0
20:2n-6	1,6	1,7	0,8	1,3	1,8	1,3	0,5	1,3
20:4n-6	6,6	5,1	3,5	4,9	5,2	3,7	1,9	3,9

Окончание табл. 5

22:2n-6	5,7	3,1	2,4	2,3	7,1	2,9	1,9	2,3
22:3n-6	1,8	0,8	1,0	0,3	1,9	0,6	0,5	0,8
22:4n-6	0,8	0,8	1,4	0,5	0,4	0,8	0,4	0,6
22:5n-6	0,9	0,6	1,1	0,5	0,6	0,4	0,4	0,6
$\sum n-6$ ПНЖК	20,4	15,8	14,3	14,0	19,6	13,9	9,4	13,6
20:2n-9	4,8	4,2	2,7	3,7	3,9	3,9	1,8	3,3
22:2n-9	1,1	0,9	0,6	0,6	0,9	0,6	0,4	0,6
22:3n-9	0,3	1,0	0,1	1,3	0,3	0,7	0,6	1,0
$\sum n-9$ ПНЖК	6,2	6,0	3,5	5,6	5,1	5,2	2,8	4,8
$\sum$ НМРЖК	1,1	1,0	1,5	1,1	1,0	1,1	1,1	1,2
18:2/20:4	0,2	0,3	0,7	0,3	0,2	0,5	1,1	0,5
$\sum$ ПНЖК	55,4	55,7	58,3	57,9	62,9	53,2	51,3	54,2
НЖК/ПНЖК	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4
n-3/n-6	1,4	2,1	2,7	2,7	1,9	2,4	4,0	2,5

Таким образом, анализ липидного состава литоральных и субстратных мидий показал специфичность в распределении липидов по органам, что объясняется характерными функциями исследованных органов у *Mytilus edulis*. Несмотря на одинаковый состав липидов некоторых органов у двух групп мидий, имеется ряд особенностей, связанных со специфическими условиями среды обитания моллюсков (литораль и искусственные субстраты марикультуры). В отдельных органах субстратных мидий заметно выше содержание запасных липидов, а уровень структурных липидов незначительно, но выше у литоральных *Mytilus edulis*. Подобное явление было отмечено при сравнительном анализе липидного состава целых организмов мидий из различных местообитаний (литораль и марикультура).

1.2.5 Сравнение липидного состава мидий *Mytilus edulis* с другими видами двустворчатых моллюсков Белого моря

Изучался липидный состав *Mytilus edulis* (возраст моллюсков 5-6 лет, размер раковины 65,8 мм), *Hiatella arctica* (размер раковины 26,6×14,5×12,2 мм) и *Modiolus modiolus* (размер раковины 63,7×32,7 мм) (рис.20). Исследуемые виды двустворчатых моллюсков были собраны весной (март-апрель) на глубине 2-3 м в бухте Круглая с искусственных субстратов экспериментальной марикультуры (губа Чупа, Кандалакшского залива Белого моря).

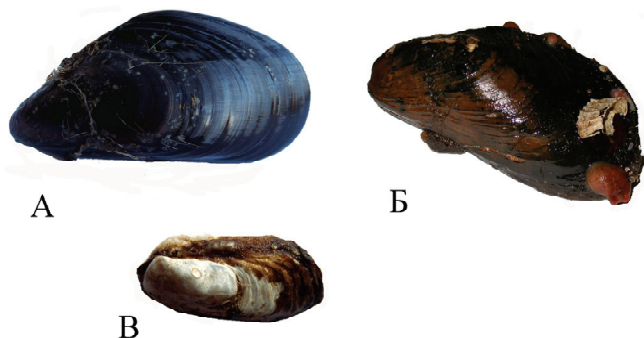


Рис. 20. Внешний вид исследуемых двустворчатых моллюсков Белого моря (фото И.Н. Бахмета).

А – *Mytilus edulis*; Б – *Modiolus modiolus*; В – *Hiatella arctica*

Данные виды моллюсков отличаются между собой по выбору исходных мест обитаний. Как отмечалось выше, мидии *Mytilus edulis* – это хорошо адаптированные животные, которые могут обитать как на периодически подвергающейся воздействию неблагоприятных факторов литорали, так и в относительно спокойной сублиторальной зоне моря. *Hiatella arctica* выбирает в качестве своего местообитания так называемые «убежища», а *Modiolus modiolus* предпочитает заселять территории, лишённые неблагоприятного воздействия.

Hiatella arctica (отряд *Luciniformes*, надсемейство *Hiatelloidea*, семейство *Hiatellidae*) – широко распространенный субтропическо-арктический циркумполярный вид, проникающий в южное полушарие. Данный моллюск отмечен во всех морях Северного Ледовитого океана. В Атлантическом океане расселяется на юг до тропика Рака, в Тихом – до залива Посыета и Панамы. В южном полушарии отмечен у берегов Австралии, Новой Зеландии, Патагонии и Южной Африки (Наумов, 2006). Раковина у *Hiatella arctica* вытянутая, белая, неправильно четырехугольная, слабо неравностворчатая, неравносторонняя, неперламутровая (рис. 20). В Белом море моллюск отмечен на глубинах от 2 до 140 метров при температуре от $-0,9$ до $20,3$ °C и солености от 16,4 до 30,1‰,

в основном на илистых и смешанных грунтах. *Hiatella arctica* – фильтрующий сестонофаг. Характерная форма в биоценозах обрастаний (Наумов, 2006). Данный моллюск демонстрирует свойства биоценотического пациента, а именно он всегда присутствует в обрастаниях, как один из наиболее значимых субдоминантов, но, практически, никогда не занимает лидирующего положения в сообществе. Из-за конкуренции со стороны *Mytilus edulis* и *Styela rustica* в сообществах обрастания *Hiatella arctica* имеет ограниченный доступ к ресурсам (пища, свободное пространство). Следовательно, высокий физиологический статус моллюсков может поддерживаться только при невысокой плотности и биомассе поселения *Hiatella arctica*. (Халаман, 2008). Данный моллюск поселяется открыто на неровностях субстрата, иногда прикрепляясь биссусом. Часто молодые особи забираются в щели скал, домиков живых или мертвых баянусов, в раковины других моллюсков и т.п. В тех случаях, когда размеры убежища невелики, а подросший моллюск уже не может его покинуть, пропорции животного резко изменяются в соответствии с внутренней формой укрытия (Наумов, 2006). Половозрелости данные моллюски достигают на 1-2 году жизни при длине раковины 8–10 мм. Нерест происходит в июне-июле при температуре 6–10 °С, наибольшая плотность личинок отмечена в июле-августе. Продолжительность жизни в Белом море – 6 лет (Наумов, 2006).

Modiolus modiolus – широко распространенный субтропическо-амфибореальный вид семейства *Mytilidae*. Встречается в Баренцевом, Белом, Чукотском морях, у берегов Гренландии и Исландии. В Атлантическом океане расселяется на юг до Бискайского залива, в Тихом океане – до Охотского моря и Сан-Педро. Раковина у *Modiolus modiolus* заметно митилизирована, вытянута, равностворчатая, коричнево-черного цвета, перламутровая (рис.20) (Наумов, 2006). Модиюлус – это стенотермный умеренно тепловодный, относительно стенобатный, стенотопный, предпочитающий жесткие грунты (Федяков, 1986). В Белом море данный вид двустворчатых моллюсков обнаружен на глубинах от 8 до 140 м при температуре от –1,2 до 8,7 °С и солености от 25,4 до 30,1‰, а наибольшие

значения биомассы и плотности поселения наблюдаются около 30 м, причем средние размеры относительно равномерно снижаются с ростом глубины (Наумов, 2006). Установлено, что модиолус предпочитает спокойные воды, т.е. обитает в условиях отсутствия прямого воздействия волн (Вехова, 2007). *Modiolus modiolus* – фильтрующий сестонофаг. Прикрепляется биссусом к гравию, склеивая его частицы в довольно плотные конгломераты (Наумов, 2006). Показано, что тонкие и длинные биссусные нити *Modiolus modiolus* отражают адаптацию этого вида к обитанию не только на твердом, но и на мягком грунте, в который они глубоко проникают, прикрепляются к многочисленным частицам, и таким образом, придают моллюску устойчивое положение (Вехова, 2007). В Кандакшском заливе модиолус встречается преимущественно внутри ризоидов *Laminaria* или среди зарослей багрянок. Половой зрелости достигают при длине раковины 21–24 мм. Нерест происходит с середины июня по сентябрь, а личинки встречаются в планктоне с июня по ноябрь (Flyachinskaya, Naumov, 2003). Продолжительность жизни в Белом море неизвестна, однако по некоторым данным она составляет 61 год в Японском море и 45–50 лет в Северном и Исландском морях (Золотарев, 1989; Anwar et al., 1990).

Исходя из вышесказанного следует, что данные виды двустворчатых моллюсков отличаются между собой выбором исходного местообитания, условиями среды обитания, устойчивостью к действию различных факторов, а также некоторыми физиологическими параметрами (например, скоростью соматического роста, типом биссусной нити и др.).

В настоящем исследовании двустворчатые моллюски были собраны с субстратов марикультуры, причем *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* первоначально были искусственно пересажены с естественных местообитаний в садки марикультуры на глубину 2–3 м и обитали там до двух лет. Все исследованные моллюски в данный период времени находились в относительно стабильных условиях среды, а именно, в хорошо прогреваемых поверхностных слоях воды, постоянно промываемых течениями, при отсутствии волновой и приливно-отливной активности, лишённые контакта с

грунтом, а, следовательно, с потенциальными хищниками и паразитами. Таким образом, в результате перечисленных манипуляций были нивелированы различия в исходных условиях местообитаний моллюсков, т.е. различия в гидродинамических условиях, пищевой доступности, качестве пищи и др. Как отмечалось выше, *Mytilus edulis*, *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* являются фильтрующими организмами, которые преимущественно питаются сестоном, т.е. мелкими планктонными организмами и взвешенными в воде неорганическими и органическими (детрит) частицами. Обитая на субстратах марикультуры, моллюски находятся в сходных условиях среды, используют в качестве пищи одинаковые компоненты. Следовательно, отмеченные различия в липидном и жирнокислотном составе моллюсков являются исключительно видоспецифичными, а не обусловленными условиями среды обитания. Необходимо отметить, что нерест исследуемых беломорских двустворчатых моллюсков происходит в сходные сроки (июнь-июль), поэтому сбор материала для проведения дальнейшего биохимического анализа был осуществлен весной (т.е. в преднерестовый период).

Липиды, особенно жирные кислоты, являются маркерами, определяющими условия среды обитания организма, доступность и состав пищи, а также физиологическое состояние организмов. Как отмечалось выше (глава Суммарные липиды и их основные классы, рис. 13) состав общих липидов *Modiolus modiolus* характеризуется повышенным содержанием запасных липидов (ТАГ и ЭХС), тогда как у *Hiatella arctica* – структурных липидных компонентов, а именно фосфолипидов (рис.21). Мидии *Mytilus edulis*, по сравнению с *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica*, характеризуются повышенными концентрациями холестерина и триацилглицеринов, что указывает на благоприятные пищевые условия обитания беломорских мидий. В отличие от *Mytilus edulis*, которые обитают непосредственно на субстратах марикультуры и постоянно промываются течениями, обеспечивающими поступление пищи, *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* обитают в садках, которые, вероятно, плохо промываются свежей морской водой, тем самым ограничивают доступность пищевых ресурсов.

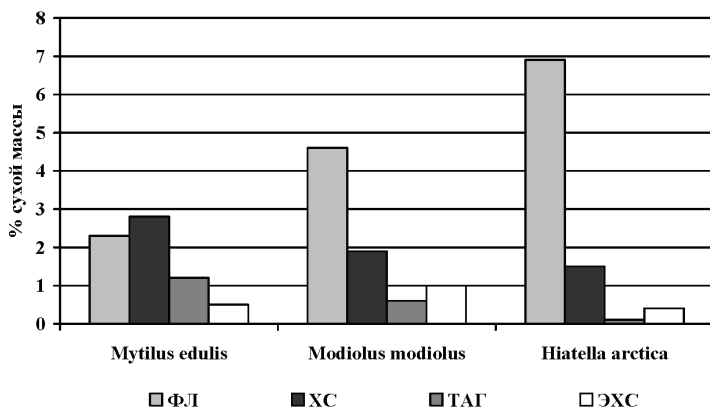


Рис. 21. Липидный состав (% сухой массы) некоторых видов двустворчатых моллюсков, обитающих в Белом море

Немаловажной характеристикой содержания структурных липидов является показатель ФЛ/XC, отражающий степень вязкости биологических мембран. Примерно равное единицы соотношение данных структурных липидных компонентов отмечено у мидий (0,8), в тоже время у *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* показано преобладание содержания ФЛ над XC примерно в 2 и 5 раз, соответственно. У всех исследованных видов моллюсков в составе фосфолипидов доминировали ФХ и ФЭА. Однако у *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica*, по сравнению с *Mytilus edulis*, концентрация этих основных мембранных фракций значительно выше (рис.22). Вероятно, повышенное содержание общих фосфолипидов и доминирующих фракций ФЛ у *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* является видовой характеристикой липидного состава данных моллюсков.

Содержание минорного мембранного фосфолипида - ФС значительно выше у беломорских мидий. Данный фосфолипид необходим для регуляции клеточного объема и активности некоторых ферментов (в частности, Na^+/K^+ -АТФазы) в результате действия осмотического стресса (De Moreno et al., 1976a; Болдырев, 1998; Christie, www.lipidlibrary.co.uk), поэтому его высокое содержание у

Mytilus edulis, возможно, является биохимической эволюционной адаптацией данных двустворчатых моллюсков к периодическому влиянию различной солености морской воды. Из всех исследованных в настоящей работе видов моллюсков только мидии, обитающие в приливно-отливной зоне моря, подвергаются смене солености морской воды. Необходимо отметить, что все исследованные двустворчатые моллюски, обитающие в Белом море, содержат следовые количества СФМ, который, как известно, является минорным компонентом биомембран и выполняет регуляторные функции (Scheek et al., 1997; Коломийцева и др., 2003; Christie, www.lipidlibrary.co.uk). Вероятно, уровень данного фосфолипида будет колебаться под действием различных факторов окружающей среды, обеспечивая устойчивость и жизнеспособность организмов.

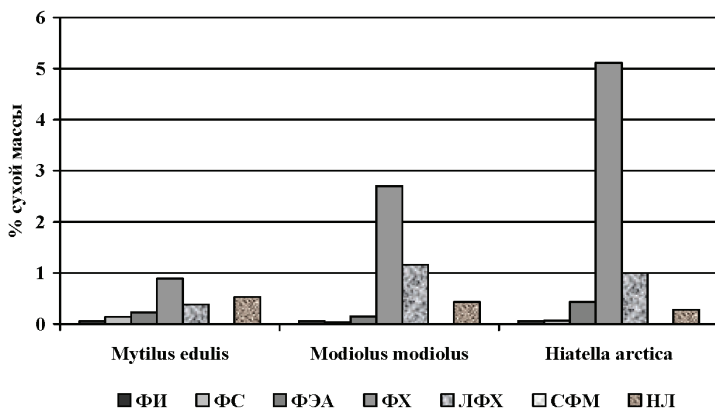


Рис. 22. Фосфолипидный состав (% сухой массы) некоторых видов двустворчатых моллюсков, обитающих в Белом море

Известно, что характерным биомаркером, определяющим тип питания и преимущественный источник пищевых ресурсов, являются жирные кислоты (Kharlamenko et al., 1995; Caramujo et al., 2008; Жукова, 2009). Так маркером плотоядности является показатель 18:1n-9/18:1n-7 ЖК (Латышев и др., 2001). Установлено, что для детритоядных организмов (в том числе двустворчатых

моллюсков) данное соотношение выше единицы, а для плотоядных (например, морских звезд – хищники двусторчатых моллюсков) – ниже единицы. Кроме того, соотношение 16:0/16:1n-7, а также повышенные концентрации n-3 ПНЖК (главным образом, 20:5n-3) указывают на фитопланктонный тип питания, а именно питание диатомовыми водорослями (Kharlamenko et al., 1995; Caramujo et al., 2008). Известно, что бактерии донных отложений преимущественно содержат высокие концентрации 16:1n-7 и 18:1n-7 ЖК, а цианобактерии – 18:1n-9 и 18:2n-6 ЖК, поэтому повышенное содержание данных кислот в моллюсках может свидетельствовать о микробиотическом типе питания (Kharlamenko et al., 1995). Показано, что детрит является источником насыщенных и моновенасыщенных C14 – C18 ЖК, а бактерии – C14 – C16 и C20 ЖК. Маркерами фитопланктонного питательного материала являются n-3 ПНЖК, в частности 16:4n-3, 18:4n-3, 18:3n-3, 20:5n-3 и 22:6n-3 (Freites et al., 2002б).

Как отмечалось выше, в настоящем исследовании были нивелированы различия в пищевых источниках и условиях обитания двусторчатых моллюсков, однако, в их жирнокислотном спектре были обнаружены некоторые различия (табл.6). Повышенное содержание 16:0, 16:1n-7 и 18:1n-5 ЖК у *Modiolus modiolus*; 14:0, 18:1n-9 и 20:1n-7 ЖК у *Hiatella arctica*; 16:1n-7 и 20:1n-9 ЖК у *Mytilus edulis* указывает на детритоядность данных моллюсков. В зимний и весенний периоды в морской воде вследствие недостатка солнечной активности, низкой температуры морской воды наблюдается снижение концентрации фитопланктона и рост уровня детритного органического материала (Иванов и др., 1989; Белое море, 1995). Содержание n-3 и n-6 ПНЖК значительно выше у *Mytilus edulis*, хотя соотношение n-6/n-3 ПНЖК одинаковое (0,3) у всех исследованных моллюсков. Несмотря на недостаток фитопланктона в морской воде у моллюсков отмечено достаточно высокое содержание n-3 ПНЖК, особенно это характерно для *Mytilus edulis*. У них была заметно выше концентрация 16:4n-3, 18:3n-3, 20:5n-3 и 22:6n-3 ЖК, тогда как у *Modiolus modiolus* – 18:4n-3 и 20:5n-3 ЖК, а у *Hiatella arctica* – 18:4n-3 и 22:6n-3 ЖК.

Таблица 6

Жирнокислотный состав (% суммы жирных кислот) общих липидов некоторых видов двустворчатых моллюсков, обитающих в Белом море

Жирные кислоты	<i>Mytilus edulis</i>	<i>Modiolus modiolus</i>	<i>Hiatella arctica</i>
14:0	2,8	2,6	5,8
15:0	0,7	0,6	1,0
16:0	14,2	18,5	15,1
18:0	0,1	0,7	0,6
20:0	0,1	0,2	0,3
22:0	0,0	0,1	0,1
Σ НЖК	17,9	22,8	22,8
15:1	0,8	0,6	1,0
16:1(n-9)	0,2	0,0	0,3
16:1(n-7)	5,7	9,2	4,6
16:1(n-5)	1,4	1,3	1,0
18:1(n-9)	2,3	3,7	5,8
18:1(n-7)	2,8	2,3	2,5
18:1(n-5)	2,7	4,4	2,8
20:1(n-11)	1,0	0,8	0,8
20:1(n-9)	4,1	2,7	2,1
20:1(n-7)	1,0	1,9	3,5
22:1(n-11)	0,2	0,0	0,0
22:1(n-9)	0,0	0,1	0,2
Σ МНЖК	22,1	27,0	24,4
16:4(n-3)	4,6	1,4	1,0
18:3(n-3)	2,1	1,7	1,2
18:4(n-3)	0,8	3,6	2,2
20:2(n-3)	0,2	0,2	1,7
20:3(n-3)	0,2	0,1	0,2
20:4(n-3)	0,5	0,5	0,7
20:5(n-3)	15,4	17,3	10,9
22:5(n-3)	1,2	0,9	1,3
22:6(n-3)	19,4	9,9	16,8
Σ n-3 ПНЖК	44,4	35,8	35,9
16:2(n-6)	0,4	0,4	0,6
16:3(n-6)	1,4	1,6	1,4
18:2(n-6)	2,0	2,0	0,6
20:2(n-6)	0,5	0,4	0,4
20:3(n-6)	0,7	0,0	0,0

Часть I. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

Окончание табл. 6

20:4(n-6)	2,7	2,7	2,7
22:2(n-6)	2,0	1,5	1,2
22:3(n-6)	1,1	0,5	1,3
22:4(n-6)	0,3	0,4	0,8
22:5(n-6)	0,5	0,4	0,6
Σ n-6 ПНЖК	11,6	10,0	9,6
20:2(n-9)	2,5	0,6	2,5
22:2(n-9)	0,5	0,7	1,1
22:3(n-9)	0,0	0,7	0,8
Σ n-9 ПНЖК	3,0	1,9	4,4
Σ НМРЖК	1,1	0,6	1,6
Σ неид.жк.	0,0	1,8	1,2
Σ ПНЖК	60,1	48,3	51,5
НЖК/ПНЖК	0,3	0,5	0,4
18:2n-6/20:4n-6	0,7	0,7	0,2
n-6/n-3	0,3	0,3	0,3

Значительно более высокое содержание насыщенных и мононенасыщенных ЖК у *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* по сравнению с относительно низким содержанием n-3 и n-6 ПНЖК указывает на преобладание детритного материала в пище у данных моллюсков. У мидий, наоборот, высокие концентрации ПНЖК свидетельствуют о доминировании фитопланктона в питательном материале. *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica*, как отмечалось выше, искусственно пересажены в садки марикультуры, которые, по всей видимости, плохо промываются свежей морской водой, обогащенной фитопланктоном, и поэтому испытывают недостаток в свежем питательном материале и используют в качестве источника пищи детрит. При этом, мидии обитают не в садках, а непосредственно на субстратах, где обеспечена доступность фитопланктона. Интересно обратить внимание на схожую концентрацию арахидоновой 20:4n-6 кислоты у всех исследованных видов моллюсков, тогда как уровень ее метаболитического предшественника – линолевой 18:2n-6 кислоты заметно отличался у *Mytilus edulis* и *Modiolus modiolus*. Необходимо отметить, что наряду со схожей концентрацией арахидоновой кислоты у двустворчатых моллюсков наблюдалось

равное содержание фосфатидилинозитола (ФИ) – основного источника данной кислоты и выполняющего важную физиологическую роль в организме животных (рис.22). Вероятно, уровень этих физиологически активных компонентов подвергается значительных изменениям под действием неблагоприятных факторов среды, обеспечивая адаптивные возможности организмов. Следует отметить, что содержание жирных кислот с необычной структурой, таких как n-9 ПНЖК и НМРЖК, значительно выше у *Mytilus edulis* и *Hiatella arctica*. Вероятно, повышенный уровень жирных кислот с необычной структурой у данных моллюсков обеспечивает их устойчивость к действию неблагоприятных факторов среды обитания (например, резкие перепады температуры, солёности, периодические обсыхания для *Mytilus edulis*, обитающих на литорали, или высокая конкуренция со стороны обитателей сообществ обрастаний для *Hiatella arctica*). При этом моллюски не зависят от внешних источников жирных кислот с нормальной структурой. В тоже время, *Modiolus modiolus*, изначально обитая в относительно стабильных условиях среды, имеет незначительное количество необычных жирных кислот. Обращает на себя внимание присутствие в жирнокислотном спектре у *Modiolus modiolus* и *Hiatella arctica* неидентифицированных жирных кислот, которые могут быть длинноцепочечными представителями (например, C24 или C26). Возможно, наличие данных кислот в жирнокислотном спектре этих моллюсков, является их видовой характеристикой.

Таким образом, липидный состав беломорских мидий *Mytilus edulis* характеризуется повышенным содержанием холестерина и триацилглицеринов, по сравнению с другими представителями класса *Bivalvia*, обитающими в водах Белого моря. Фосфолипиды мидий представлены основными и минорными фракциями, характерными для большинства животных. Так же как и многие двусторчатые моллюски, беломорские мидии характеризуются доминированием основных мембранных фосфолипидов ФХ и ФЭА в составе общих фосфолипидов. У *Mytilus edulis* заметно выше содержание минорного фосфолипида мембран – ФС, который необходим для регуляции клеточного объема. Жирнокислотный спектр

мидий, как и у большинства морских организмов, характеризуются повышенным содержанием ПНЖК. При этом состав жирных кислот отличается преобладанием n-3 ПНЖК, главным образом 20:5n-3 и 22:6n-3, по сравнению с пресноводными моллюсками, у которых заметно выше содержание n-6 ПНЖК. Липидный состав зависит от исходного местообитания *Mytilus edulis*, а именно литоральные мидии характеризуются доминированием структурных липидов, тогда как мидии, обитающие на искусственных субстратах марикультуры, содержат повышенные концентрации запасных липидов. Для субстратных *Mytilus edulis* характерны возрастные особенности липидного состава. Так, молодые особи отличаются повышенным содержанием структурных липидов, а также n-3 и n-6 ПНЖК, которые являются предшественниками для синтеза физиологически активных веществ (в частности, эйкозаноидов); тогда как у половозрелых моллюсков накапливаются запасные липиды, необходимые для нормального развития гонад. Выявлена органоспецифичность в распределении липидных компонентов у беломорских *Mytilus edulis*, обусловленная функциональными особенностями исследованных органов у двустворчатых моллюсков. Кроме того, распределение липидов по органам отражает исходное местообитание моллюсков (повышенное содержание запасных липидов у субстратных мидий и высокие концентрации структурных липидов у литоральных моллюсков).

ЧАСТЬ II

Роль липидов в адаптациях морских организмов к основным факторам среды обитания

Адаптация – это способность живых организмов приспосабливаться к изменяющимся условиям окружающей среды с одновременным повышением вероятности выживания и самовоспроизведения (Бергер, 1986; Хочачка, Сомеро, 1988; Кулаковский, 2000; Озернюк, 2003). Адаптационный процесс присущ всем биологическим системам, и основные его закономерности проявляются на всех уровнях их организации: от молекулярного и клеточного до биоценотического. Несмотря на большое количество адаптаций, определяет их одно общее свойство – это переходный процесс, вызванный сменой среды или отдельных ее факторов: переход живой системы любого уровня организации из одного устойчивого состояния в другое (Озернюк, 2003).

При всем многообразии адаптационных явлений в их основе лежат фенотипические и генотипические механизмы. Фенотипические адаптации формируются на той или иной стадии индивидуального развития, имеют обратимый характер и не наследуются, как генотипические, они осуществляются посредством мутаций и естественного отбора (Озернюк, 2003). Разделение адаптаций на гено- и фенотипические очень важно, так как в их основе лежат разные механизмы, и каждая из этих форм адаптации имеет различную роль в эволюционном процессе. Связь между двумя типами адаптаций аналогична связи между генотипом и фенотипом. Генотип определяет норму реакции, которая может реализоваться тем или иным образом в зависимости от воздействия конкретных факторов среды и особенностей организма, подвергающегося этому воздействию. Таким образом, амплитуда фенотипических преобразований определена генотипически. Способность к фенотипической адаптации и тот механизм, с помощью которого она реализуется, следует рассматривать как результат эволюционного процесса (Kinne, 1963; Бергер, 1986).

Важной составной частью фенотипических адаптаций являются акклимации (Бергер, 1986; Хлебович, 2002; Озернюк, 2003; Бергер, 2005). Существует несколько определений понятия «акклимации». Проссер К.Л. (1977) определяет акклимацию как «компенсаторное изменение, возникающее в организме в ответ на длительное откля-

нение какого-то одного фактора внешней среды (обычно в лабораторных условиях) от первоначального уровня». Изменение того или иного фактора приводит к отклонению параметров физиологического состояния особи и затем к последующему возвращению к норме или установлению нового уровня функционирования (Хлебович, 1981; Хлебович, 2002). Протекание процесса акклимации имеет ряд общих особенностей, независимо от фактора среды, воздействующего на организм. Одна из особенностей акклимационного процесса – фазность его развития во времени (Озернюк, 2003). Кинне (Kinne, 1964) выделяет следующие фазы акклимации к тому или иному фактору среды: (1) немедленный ответ (секунды или минуты после начала воздействия); (2) стабилизация (часы, сутки или недели); (3) новое устойчивое состояние (Рис.23).



Рис. 23. Схематическое изображение фенотипической акклимации организма на внешнее воздействие (Гаузе, 1941; Бергер, 1986).

По оси ординат – величина функции; по оси абсцисс – время

Акклимация к отдельным факторам среды у представителей различных групп животных завершается, как правило, в течение 10–15 суток при колебании от нескольких суток до 3–4 недель, и зависит от физиологического состояния организма (Хлебович, 1981; Бергер, 1986; Озернюк, 2003; Бергер, 2005). Разные стадии акклимационного процесса регулируются различными механизмами. Как правило, первичный ответ организма на воздействие фактора среды играет сигнальную роль, которая сводится к запуску

акклимационных механизмов разного уровня реагирования: молекулярного, биохимического, физиологического, клеточного, тканевого (Хлебович, 1981; Озернюк, 2003).

В ходе акклимации происходит адаптивное изменение активности различных метаболических процессов. Характер этих изменений зависит от направления изменения того или иного фактора среды, его начального и конечного значений, а также от времени воздействия (Озернюк, 2003). Акклимация сопровождается приспособительными изменениями мембранных структур клетки, активности метаболических реакций и процессов биосинтеза макромолекул. При температурных акклимациях, например, на уровне мембран происходит изменение степени вязкости липидного бислоя в направлении поддержания «гомеостаза вязкости». В ходе акклимации меняется активность и концентрация многих ферментов. На уровне биосинтеза макромолекул меняется скорость процессов транскрипции и трансляции (Крепс, 1981; Хочачка, Сомеро, 1988; Озернюк, 2003). Биохимические изменения адаптивны большей частью на уровне основных метаболических функций и поэтому макроскопически не проявляются. По-видимому, биохимическая адаптация зачастую является крайним средством, к которому организм прибегает тогда, когда у него нет поведенческих и физиологических способов избежать неблагоприятного воздействия среды (Немова, Высоцкая, 2004).

Известно, что устойчивость организма к различным воздействиям в значительной степени определяется особенностями липидного обмена, поскольку одной из важных биологических функций липидных молекул является компенсация неблагоприятных или измененных условий среды (Крепс, 1981). Таким образом, при исследовании механизмов биохимических адаптаций особое место занимает изучение роли липидных компонентов в адаптивном ответе животного на изменение различных факторов среды обитания. Липиды не только являются источниками метаболической энергии, но и обеспечивают структуру и целостность биологических мембран, в которых функционирует большое количество белков (ферментов, рецепторов, ионных каналов и др.), а также

являются важнейшими биологическими эффекторами, регуляторами и медиаторами, участвующими практически во всех важнейших физиологических процессах организма.

Живые организмы подвергаются частым изменениям условий окружающей среды, и их выживание зависит от способности приспособливаться к основным факторам среды обитания – температура, соленость, содержание кислорода в окружающей среде, освещенность и т.д. (Озернюк, 2003; Los, Murata, 2004). Стабильность и проницаемость клеточных мембран играет центральную роль в адаптации к различным видам стресса, что, в свою очередь, тесно связано с их липидным и жирнокислотным составом (Lopez et al., 2006). Характеристики липидного состава отдельных клеточных мембран могут значительно изменяться, когда клетка подвергается воздействию стрессовых факторов окружающей среды. В большинстве случаев показано, что изменения возвращают физическое состояние мембран к тому состоянию, которое было до стрессового воздействия. Структурные модификации мембран разнообразны по своей природе, а также по месту происхождения в клетке. Первичными ответами на стресс являются изменения в степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов и в перестройке жирнокислотного состава определенных фосфолипидов, тогда как другие (например, колебания в уровне различных фосфолипидов и показателя холестерина/фосфолипиды) развиваются более медленно и представляют собой вторичное регулирование путем изменений основных классов липидов (Thompson, 1986). Количественные и качественные колебания липидных молекул в результате стрессового влияния температуры и/или осмотического давления приводят к изменениям жидкостности клеточных мембран. Установлено, что такие изменения являются достаточными для активации регуляторных реакций, которые, в конечном итоге, приводят к акклимации (Los, Murata, 2004).

Температура как один из факторов окружающей среды воздействует практически на все стороны жизнедеятельности организмов, главным образом пойкилотермных животных. Для пойкилотермных животных температура является важнейшим фактором

внешней среды. На метаболическом уровне температурные адаптации реализуются через изменение скоростей ферментативных реакций и других внутриклеточных процессов, а также через изменение структуры и свойств основных макромолекул (белков и нуклеиновых кислот) и биологических мембран (Немова, Болотников, 1994; Озернюк, 2003). Адаптивный ответ на уровне липидного состава и микровязкости мембран на изменение температуры окружающей среды – это хорошо изученный и подробно описанный феномен для пойкилотермных животных (Крепс, 1981; Сидоров, 1983; Хочачка, Сомеро, 1988). Показано, что у рыб при пониженной температуре усиливается синтез и повышается содержание фосфолипидов и холестерина в тканях, и, наоборот, при адаптации к повышенной температуре их содержание снижается (Лапин, Шатуновский, 1981). Такие колебания в липидном составе коррелируют с изменениями в вязкости мембран, которая, как известно, повышается при снижении температуры. Высокая температура вызывает разжижение мембран, что, в свою очередь, может привести к разрушению липидного бислоя (Bell et al., 1986; Logue et al., 2000; Los, Murata, 2004). Для того чтобы компенсировать снижение жидкостности (величина обратная вязкости) мембран при низкой температуре, для пойкилотермных организмов характерен синтез ненасыщенных ЖК. Впервые подобное явление было описано у *Escherichia coli* и названо «адаптация гомеовязкости» (Sinensky, 1974). Кроме того, в литературе описаны особенности адаптивной реакции на уровне жирнокислотного состава мембранных фосфолипидов, а именно ФХ и ФЭА, в ответ на изменение температуры окружающей среды. Показаны температурно-связанные изменения в составе жирных кислот, специфичные по *sn*-положению в молекуле данных ФЛ, а также отличные между этими двумя видами фосфолипидов. Так, при понижении температуры в составе ФХ изменяется количество ПНЖК, расположенных в *sn*-2 положении, тогда как во фракции ФЭА меняются концентрации НЖК и МНЖК в *sn*-1 положении. Предполагается, что такие модификации жирнокислотного состава могут обуславливать сохранение молекулярной формы фосфолипидов под действием биологического

спектра температур. Считается, что молекулярная форма фосфолипидов важна для организации их в бислое. Под действием определенных факторов на биологическую мембрану, в данном случае воздействие низкой температуры, в смеси цилиндрических (стабилизирующих) и конических (дестабилизирующих) липидных молекул образуется определенный баланс. Как уже отмечалось выше, ФЭА имеет коническую молекулярную форму, поэтому при холодовой адаптации в его *sn-1* положении происходит превращение НЖК в МНЖК. ФХ, наоборот, имеет цилиндрическую молекулярную форму, поэтому, адаптация к пониженной температуре сопровождается увеличением концентрации ПНЖК в *sn-2* положении (т.е. повышением ненасыщенности данного ФЛ) (Fodor et al., 1995; Loque et al., 2000). Необходимо отметить, что для пойкилотермных организмов, таких как бактерии, моллюски и рыбы, степень ненасыщенности мембранных ЖК важна в процессе их адаптации к различной температуре окружающей среды (Bell et al., 1986; Hall et al., 2002; Rucci et al., 2004). Так, показано, что для адаптированной к холоду форели характерны следующие изменения: (1) увеличение количества полиненасыщенных ЖК, в частности кислот n-3 ряда; (2) снижение количества насыщенных ЖК; (3) небольшие изменения в содержании моноеновых кислот фосфолипидов (Bell et al., 1986). Известно, что специфические комбинации полиненасыщенных кислот с мононенасыщенными ЖК в фосфолипидах, особенно в составе ФЭА, важны при определении физических свойств биологических мембран по отношению к определенной температуре (Fodor et al., 1995).

У рыб, обитающих в холодных водах, а также у особей, акклиматизированных в условиях опыта к холодной воде, снижается доля НЖК и возрастает уровень полиненасыщенных жирных кислот (Сидоров, 1983). Считается, что адаптации к низкой температуре осуществляется в ходе двух процессов: (1) непосредственное включение полиненасыщенных жирных кислот в мембранные фосфолипиды и (2) активное участие ферментов – десатураз в изменении жирнокислотного состава липидов (Гершанович и др., 1991). Причем контроль уровня ненасыщенности жирных кислот посред-

ством ферментов-десатураз осуществляется двумя путями: (1) через непосредственное изменение активности десатураз с помощью жидкостности липидов, содержащихся в эндоплазматическом ретикулуле, в который данные десатуразы встроены и (2) через индуцированный синтез большинства ферментов-десатураз при снижении температуры окружающей среды (Thompson, 1986). Предполагается, что ненасыщенные жирные кислоты служат активаторами мембранных ферментов, поэтому резкое увеличение ненасыщенности ЖК при снижении температуры компенсирует снижение активности ферментов без изменения их концентрации. Однако главное функциональное значение изменения степени ненасыщенности ЖК состоит в поддержании устойчивости клеточных мембран (Лапин, Шатуновский, 1981). ПНЖК, создавая специфическое микроокружение для интегральных белков, могут способствовать поддержанию необходимой конформационной подвижности ферментов, обеспечивать их нормальное функционирование и активность при негативном воздействии температуры среды обитания (Рабинович, Рипатти, 1994; Рабинович, 2008).

Интересно обратить внимание на тот факт, что пути биосинтеза холестерина, выступающего в роли стабилизатора мембран, и ПНЖК, которые дестабилизируют бислои, взаимосвязаны. Известно, что экспрессия генов, которые ответственны за синтез ферментов, вовлеченных в метаболизм холестерина, регулируется на уровне транскрипции с помощью обычного механизма. В структуре промоторов этих генов содержатся стерол-регулируемые элементы (SRE), которые связывают транскрипционные факторы – SRE-связывающие белки (SREBP). Подобные элементы (SRE) также содержат промоторы генов некоторых ферментов, включенных в метаболизм жирных кислот (таких как, ацетил-КоА-карбоксилаза, синтаза жирных кислот и стеароил-КоА-десатураза), а некоторые SREBP специфически активируют биосинтез жирных кислот (Los, Murata, 2004).

У большинства рыб докозагексаеновая кислота (22:6n-3) наряду с другими макромолекулами играет важную специфическую роль в адаптивном процессе, в то время как у прикрепленных, малопод-

вижных беспозвоночных функциональным аналогом 22:6n-3 кислоты, по-видимому, является ее предшественник – эйкозапентаеновая 20:5n-3 кислота (Ромашина, 1983; Шульман, Юнева, 1990). Например, для морских моллюсков, адаптированных к холоду, характерно повышение количества 20:5n-3 кислоты в фосфолипидах жабр (Hall et al., 2002). Значимость повышения ненасыщенности фосфолипидов может быть связана с сохранением соответствующей молекулярной формы фосфолипидов под действием низких температур. В липидном бислое концентрации стабилизирующих (ФХ) и дестабилизирующих (ФЭА) молекул находятся в определенном соотношении. Обычно дестабилизирующие липиды (ФЭА) представлены в небольшом количестве, поэтому снижение температуры должно сопровождаться или увеличением количества этих молекул, или увеличением ненасыщенности ЖК (Logue et al., 2000). Например, у форели показано увеличение количества ФЭА и КЛ во время адаптации к холоду, а уровень ФХ имел обратную корреляцию (Hazel, Carpenter, 1985). В соответствии с теорией о «гомеовязкости», увеличение мембранной жидкости при низкой температуре приводит к увеличению ферментативной активности, чтобы компенсировать ингибиторный эффект пониженной температуры (Gibbs, 1998).

Изменения физических свойств мембранных липидов могут влиять на экспрессию генов, которые вовлечены в акклимацию клеток к различным условиям (Los, Murata, 2004). Так, первичным инициатором, передающим информацию об адаптивном ответе в клетку, является пониженная жидкость мембраны при действии низкой температуры. Клетки воспринимают изменения в физических свойствах мембранных липидов через сенсорные белки, встроенные в мембраны (у цианобактерий таким сенсором является гистидинкиназа 33 (Hik33), у бактерий - DesK). Эти белки передают сигналы из окружающей среды на сигнал-передающую цепь, и, в конечном итоге, регулируют генную экспрессию. Кроме того, физическое состояние мембранных липидов непосредственно влияет на многие физиологические процессы, регулируя активность мембранно-связанных белков, таких как переносчики не-

больших молекул, ионные каналы, рецептор-связанные протеинкиназы и чувствительные белки. Известно, что холодовой стресс увеличивает экспрессию многих генов, а продукты этих генов контролируют мембранную жидкость, транскрипцию, трансляцию и энергетический статус клетки. Так, при действии низкой температуры характерна индукция экспрессии генов, ответственных за синтез ферментов-десатураз, необходимых для компенсации пониженной жидкости мембраны (Los, Murata, 2004).

Роль липидов в температурных адаптациях пойкилотермных организмов, в том числе моллюсков, в литературе описана сравнительно подробно. Однако компенсаторные изменения липидного состава у двустворчатых моллюсков в ответ на воздействие различной солености и краткосрочной аноксии слабо изучены.

ГЛАВА 1

Соленость – основной фактор морской среды обитания

Соленость – один из важнейших абиотических факторов морской среды обитания (Бергер, 1986). Для организмов, обитающих в водной среде, адаптации к солености играют первостепенную роль (Озернюк, 2003). В то время как модулирующая роль липидного и жирнокислотного состава у водных организмов в температурных адаптациях хорошо изучена, модификации липидного спектра при смене солености морской воды исследованы недостаточно (Крепс, 1981; Бергер, 1986; Хочачка, Сомеро, 1988; Озернюк, 2003).

Все первичноводные животные в отношении осмотической регуляции и реакцией на соленость среды и ее изменения подразделяются на две группы: пойкилосмотические и гомойосмотические (Kinne, 1971; Хлебович, 1981; Бергер, 1986; Озернюк, 2003). На уровне внутриклеточной регуляции изменение солености среды вызывает запуск каскада механизмов, начальным этапом которого являются первичные осмосенсоры, а заключительным – регуляция экспрессии генов и белков (Hochachka, Somero, 2002). Известно, что у цианобактерий в результате действия осмотического стресса происходит экспрессия 257 генов. Продукты этих генов ответственны за синтез компонентов мембран, и, при этом, являются регуляторами сигнальной трансдукции, генной экспрессии и метаболизма белков. Большинство генов, инициированных повышенной соленостью, индуцируются другими видами стресса, такими как изменение температуры и др. Известны сенсоры, реагирующие на повышенную соленость, для *E. coli* (EnvZ, активность которого может регулироваться изменениями мембранных липидов) и дрожжей. Предполагается, что некоторые сенсоры, такие как Hik33 цианобактерий, реагируют на вязкость мембранных липидов

независимо от природы стимула (например, холодовой или солевой стресс) (Los, Murata, 2004).

Необходимо подчеркнуть, что помимо регуляции осмотического давления, описан механизм ионной регуляции, связанный с поддержанием количественного соотношения различных ионов в биологических жидкостях. Ионная регуляция свойственна практически всем животным, тогда как осмотическая регуляция, поддерживающая относительное постоянство осмотического давления внутренней среды, свойственна только гомойосмотическим организмам (осморегуляторам) (Озернюк, 2003). У пойкилосмотических организмов (осмоконформеров) осмотическая регуляция отсутствует, и осмотическое давление внутри тела меняется в соответствии с изменением осмотического давления во внешней среде (Хлебович, 1981).

II.1.1 Гомойосмотические организмы и их липидный состав при влиянии солености

Наиболее совершенными приспособлениями, которые обеспечивают максимальную эвригалинность, обладают животные, поддерживающие осмотическую концентрацию внутренней среды на относительно постоянном уровне, так называемые осморегуляторы (или гомойосмотические организмы) (Ярославцева, Жирмунский, 1978), к ним относятся высшие ракообразные и рыбы. Осмотическая независимость организмов этой группы основана на сходных физиологических механизмах, среди которых ведущее значение принадлежит общему снижению проницаемости покровов для воды и солей и способности активного транспорта ионов против электрохимического градиента (Isaia, Hirano, 1976; Ярославцева, Жирмунский, 1978).

У этих животных показано участие липидов в адаптациях к различной солености, а цитоплазматическая мембрана выполняет основную роль в адаптации к окружающей солености (Khomutov et al., 1990). Изменение проницаемости покровов для воды зависит от уровня холестерина в мембране (Robertson, Hazel., 1999), а активность ионных каналов определяется наличием в мембране ФС и

ФЭА (Hansen et al., 1994). У эвригалинного краба *Chasmagnathus granulata dana*, как и у остальных ракообразных, липиды являются основным источником энергии, а также они важны для сохранения структурной и физиологической целостности клеточных и субклеточных мембран. Во время соленостной адаптации у ракообразных активируются энергозависимые механизмы осмотической и ионной регуляции. Количество липидов значительно падает при понижении солености морской воды, что указывает на мобилизацию и включение липидов в процессы осмотической регуляции (Luvizotto-Santos et al., 2003). У краба *Eriocheir sinensis* было отмечено не только незначительное снижение концентрации ТАГ, но и повышение количества полиненасыщенных фосфолипидов при смене солености окружающей среды (Chapelle, 1978). Адаптации рыб к новым осмотическим условиям отражаются главным образом на жирнокислотном составе всех классов липидов (Roche et al., 1983; Hansen, Abraham, 1983; Martinez-Alvarez et al., 2005). Вероятно, изменения в жирнокислотном спектре липидов могут играть важную роль в осморегуляторных механизмах рыб. Например, у форели в ответ на действие морской воды, при отсутствии изменений в содержании холестерина и составе общих фосфолипидов, повышается соотношение ненасыщенных к насыщенным ЖК во фракции ФХ и ФЭА, в основном благодаря увеличению количества докозагексаеновой 22:6n-3 кислоты, что, в свою очередь, приводит к увеличению жидкости мембран (Bell et al., 1986; Гершанович и др., 1991; Cordier et al., 2002). Более того, для рыб характерно повышение концентрации высоконенасыщенных ЖК линоленового ряда, в особенности ДГК при влиянии повышенной солености морской воды (Diakoku et al., 1982; Thompson et al., 1977). У разных видов рыб наблюдаются разнонаправленные колебания концентрации арахидоновой кислоты при адаптации к солености. Так, у угря в жабрах отмечается понижение уровня арахидоновой кислоты, а у гуппи, наоборот, ее повышение (Гершанович и др., 1991). Высокие концентрации ДГК и арахидоновой кислоты в фосфолипидах различных тканей увеличивают устойчивость рыб, в частности их личинок, к воздействию морской воды. Личинки с

низким содержанием АК более уязвимы к действию высоких значений солености (Harel et al., 2001). Показано, что модификации жирнокислотного состава мембран у рыб коррелируют с интенсивностью ионного транспорта и активностью мембранных ферментов, таких как глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-аза}$, $\text{Ca}^{2+}\text{-АТФаза}$, $\text{Mg}^{2+}\text{-АТФаза}$ (Гершанович и др., 1991; Shivkamat, Roy, 2005; Martinez-Alvarez et al., 2005). Так, при акклимации рыб к морской воде отмечалась повышенная активность $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-азы}$, при этом наблюдалась низкая концентрация НЖК и высокое содержание ПНЖК (Martinez-Alvarez et al., 2005). Повышение активности $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-азы}$, наблюдаемые наряду с изменениями в структуре и жидкостности мембран, способствуют поступлению Na^+ и не выведению K^+ через клетки жаберного эпителия во время адаптации к солености (Shivkamat, Roy, 2005). Кроме того, при акклимации к солености у рыб повышалось соотношение n-3/n-6 ПНЖК (Martinez-Alvarez et al., 2005). Помимо того, что полиненасыщенные ЖК n-3 и n-6 ряда влияют на уровень жидкостности мембран, они являются предшественниками биологически активных веществ – эйкозаноидов (а именно, простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов). Следовательно, в процессах адаптации рыб к различной солености морской воды может принимать активное участие иммунная система (Harel et al., 2001). Смена солености воды требует от рыб серьезной перестройки обмена веществ (Гершанович и др., 1991). Кроме того, соленость может играть значительную роль в изменении активности ферментов, участвующих в липидном метаболизме рыб (Cordier et al., 2002), что, в свою очередь, может отразиться на их липидном составе. Процессы перестройки метаболизма в ответ на изменение солености морской воды могут быть сопряжены со значительными потерями энергии, проявляющимися в снижении содержания липидов в депонирующих органах, главным образом ТАГ (Гершанович и др., 1991). Так, у плотвы при пониженной солености среды обитания наблюдается снижение биосинтеза всех липидных компонентов (Roche et al., 1983). У атлантического лосося и леща показано участие ТАГ, в качестве энергетического источника, при акклимации к морской воде

(Sangiao-Alvarellos et al., 2003; Sangiao-Alvarellos et al., 2005). Установлено, что при адаптации к солености ТАГ расходуются главным образом у пресноводных рыб. Доля эфиров холестерина существенно повышается и остается высокой до завершения соленостной адаптации, после чего вновь падает. Вероятно, это явление связано с особой ролью холестерина в осморегуляторных процессах и необходимостью сохранения его в неактивной форме (Лапин, Шатуновский, 1981; Гершанович и др., 1991). В органах и тканях рыб, активно участвующих в осморегуляторных процессах, в ходе адаптации к соленой воде содержание липидов, наоборот, возрастает, главным образом, благодаря повышенному уровню фосфолипидов – ФИ и СФМ (Diakoku et al., 1982; Leray et al., 1984; Грешанович и др., 1991). Изменения в концентрации Na^+ модифицируют метаболизм СФМ, тем самым, осуществляя контроль продукции свободного церамида и сфингозина в клетках жабр эвригалинных рыб. Предполагается, что данные продукты распада СФМ играют важную роль в изменении метаболизма жабр во время воздействия различной солености окружающей среды (Babili et al., 1996). При адаптациях рыб к морской воде показано повышение уровня ФИ – основного источника арахидоновой кислоты, которая, в свою очередь, необходима для синтеза простагландинов и лейкотриенов, участвующих в выведении ионов (Thompson et al., 1977; Bell et al., 1986; Гершанович и др., 1991). Таким образом, роль липидов в соленостной адаптации гомеосмотических животных (высшие ракообразные и рыбы) в литературе описаны сравнительно подробно.

II.1.2 Пойкилосмотические организмы и их липидный состав при влиянии солености

Морские организмы обитают в весьма широком диапазоне солености: от 5–8‰ до 75–80‰. Максимального разнообразия морская фауна достигает при солености, близкой к океанической (30–40‰). По мере отклонения солености в обе стороны от этой величины число видов резко уменьшается (Хлебович, 1974; Бергер, 1986).

Соленость – фактор, имеющий огромное значение для обитателей Белого моря, отличающегося разнообразием гидрологических и, прежде всего, соленостных условий. Обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L. – это эвригалинный вид, который обитает в окружающей среде в пределах от полной океанической солености (34‰) до мезогалинных (5-18‰) эстуариев (Bayne, 1976; Newell, 1989). Предел солености, который позволяет нормально развиваться личинкам может быть более ограниченный, чем предел устойчивости взрослых особей. Изменения солености среды, с которыми морские животные встречаются в естественных условиях, оказывают существенное влияние на физиологическую активность интактных организмов, их клеток и тканей, на рост, развитие и размножение, а также на ряд других физиологических функций (Ярославцева, Жирмунский, 1978).

Для эвригалинных моллюсков характерно снижение скорости потребления кислорода при больших отклонениях солености от нормы (Ярославцева, Жирмунский, 1978; Бергер, 1986; Liu et al., 1990). Скорость потребления кислорода у мидий *Mytilus edulis* из Белого моря не снижается в пределах широкого диапазона солености от 15 до 30‰. Лишь более значительное отклонение от нормы (25-26‰) вызывает угнетение дыхания этих моллюсков. Причина значительных изменений уровня потребления кислорода целым организмом при действии различной солености заключается в изменении метаболизма всех его тканей и клеток в результате их гидратации и дегидратации (Ярославцева, Жирмунский, 1978; Бергер, 1986). Дыхание сублиторальных беломорских мидий *Mytilus edulis* угнетается при снижении солености до 10‰ гораздо сильнее, чем у литоральных мидий. Различия осмотической толерантности литоральных и сублиторальных поселений моллюсков, принадлежащих к одному виду, является следствием фенотипической адаптации к условиям существования в разных биотопах. Сублиторальные моллюски, имеющие скорость потери солей выше, гибнут на воздухе в несколько раз быстрее, чем литоральные виды, отличающиеся эффективной герметизацией мантийной полости (Бергер, 1986). На биохимическом уровне показано значительное сни-

жение активности большинства ферментов у мидий *Mytilus edulis* L. при акклимации к различной солености морской воды, что объясняется характерной для этих животных способностью снижать интенсивность метаболизма в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды (Громосова, Шапиро, 1984; Бондарева, 2004; Высоцкая и др., 2005; Амелина, 2006; Бондарева и др., 2006; Высоцкая, Немова, 2008).

Являясь осмоконформерами (т.е. пойкилосмотическими организмами), мидии не способны регулировать осмотическую концентрацию полостной жидкости и поддерживают состояние, близкое к изотонии, в широком диапазоне солености внешней среды (Наточин, 1967; Бергер, 1986). В ответ на изменение окружающей солености мидии закрывают свой выводной сифон, прекращают вентиляцию мантийной полости и, если изменение солености достаточно сильное, закрывают раковину (Newell, 1989). Сигналом к срабатыванию изолирующего рефлекса служит падение осмотического давления, на которое реагируют специфические осморепрепторы, и уменьшение ионов натрия, вызывающих реакцию натриорецепторов (Бергер, Луканин, 1985). У мидий Белого моря, обитающих при нормальной для поверхностных вод солености порядка 25-27‰, изоляция организма наблюдается при снижении солености до 12-14‰ и при ее повышении, начиная с 40‰ (Луканин, Гурина, 1977). Изолирующий рефлекс моллюсков, направленный на уменьшение контактов с внешней средой, может быть использован для противодействия осмотическому стрессу ограниченное время: при непродолжительных сезонных изменениях солености или при колебаниях, обусловленных приливно-отливными явлениями. При более продолжительных отклонениях солености от величин, оптимальных для тех или иных морских животных, ведущая роль адаптации принадлежит клеточным механизмам (Ярославцева, Жирмунский, 1978).

Установлено, что в процессе адаптации мидий к смене солености среды в их клетках происходят значительные изменения пластического обмена (Харазова, Бергер, 1974; Харазова, Бергер, 1977; Харазова и др., 1981; Бергер, 1986). При акклимации к ме-

няющейся солености происходят количественные изменения интенсивности синтеза макромолекул, а также качественные преобразования за счет синтеза *de novo* (Бергер, Луканин, 1985). Активация синтетической деятельности, наблюдающаяся после первоначального угнетения синтеза РНК и белка при смене солености, во-первых, может обеспечивать репарацию путем замены альтернативных макромолекул вновь синтезированными. Во-вторых, при этом возможно увеличение количества и соответственно активности различных ферментативных белков. И, наконец, реактивация обмена, возможно, обусловлена переходом на ферменты и/или изоферменты, более приспособленные функционировать в условиях изменившейся солености (Харазова, Бергер, 1974; Харазова, Бергер, 1977; Харазова и др., 1981; Бергер, 1986). Показанные адаптивные преобразования пластического обмена клеток мидий связаны, по-видимому, с изменениями метаболизма клетки, происходящими в результате сдвигов ее ионного состава при акклимации моллюсков к различной солености (Бергер, Луканин, 1985).

Характерной адаптацией осмоконформных животных к смене солености является их способность регулировать объем клетки (Neufeld, Wright, 1996). Клетки пойкилосмотических организмов находятся в осмотическом равновесии с окружающей их средой, осмотическое давление внутри и вне клеток животных практически одинаково и, несмотря на разный состав солей, общая концентрация растворенных органических и неорганических компонентов равна по обеим сторонам мембраны (Наточин, 1982). У двустворчатых моллюсков, осмотическое давление гемолимфы обычно изменяется вместе с таковым во внешнем растворе, и клетки набухают или сморщиваются во время колебаний солености, в то время как клеточные механизмы противодействуют изменению размеров клеток. Клетки большинства тканей могут регулировать уменьшение или увеличение объема (рис.24) в ответ на осмотический стресс, по-видимому, смягчая функциональные последствия изменений клеточного объема (Neufeld, Wright, 1996; Strange, 2004). Системы, регулирующие осмотическую концентрацию кле-

ток и приводящие ее в состояние изотонии с экстрацеллюлярной жидкостью, получили название «внутриклеточной изоосмотической регуляции». Основными осмотическими эффекторами этих систем являются неорганические ионы (Na^+ , K^+ , Cl^- и др.) и органические молекулы (Бергер, 1986; Strange, 2004). Осмотическая адаптация включает накопление или количественную регуляцию большого количества органических растворенных веществ, называемых «осмолитами», во внутриклеточном пространстве (Hosoi et al., 2005).



Рис. 24. Схематическое изображение регуляторного ответа клетки на осмотический стресс (адаптировано Strange, 2004)

В клетках животных органические осмолиты разделены на 3 класса (рис.25): (1) многоатомные спирты (сорбитол, мио-инозитол, глицерол); (2) аминокислоты и их производные (таурин, аланин, пролин); (3) метиламины (бетаин, триметиламиноксид, глицерофосфорилхолин) (Strange, 2004). Органические осмолиты – «совместимые» или «неразрушающие» растворенные вещества. Благодаря своим уникальным биофизическим и биохимическим свойствам, клетки могут накапливать эти вещества в больших количествах и выдерживать значительные изменения в их концентрации без вредного воздействия на клеточную структуру и функции. Наоборот, так называемые «разрушающие» растворенные вещества, например электролиты, присутствуя в больших количествах, могут наносить большой вред клеткам и нарушать их метаболические процессы (Strange, 2004).

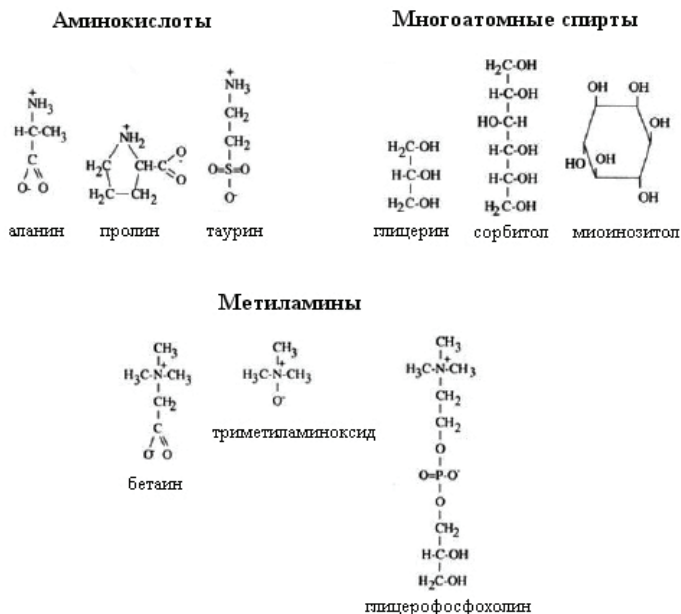


Рис. 25. Органические осмолиты (адаптировано Strange, 2004)

Известно, что аминокислоты создают более 50% внутриклеточного осмотического давления водных беспозвоночных (Florkin, Schoffeniels, 1969; Schoffeniels, 1976; Davenport, 1985). Изменение концентрации свободных аминокислот стабилизирует содержание воды в клетке, компенсируя тем самым перепады внутриклеточного осмотического давления. Их концентрация изменяется вместе с соленостью раствора (высокая в морской воде, низкая в пресной воде). Существует три механизма количественной регуляции аминокислот в клетке: (1) гидролиз и синтез белков крови; (2) транспорт аминокислот через клеточную мембрану; (3) контроль скорости оборота некоторых аминокислот. Показано, что скорость оборота аминокислот контролируется уровнем солености окружающей среды (Schoffeniels, 1976). Концентрация неорганических ионов в клетке (прежде всего ионов натрия), меняясь вслед за соответствующими изменениями во внешней и внутренней среде,

модифицирует активность ряда ферментов, ответственных за синтез аминокислот. В первую очередь меняется активность глутаматдегидрогеназы – ключевого фермента этих процессов, катализирующего реакцию превращения α -кетоглутарат в глутамат. Переаминирование α -кетокислот с использованием глутамата в качестве донора аминогрупп представляет собой основной путь введения α -аминогрупп при биосинтезе большинства других аминокислот, в том числе глицина, аланина и пролина. Таким образом, повышение концентрации ионов активирует глутаматдегидрогеназу и тем самым приводит к повышению содержания глутаминовой кислоты, а также содержания аланина, глицина и пролина в клетке (Бергер, 1986). Помимо вышеперечисленных аминокислот, важную роль в поддержании клеточного объема у большинства беспозвоночных, в том числе мидий, играет таурин (Silva, Wright, 1992; Hosoi et al., 2005). У морских беспозвоночных, за исключением ракообразных, подобный путь регуляции объема клеток играет второстепенную роль. Одним из основных путей регулирования концентрации свободных аминокислот в клетках моллюсков является их поступление из внешней среды, где они содержатся в достаточно большом количестве. Поступление свободных аминокислот, определяемое градиентом натрия и/или градиентом осмотического давления на наружной мембране эпителиальных клеток жабр, модифицирует величину внутриклеточного пула свободных аминокислот и обеспечивает регуляцию низкомолекулярных азотсодержащих соединений при изменениях солености среды (Бергер, 1986). Показано, что поступление аминокислот из морской воды у двустворчатых моллюсков может происходить против химического градиента. Такого рода транспорт осуществляется благодаря электрохимическому градиенту, создаваемому потоками Na^+ (Wright, Pajor, 1989; Wright et al., 1989). Стабилизация объема клеток моллюсков при снижении солености среды обитания достигается за счет экскреции свободных аминокислот из клеток в гемолимфу с последующим дезаминированием и деградацией их в мантийной складке (Zurburg, de Zwaan, 1981; Бергер, 1986). Так как анаэробный метаболизм у двустворчатых моллюсков может приводить к накопле-

нию аминокислот (аланина и глутамата), возможно, анаэробные пути метаболизма играют определенную роль в осмотическом регулировании объема клетки во время повышения солености (Zurburg, de Zwaan, 1981). Помимо этого, лизосомальный гидролиз может быть дополнительным источником свободных аминокислот у мидий *Mytilus edulis* L. во время воздействия повышенной солености (Pipe, Moore, 1985).

Метиламинные компоненты, в частности триметиламиноксид, бетаин и глицерофосфорилхолин – важные осмолиты морских организмов (Wright et al., 1992; Seibel, Walsh, 2002; de Vooys, Geenevasen, 2002). Синтез данных органических соединений тесно связан с липидным метаболизмом (рис.26). Во время гипоосмотической регуляции объема клеток, набухание клеток приводит к мембранному обороту и гидролизу ФХ, в результате чего образуется диацилглицерин (ДАГ). У большинства морских организмов ДАГ, полученный при гидролизе ФХ, является важным вторичным мессенджером и активирует протеинкиназу С, которая, в свою очередь, стимулирует высвобождение осмолитов. Регуляция объема клетки посредством гидролиза ФХ (рис.27) под действием гиперосмотического стресса (т.е. дегидратации) может приводить к высвобождению свободного холина и последующему накоплению бетаина или триметиламина у некоторых животных (Seibel, Walsh, 2002).

Клеточный объем регулируется поступлением или выведением неорганических ионов (Na^+ , K^+ , Cl^- и др). У морских моллюсков доминирующим катионом внеклеточной жидкости является ион натрия, а в клетках ему противостоит ион калия (Шахматова и др., 2006). Считается, что регуляция клеточного объема является результатом пассивных процессов (Byrne, Dietz, 2006), но не исключается роль активного транспорта ионов. Установлено, что кроме хорошо известной и повсеместной убаин-чувствительной Na^+ , K^+ -АТФ-азы, двустворчатые моллюски, также как большинство позвоночных и беспозвоночных, содержат вторую Mg^{2+} и Na^+ зависимую АТФ-азу, которая для активации не требует ионов K^+ или других одновалентных катионов (кроме Na^+), а также она не чувст-

вительна к концентрациям убаина, который является специфическим ингибитором классической Na^+, K^+ -АТФ-азы. Данные ферменты описаны как натрий-переносящие насосы, которые связаны с вытеснением Na^+ из клетки (Pagliarani et al., 2006). Активность Na^+, K^+ -АТФ-азы у двусторчатых моллюсков подвержена сезонным колебаниям среды обитания. Установлено, что повышение и снижение активности данного фермента связано с изменением температуры и солености окружающей среды (Borgatti et al., 2003). Помимо вышеперечисленных ионов, показано участие аниона хлора в осмотической и объемной регуляции клеток ряда моллюсков на изменение солености внешней среды. Предполагается, что эффективная ионная регуляция в клетках моллюсков может достигаться только при наличии наряду с Na^+/K^+ – насосом, активного транспорта Na^+ или Na^+ и Cl^- , независимого от переноса калия (Бергер, 1986).

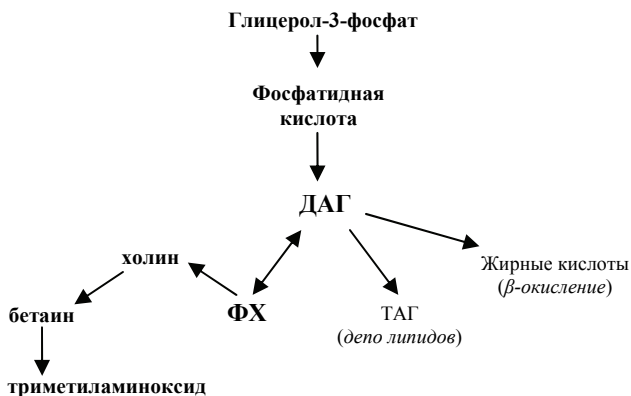


Рис. 26. Синтез метиламинов (адаптировано из Seibel, Walsh, 2002)

Активация ионного транспорта проходит быстро и занимает секунды или минуты после изменений объема клетки. Относительно транспорта электролитов, регуляторное накопление и выведение органических осмолитов – это медленный процесс, который зани-

мает несколько часов или дней после его первоначальной активации, т.к. здесь необходимы изменения в транскрипции и трансляции генов, кодирующих переносчиков и ферментов синтеза органических осмолитов (Strange, 2004).



Рис. 27. Схематическое изображение осмотической регуляции с участием ФХ (адаптировано из Seibel, Walsh, 2002 и Strange, 2004)

Существуют значительные различия в ответных стратегиях, используемых клетками различных тканей при воздействии солености. Показано, что при краткосрочной акклимации (1–4 часа) к пониженной солености происходит потеря осмолитов из тканей желудка совместно с регуляторным снижением объема клеток, тогда как клетки некоторых других тканей (жабры, мантия и гемолимфа) не снижают содержания осмолитов и не регулируют свой объем. Наоборот, долгосрочная акклимация (3 недели) к пониженной солености характеризуется значительной потерей осмолитов из клеток жабр и мантии, т.е. наблюдается регуляторное снижение объема во всех клетках. Предполагается, что для организмов, которые подвергаются частым и большим колебаниям в окружающей солености, снижение или отсутствие регуляции клеточного объема во время краткосрочного воздействия пониженной солености будет представлять существенное сохранение метаболической

энергии. Таким образом, ответ на уровне организма является совокупностью ответов некоторых тканей и представляет баланс между функциональными последствиями нерегулируемого клеточного набухания и существенных энергетических затрат на регуляцию клеточного объема (Neufeld, Wright, 1996).

Модификации липидного состава при смене солёности у осмоконформеров (пойкилоосмотических организмов), к которым относятся различные беспозвоночные животные, в том числе морские двустворчатые моллюски, изучены в меньшей степени.

Показано, что у морских и пресноводных моллюсков отсутствуют различия в содержании общих липидов, нейтральных липидов и фосфолипидов, однако обнаружена зависимость от солёности среды обитания в содержании отдельных фракций фосфолипидов – ФХ, ФИ, ФС и ФЭА, а также плазмалогенной формы ФЭА (Кашин, 1997). На двустворчатых моллюсках было показано, что воздействие солёности способствует увеличению отрицательно-заряженных ФЛ, главным образом, ФИ и КЛ. Предполагается, что это может быть внутриклеточным механизмом, позволяющим связывать повышенные количества катионов, во избежание их разрушающего действия на функционирование ферментных систем клетки (Glemet, Ballantyne, 1995). Ряд авторов указывает на отсутствие различий в жирнокислотном составе у морских и пресноводных двустворчатых моллюсков в зависимости от уровня солёности мест обитаний (Кашин, 1997, Pollero et al, 1983, Жукова, 1992), хотя известно, что обычный адаптивный ответ животных включает изменение липидного состава, в частности, спектра жирных кислот (Hall et al., 2002). Большая вариабельность в содержании жирных кислот, наблюдаемая как у пресноводных, так и у морских видов моллюсков, объясняется трофическим фактором и температурой среды обитания (Кашин, 1997). Несмотря на это, некоторыми авторами показан более низкий уровень n-6 ПНЖК у морских двустворчатых моллюсков при акклимации к повышенной солёности, по сравнению с особями, подвергнутыми опреснению (Glemet, Ballantyne, 1995). Предполагается важная роль структурных липидов в акклимациях моллюсков к различной солёности

морской воды. Более того, известно, что полиеновые ЖК, такие как эйкозапентаеновая, докозагексаеновая и арахидоновая кислоты, являются источниками синтеза простагландинов. В тканях морских беспозвоночных животных, в том числе у двустворчатых моллюсков, показано наличие и синтез этих биологически активных веществ (Christ, van Dorp, 1972; Freas, Grollman, 1980; Stanley-Samuelson, 1987). Простагландины участвуют в репродуктивной функции моллюсков (Freas, Grollman, 1980). Отмечено, что они индуцируют нерест у мидий *Mytilus californianus* (Stanley-Samuelson, 1987). Кроме того, простагландины, в частности PGE₂, вовлечены в ионную регуляцию, особенно в контроль над потоком натрия. Показано, что изолированные ткани жабр морских двустворчатых моллюсков синтезируют простагландины в ответ на гипотонический стресс (Freas, Grollman, 1980; Hall et al., 2002).

Таким образом, изучению адаптивной функции липидов при изменении солености среды обитания посвящено достаточно много работ, однако, большая часть из них описывает колебания липидного состава у гомойосмотических животных (в частности, рыб), тогда как пойкилосмотическим организмам (в том числе двустворчатым моллюскам) уделено гораздо меньше внимания, а имеющиеся в литературе сведения довольно противоречивы.

II.1.3 Модификации липидного спектра беломорских мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие различной солености морской воды

Для изучения компенсаторной реакции на уровне липидного состава беломорских мидий были поставлены аквариальные эксперименты, в ходе которых две группы мидий (литоральные и субстратные моллюски) в течение 14 суток находились в аквариумах, соленость воды, в которых была 5, 15, 25, 35 и 45‰. Соленость поверхностного слоя воды в Белом море составляет 24-27‰ (Бабков, Голиков, 1984). Поэтому концентрация солей равная 25‰ в эксперименте была принята за контроль. Такая же соленость воды

наблюдалась и в местах сбора материала. Пониженную концентрацию солей создавали разбавлением дистиллированной водой, а повышенную – добавлением искусственной морской соли (Instant Ocean, USA).

Биохимический ответ на уровне липидного состава мидий Белого моря на действие различной солености морской воды затрагивает большинство липидных фракций. Поэтому для создания более полной картины, описывающей реакцию липидного состава беломорских *Mytilus edulis* в ответ на смену солености морской воды, необходимо дифференцировать изменения в содержании липидов с позиции выполняемых ими функций: структурных, запасных и регуляторных липидных компонентов.

II.1.3.1 Изменения липидных параметров, характеризующих физическое состояние мембран

Липидный состав клеточных мембран значительно изменяется, когда клетка подвергается воздействию стрессовых факторов окружающей среды, таких как температура и соленость (рис.28) (Sinensky, 1974; Hazel, Carpenter, 1985; Bell et al., 1986; Thompson, 1986; Gibbs, 1998; Loque et al., 2000; Hall et al., 2002; Los, Murata, 2004). Известно, что жидкостность мембран (основная характеристика физического состояния мембран) изменяется при колебаниях температуры, а также при увеличении солености окружающей среды (Sinensky, 1974; Болдырев, 2001; Los, Murata, 2004). Показано, что модификации липидного состава возвращают физическое состояние мембран к тому, которое было до стрессового воздействия (Thompson, 1986; Nechev et al., 2006). Первичными компенсаторными ответами на стресс являются изменения в степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов. Это отражается в колебаниях такого показателя, как соотношение НЖК/ПНЖК. Количественные изменения основных классов липидов (соотношения ФХ/ФЭА и ХС/ФЛ), развиваются более медленно и представляют собой вторичное регулирование при стрессовом воздействии (Thompson, 1986).

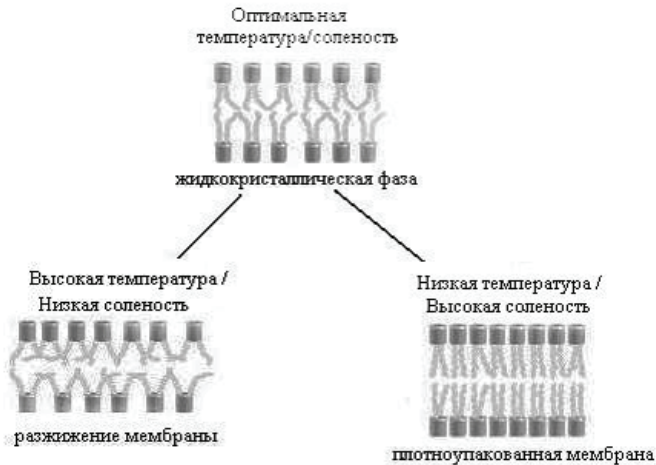


Рис. 28. Схематическое изображение изменений структуры липидного бислоя при влиянии факторов среды (адаптировано из Los, Murata, 2004)

ПОВЫШЕННАЯ СОЛЕНОСТЬ

Известно, что повышение солености вызывает уплотнение мембран, подобно действию низких температур (рис.28) (Sutton et al., 1991; Khaware et al., 1995; Болдырев, 2001; Los, Murata, 2004; Turk et al., 2004; Chihib et al., 2005; Danevcic et al., 2005; Vargass et al., 2005). Изменения в липидном составе мембран направлены на обеспечение более «рыхлой» упаковки бислоя, препятствуя тем самым увеличению его вязкости.

При повышении солености морской воды до 35 и 45% в целом организме литоральных мидий уплотняющее действие НЖК и ФХ компенсируется снижением соотношения основных мембранных липидов ХС/ФЛ, что в свою очередь свидетельствует об уменьшении вязкости бислоя (рис.29 А, Б, В). У субстратных мидий при увеличении солености не было отмечено количественных изменений в исследуемых показателях, направленных на повышение текучести мембран, хотя при 35‰ солености у них увеличивалось количество ФХ, свидетельствующее о стабилизации липидного бислоя (рис.30 А, Б, В). Известно, что ФХ, благодаря особенностям своей структуры, стабилизирует бислои, поэтому повышение его количества препятствует разжижению мембраны (Gillis, Balantyne, 1999a, б; Loque et al., 2000).

Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов

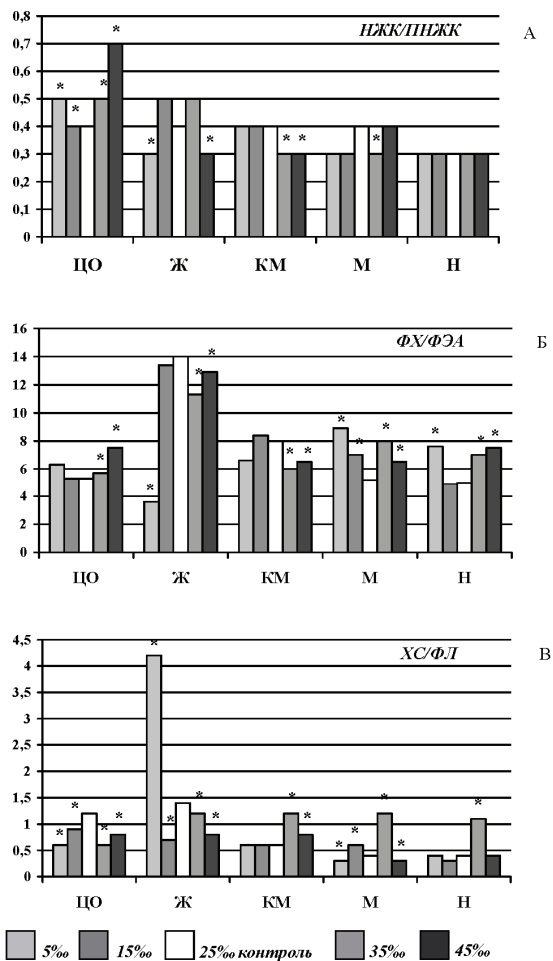


Рис. 29. Модификации основных показателей физического состояния мембран у литоральных мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие различной солености.

Примечание к рис. 29, 30: ЦО – целые организмы; Ж – жабры; КМ – край мантии (дистальная часть мантии); М – мантия (сагиттальная часть мантии); Н – нога. А – показатель НЖК/ПНЖК; Б – показатель ФХ/ФЭА; В – показатель ХС/ФЛ; * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰).

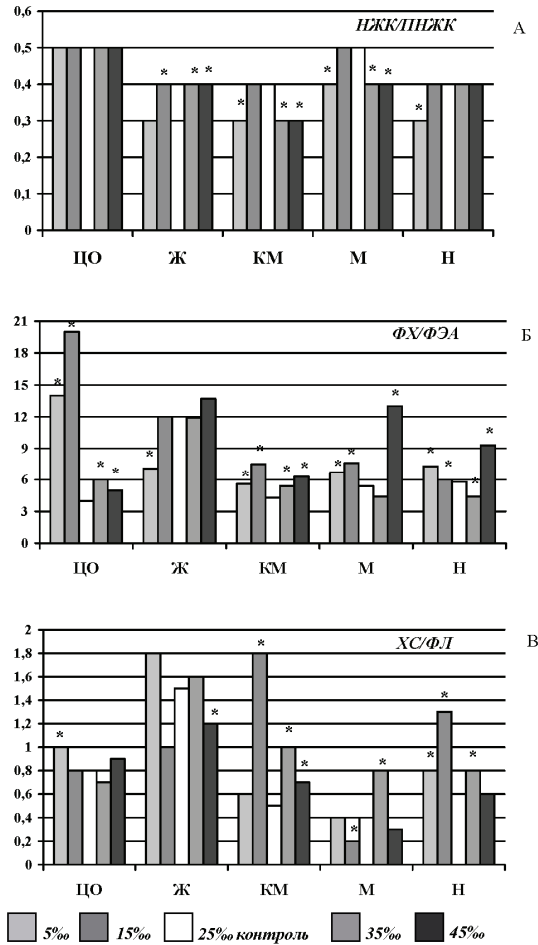


Рис. 30. Модификации основных показателей физического состояния мембран у субстратных мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие различной солености

Необходимо отметить, что ответ липидного состава целых моллюсков на изменения условий окружающей среды не может отразить реакцию состава липидов отдельных органов, поэтому

необходимо рассмотреть изменения липидного состава в некоторых органах *Mytilus edulis* (жабры, нога, дистальная и сагиттальная части мантии).

В жабрах литоральных мидий снижение количества ХС и ФХ (при 35‰) и соотношения НЖК/ПНЖК (при 45‰), вероятно, оказывает разрыхляющее действие на липидный бислой, препятствуя тем самым стабилизации мембраны. В дистальной части мантии уплотняющее действие ХС на мембраны при повышенной солености (35 и 45‰) компенсируется увеличением количества ПНЖК и снижением уровня ФХ (только при 35‰) (рис.29 А, Б, В). Известно, что ПНЖК, благодаря наличию в своем составе большого числа двойных связей, обеспечивают рыхлую структуру липидного бислоя (Крепс, 1981; Bell et al., 1986; Hall et al., 2002). В сагиттальной части мантии ответом на повышение солености является увеличение количества ПНЖК (при 35‰) и значительное снижение уровня ХС (при 45‰). При 35‰ солености повышенное содержание ПНЖК противодействует стабилизирующему влиянию высокого уровня ХС и ФХ, а при 45‰ солености снижение содержания ХС компенсирует повышение количества ФХ. В ноге при влиянии повышенной солености не было отмечено изменений в исследуемых липидных параметрах, хотя увеличение количества ХС (при 35‰) и ФХ (при 45‰) свидетельствует о стабилизации бислоя (рис.29 А, Б, В).

В жабрах субстратных мидий о стабилизации бислоя в ответ на действие повышенной солености свидетельствует высокий уровень ХС (при 35‰) и НЖК (при 35 и 45‰ солености). В дистальной и сагиттальной части мантии при влиянии солености 35 и 45‰ увеличение соотношения ХС/ФЛ (за исключением сагиттальной части мантии при солености 45‰) и ФХ/ФЭА (рис.30А, Б, В), свидетельствующее об уплотнении мембраны, компенсировалось значительным ростом концентрации ПНЖК. В сагиттальной части мантии при крайне высоком значении солености помимо повышения количества ПНЖК, отмечалось снижение уровня ХС. В ноге отмечено повышение уровня ФХ (при 45‰) и ХС (при 35‰), обладающие стабилизирующим действием (при 35‰ солености повышенное содержание ХС компенсировалось снижением соотношения ФХ/ФЭА) (рис.30А, Б, В).

Таким образом, у литоральных мидий в целом организме, а также в жабрах и мантийной ткани вследствие повышения солености до 35 и 45‰ морской воды происходят модификации липидного состава, направленные, очевидно, на «разжижение» мембран (рис.31). Напротив, у субстратных моллюсков колебания в составе структурных липидов в ответ на повышение солености свидетельствуют об увеличении вязкости клеточных мембран в целых организмах мидий и отдельных органах, за исключением мантийной ткани (рис.32).

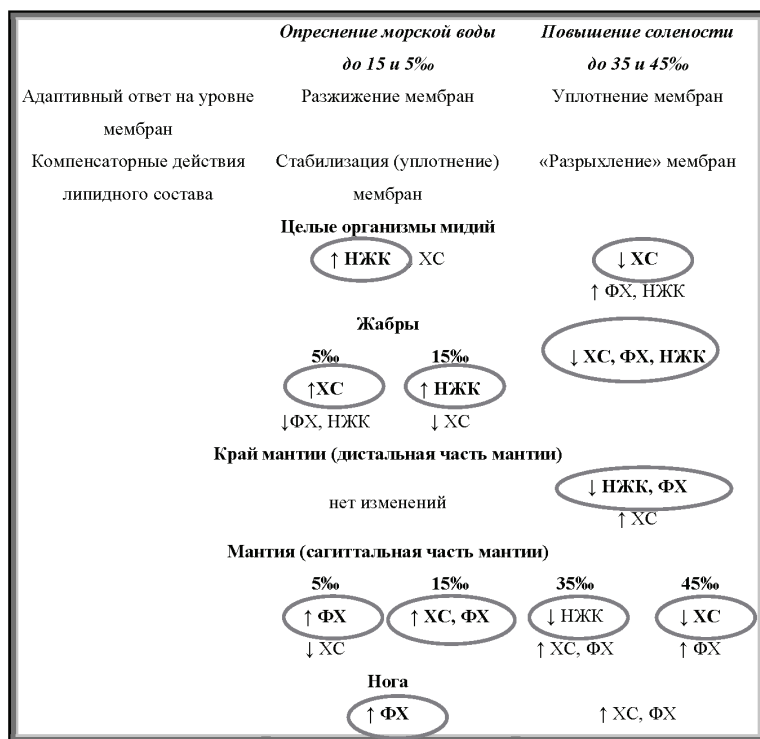


Рис. 31. Компенсаторные изменения на уровне структурных липидов у литоральных мидий *Mytilus edulis* в ответ на действие различной солености

Примечание к рис. 31 и 32. Компенсаторное действие структурных липидов обозначено жирным шрифтом и выделено в 

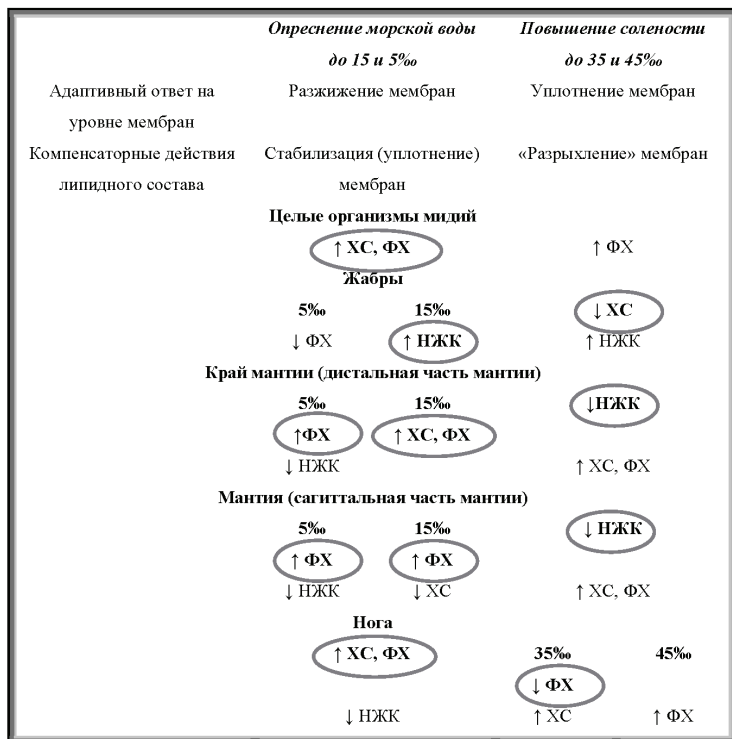


Рис. 32. Компенсаторные изменения на уровне структурных липидов у субстратных мидий *Mytilus edulis* в ответ на действие различной солености

ПОНИЖЕННАЯ СОЛЕНОСТЬ (ОПРЕСНЕНИЕ)

Опреснение окружающей среды вызывает разжижение мембран (Los, Murata, 2004), подобно действию высоких температур (рис.28). Следовательно, изменения липидного состава, возникающие при понижении солености, направлены на повышение вязкости бислоя.

В целом организме литоральных мидий при крайне низком значении солености (5‰) о стабилизации бислоя свидетельствует увеличение соотношения НЖК/ПНЖК. Повышенное содержание НЖК в свою очередь компенсируется низким содержанием ХС, что оказывает

разжижающее действие на мембрану (рис.29А, Б, В). У субстратных мидий при опреснении морской воды до 5 и 15‰ отмечено повышение показателя ФХ/ФЭА. Помимо отдельных фракций фосфолипидов, при крайне низком значении солености (5‰) уплотняющее действие на мембраны оказывает высокий уровень ХС (рис.30А, Б, В).

Ответ целого организма на воздействие различных факторов среды обитания, в том числе на изменение солености, является интегральным и состоит из совокупного ответа различных органов. В тоже время стратегии реакций клеток каждого отдельного органа на опреснение морской воды значительно отличаются между собой. Известно, что при краткосрочной (1–4 часа) акклимации целых моллюсков к пониженной солености клетки таких тканей, как жабры и мантия, не регулируют свой объем в ответ на опреснение морской воды. Наоборот, при долгосрочной (2–3 недели) акклимации происходит значительная потеря осмолитов из клеток жабр и мантии, что предполагает регуляторное снижение объема во всех клетках организма (Neufeld, Wright, 1996). Проницаемость мембран для осмолитов во многом зависит от структуры липидного бислоя и от активности таких мембранных белков, как клеточные рецепторы, ферменты, ионные каналы и насосы (Крепс, 1981; Кагава, 1985; Хочачка, Сомеро, 1988; Еляков, Стоник, 1988). В настоящей работе показано (рис.29А, Б, В; рис.31), что в жабрах литоральных мидий при снижении солености до критически низкого значения (5‰) уменьшение доли ФХ и НЖК компенсировалось повышением уровня ХС по отношению к ФЛ, что, по-видимому, оказывает уплотняющее действие на липидный бислой. Наоборот, при снижении солености до 15‰ рост концентрации ФЛ в жабрах, вероятно, оказывает разжижающее действие на мембраны. В дистальной части мантии (край мантии) при опреснении морской воды до 5 и 15‰ отсутствие компенсаторных изменений в исследуемых липидных показателях (НЖК/ПНЖК, ФХ/ФЭА и ХС/ФЛ), вероятно, указывает на незначительные колебания в микровязкости мембран, которые в свою очередь не требуют модификаций липидного состава. В сагиттальной части мантии литоральных мидий при 5 и 15‰ солености повышение показателя ФХ/ФЭА свиде-

тельствует об увеличении вязкости мембраны. Подобное было отмечено в ноге при крайне низкой солености (5‰). Кроме того, в сагиттальной части мантии при 15‰ солености об уплотнении бислоя свидетельствует повышение показателя ХС/ФЛ.

В отдельных органах (за исключением жабр), также как и на уровне целого организма, у мидий с искусственных субстратов (рис.30А, Б, В; рис.32) при опреснении морской воды до 5 и 15‰ наблюдались сходные компенсаторные изменения, направленные на стабилизацию липидного бислоя: повышение соотношений ФХ/ФЭА и ХС/ФЛ. В жабрах рост уровня ХС и падение количества ФХ компенсировались повышением концентрации ПНЖК. Кроме того, при крайне низком значении солености (5‰) в дистальной и сагиттальной части мантии и ноге отмечено снижение уровня НЖК, что свидетельствует о повышении текучести мембран. Вероятно, высокий уровень ПНЖК обеспечивает необходимую вязкость («рыхлость») и проницаемость бислоя при критически низкой солености среды обитания.

Таким образом, установлено, что в результате действия различной солености морской воды на литоральных и субстратных мидий происходят колебания в содержании структурных липидных компонентов, которые, как известно, влияют на фазовое состояние биологических мембран. Показано, что колебания в микровязкости липидного бислоя являются достаточными для активации и развития регуляторных реакций, которые в дальнейшем приводят к акклимации организма (Лось, 2001; Los, Murata, 2004). При смене солености среды обитания изменения в содержании холестерина в мембранах мидий *Mytilus edulis* коррелируют с активностью внутриклеточных Ca^{2+} -зависимых протеиназ (кальпаинов), играющих важную роль в метаболизме клеток, в том числе и регуляции клеточного объема (Кяйвяряйнен и др., 2005; Бондарева и др., 2007). Модификации липидного состава у моллюсков, адаптированных к разной солености, свидетельствуют об изменениях в микровязкости клеточных мембран и их проницаемости для ионов, в том числе для ионов Ca^{2+} . Известно, что при возрастании в цитозоле концентрации ионов кальция комплекс кальпаин – кальпаастатин (ин-

гибитор) распадается (Болдырев, 1998), следствием чего является активация кальпаинов; а в случае с низкими концентрациями кальция в цитозоле, наоборот, наблюдается снижение активности Ca^{2+} -зависимых протеиназ (Кяйвярйнен и др., 2005; Бондарева и др., 2007). В биологические мембраны встроено большое количество белков и рецепторов, активность которых во многом зависит от фазового состояния клеточных мембран. Проницаемость липидного бислоя для ионов, а также активность ионных каналов и насосов (например, Na^+/K^+ -АТФаза, $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ -АТФаза) определяется микровязкостью мембран (Крепс, 1981; Кагава, 1985; Хочачка, Сомеро, 1988; Еляков, Стоник, 1988), поэтому колебания в составе структурных липидов играют важную роль в процессах акклимации мидий к различной солености среды обитания. Ответная реакция на уровне мембранных липидов у литоральных и субстратных мидий при изменении солености морской воды направлена на создание оптимальной жидкостности биологических мембран, что обеспечивает нормальную работу мембранных белков и рецепторов, а также метаболизм клетки в целом.

II.1.3.2 Изменения содержания запасных липидов

Известно, что липиды являются источниками метаболической энергии в организме водных животных (Крепс, 1981; Лапин, Шатуновский, 1981; Freitas et al., 2002 а, б). У рыб и морских ракообразных при стрессовых воздействиях на организм, в том числе при влиянии различной солености, изменяется уровень запасных липидов (ТАГ и ЭХС) и некоторых жирных кислот (Chapelle, 1978; Roche et al., 1983; Hansen, Abraham, 1983; Bell et al., 1986; Гершанович и др., 1991; Cordier et al., 2002; Luvizotto-Santos et al., 2003; Sangiao-Alvarellos et al., 2003; Sangiao-Alvarellos et al., 2005; Martinez-Alvarez et al., 2005). Как отмечалось выше, у животных ТАГ преимущественно содержат насыщенные (16:0, 18:0, 20:0) и мононенасыщенные (16:1n-7, 16:1n-5, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:1n-5, 20:1n-11, 20:1n-9 и 20:1n-7) жирные кислоты (Christie, www.lipidlibrary.co.ua; Bockerhoff et al., 1966; Bockerhoff et al., 1968; Bockerhoff, 1971). Кроме того, n-3 ПНЖК (главным образом

16:4, 18:4, 20:5 и 22:6), синтезированные морским фитопланктоном, накапливаются в организме моллюсков в составе ТАГ (Brockerhoff et al., 1968; Freitas et al., 2002 а, б) и могут быть источником метаболической энергии у мидий. Изменения в количестве запасных липидов, в частности ТАГ, сопровождаются колебаниями в концентрациях этих кислот. У литоральных и субстратных мидий при смене солености (опреснение до 5 и 15‰, а также повышение солености до 35 и 45‰) отмечены разнонаправленные изменения в количестве запасных липидов и их жирных кислот, как в целом организме моллюска, так и его отдельных органах.

В целом организме и сагиттальной части мантии литоральных мидий опреснение морской воды способствовало снижению количества ТАГ, насыщенных и n-3 полиеновых ЖК. Наоборот, при повышении солености отмечен рост уровня ТАГ, НЖК (16:0 и 20:0), МНЖК (18:1 и 20:1) и n-3 ПНЖК (16:4, 18:4, 20:5 и 22:6) в жабрах, дистальной части мантии и целых литоральных моллюсках. Как у литоральных, так и субстратных мидий нога характеризуется относительно стабильным липидным составом при воздействии различной солености морской воды. Кроме того, у мидий с искусственных субстратов нога и дистальная часть мантии отличаются от других органов сравнительно низкими концентрациями запасных липидов. При влиянии всех исследуемых значений солености уровень ТАГ, насыщенных, моноеновых (16:1 и 20:1) и 18:4n-3 ЖК значительно снижался в сагиттальной части мантии субстратных мидий, тогда как в жабрах при повышении солености наблюдалась разнонаправленная реакция запасных липидов. При влиянии 35‰ солености в жабрах отмечено снижение ТАГ, МНЖК и n-3 ПНЖК, тогда как при 45‰ – увеличение запасных липидов. Некоторые исследователи связывают повышение уровня запасных липидов, а именно ТАГ, с увеличением количества лизосом и с явлением аутофагии в клетках морских мидий (Hole et al., 1995). Однако в экспериментах по влиянию различной солености на беломорских мидий было отмечено незначительное снижение активности фермента – β -глюкозидазы (Высоцкая и др., 2005; Высоцкая, Немова, 2008) – маркера II лизосом, которые участвуют в

процессах аутофагии (Покровский, Крыстев, 1977). Вероятно, в данном случае включаются другие пути увеличения уровня ТАГ в организме мидий: или за счет накопления питательного материала, поступающего из окружающей среды; или благодаря переключению метаболизма на аккумуляцию запасных липидов. Снижение уровня ТАГ может быть связано с их использованием в качестве источников метаболической энергии, необходимой для акклимации моллюсков к различной солености морской воды.

Следует обратить внимание, что при воздействии пониженной солености на мидий показан усиленный взаимный обмен углеводами между жабрами и мантией (Мещерякова и др., 2003). Как отмечалось выше, жабры и мантия мидий *Mytilus edulis* характеризуются повышенными количествами запасных липидов. Вероятно, метаболизм ТАГ и углеводов в этих органах направлен на поддержание повышенных энергетических потребностей организма при акклимации мидий к различной солености морской воды.

Помимо ТАГ, к запасным липидам относятся эфиры холестерина (ЭХС). В их состав входит один из основных компонентов биологических мембран – холестерин, а ненасыщенные ЖК могут быть не только структурными компонентами липидов, но и служить источниками метаболической энергии (Freites et al., 2002б). Изменения в концентрации ЭХС указывают на их важную роль в организме моллюсков при изменении условий среды обитания. У литоральных мидий в целом организме наблюдались разнонаправленные изменения ЭХС: опреснение способствовало снижению концентрации ЭХС, тогда как повышение солености вызывало рост его количества. Кроме того, в дистальной части мантии и ноге литоральных мидий при воздействии всех значений солености наблюдалось падение уровня ЭХС. В отличие от литоральных мидий, мантийная ткань и нога субстратных моллюсков характеризовались следовыми количествами ЭХС. При влиянии всех исследуемых значений солености в целых субстратных мидиях наблюдалось падение уровня ЭХС, тогда как в жабрах, наоборот, увеличение их концентрации. В некоторых случаях изменения в содержании ЭХС литоральных и субстратных мидий сопровождалось ростом концентрации ХС или ПНЖК.

Таким образом, изменения в количестве запасных липидов (в основном ТАГ) указывают на повышенные энергетические траты при акклимации беломорских мидий к различной солености. Это заключение согласуется с данными, полученными при исследовании углеводного обмена у *Mytilus edulis* L. в подобных экспериментах по влиянию различной солености морской воды (Мещерякова и др., 2003). Показано, что в ответ на понижение солености у моллюсков наблюдалось увеличение активности цитохромоксидазы, а также активация метаболических путей, связанных с синтезом АТФ. Отмеченные изменения в метаболизме липидов и углеводов свидетельствуют о повышенных энергетических затратах при адаптации мидий к различной солености морской воды.

II.1.3.3 Изменения физиологически активных липидов и жирных кислот

Липиды являются важнейшими биологическими эффекторами, регуляторами и медиаторами, участвующими практически во всех важнейших физиологических процессах, происходящих в организме, и в биохимических реакциях, протекающих в клетках животных (Дятловицкая, Безуглов, 1998; Когтева, Безуглов, 1998).

Известно, что ФИ – это минорный компонент клеточных мембран, который играет важную роль в обмене веществ. ФИ и его фосфаты являются предшественниками для образования ДАГ, которые служат сигнальными молекулами в клетках животных. Они регулируют активность протеинкиназы C, которая осуществляет контроль над многими клеточными функциями, такими как дифференциация, пролиферация, метаболизм и апоптоз (Bell et al., 1986; Кучеренко, Блюм, 1986; Ткачук, 1998; Di Paolo, De Camilli, 2006). При акклимации литоральных и субстратных моллюсков к различной солености морской воды повышается уровень ФИ, главным образом в жабрах и мантийной ткани. В клетках животных ФИ – это основной источник арахидоновой 20:4n-6 кислоты, которая является метаболическим предшественником для синтеза эйкозаноидов (Bell et al., 1986; Кучеренко, Блюм, 1986; Ткачук, 1998; Tocher, 2003). Разнонаправленные количественные изменения 20:4n-6 кислоты, отмеченные в данной работе у акклимированных беломорских моллюсков, особенно у обитающих на искусственных

субстратах марикультуры, свидетельствуют о ее важной роли в жабрах и мантии при изменении условий среды обитания (рис.33). Некоторыми авторами показан усиленный синтез эйкозаноидов (в частности, простагландинов) у двусторчатых моллюсков в процессе их акклимации к различной солености морской воды (Freas, Grollman, 1980). При этом, ПНЖК n-6 семейства придают мембранам, содержащим повышенное количество данных кислот в составе фосфолипидов, определенную прочность и устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов среды (Крепс, 1981), в том числе и влиянию солености. В настоящей работе обнаружено, что не только фракция ФИ, но и фракция ФХ, содержит повышенное количество 20:4n-6 кислоты. (табл.1) Данная кислота, вероятно, необходима моллюскам не только для синтеза эйкозаноидов, но и для стабилизации клеточной мембраны при акклимации к смене солености морской воды.

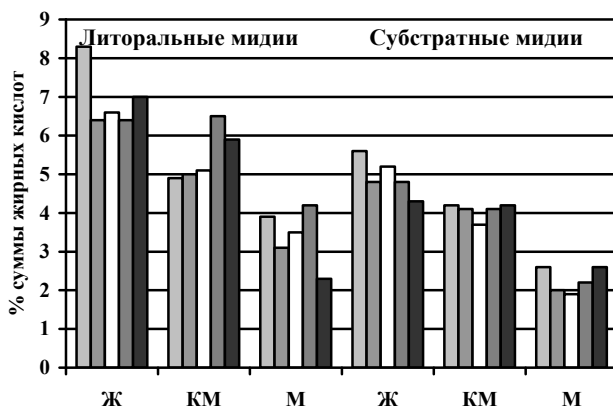


Рис. 33. Содержание арахидоновой кислоты у литоральных и субстратных мидий при влиянии различной солености:

Ж – жабры, КМ – край мантии (дистальная часть мантии), М – мантия (сагиттальная часть мантии)

5‰ 15‰ 25‰ контроль 35‰ 45‰

Следует обратить внимание на изменение концентрации линолевой 18:2n-6 кислоты и соотношения 18:2n-6/20:4n-6 у литоральных и субстратных мидий при опреснении и повышении солености

морской воды (рис.34). Биосинтез арахидоновой 20:4n-6 кислоты из алиментарного предшественника – линолевой 18:2n-6 кислоты в реакциях элонгации и десатурации является основным путем обеспечения организма (Крутецкая, Лебедев, 1993; Tocher, 2005). Соотношение 18:2n-6/20:4n-6 отражает уровень превращения линолевой кислоты в арахидоновую, а эффективность этого процесса зависит от количества 18:2n-6 кислоты и от активности участвующих в этом синтезе ферментов. Поэтому изменения в соотношении этих кислот у литоральных и субстратных мидий в результате влияния различной солености могут указывать на уровень метаболизма 20:4n-6 кислоты. Так, отмеченное у акклимированных к различной солености моллюсков, особенно у мидий, обитающих на искусственных субстратах, снижение соотношения 18:2n-6/20:4n-6, которое обусловлено падением уровня линолевой кислоты и ростом концентрации арахидоновой кислоты, свидетельствует, главным образом, о повышении синтеза арахидоновой 20:4n-6 кислоты. Поскольку 20:4n-6 кислота – это основной предшественник для синтеза эйкозаноидов, можно предположить, что изменения в уровне 18:2n-6 и 20:4n-6 кислот будут свидетельствовать о косвенном участии этих кислот в молекулярных адаптациях мидий к смене солености морской воды.

Помимо арахидоновой 20:4n-6 кислоты в метаболизме эйкозаноидов участвуют эйкозапентаеновая 20:5n-3 и докозагексаеновая 22:6n-3 кислоты (Bell et al., 1986; Tocher, 2005), уровень которых также был подвержен изменениям в ходе долгосрочной акклимации мидий к различной солености (табл.7). Полиеновые кислоты n-3 семейства, главным образом 20:5n-3 и 22:6n-3, доминируют в составе жирных кислот общих липидов литоральных и субстратных мидий из Белого моря. Данные кислоты, кроме участия в синтезе эйкозаноидов, являются компонентами фосфолипидов мембран, придавая определенную жидкость липидному бислою (Крепс, 1981) и источниками метаболической энергии в организме морских моллюсков (Freites et al., 20026). Невозможно четко определить степень участия данных кислот во всех перечисленных

процессах, но изменения в их содержании позволяет предположить важную адаптивную роль $n-3$ ПНЖК в процессе акклимации моллюсков к различной солености среды обитания. Показано, что у рыб докозагексаеновая $22:6n-3$ кислота наряду с другими макромолекулами играет важную специфическую роль в адаптационном процессе, в то время как у прикрепленных, малоподвижных беспозвоночных животных функциональным аналогом докозагексаеновой кислоты, по-видимому, является ее предшественник – эйкозапентаеновая $20:5n-3$ кислота (Шульман, Юнева, 1990; Ромашина, 1983).

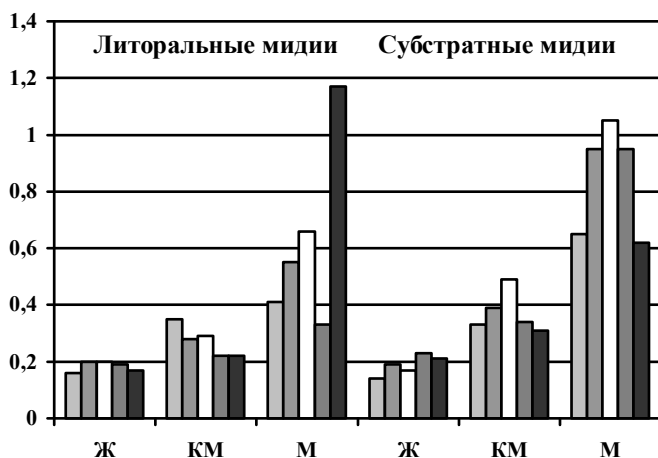


Рис. 34. Соотношение $18:2n-6/20:4n-6$ у литоральных и субстратных мидий при влиянии различной солености.

Примечание к рис. 34: Ж – жабры; КМ – край мантии (дистальная часть мантии); М – мантия (сагиттальная часть мантии).

5‰ 15‰ 25‰ контроль 35‰ 45‰

Известно, что некоторые жирные кислоты не могут синтезироваться в организме животных и должны поступать с растительной пищей (Bell et al., 1986; Tocher, 2005). У морских беспозвоночных, в том числе мидий *Mytilus edulis* L., жирные

кислоты фитопланктонного происхождения – олеиновая 18:1n-9, линоленовая 18:3n-3, линолевая 18:2n-6, эйкозапентаеновая 20:5n-3 и докозагексаеновая 22:6n-3 – являются предшественниками синтеза большинства n-3 и n-6 ПНЖК и их метаболитов. Кроме того, показана связь определенных жирных кислот с некоторыми классами фитопланктона, например, диатомовые водоросли в большом количестве содержат 20:5n-3 кислоту, а 22:6n-3 кислоты много в динофлагеллятах (Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Fluerece et al., 1994; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Хардин и др., 2002; Ramos et al., 2003). Отмеченные в настоящей работе изменения в концентрациях 18:1n-9, 18:3n-3, 18:2n-6 жирных кислот при акклимации мидий к различной солености морской воды могут быть связаны не только с активным использованием данных кислот в синтезе высоконенасыщенных жирных кислот n-3 и n-6 семейств и их метаболитов, но и с недостатком питательного материала и/или с угнетением фильтрации в экспериментальных условиях обитания моллюсков. В связи с этим необходимо выделить функциональную значимость n-9 ПНЖК, которые, как известно, включаются в метаболизм жирных кислот только тогда, когда в организме отмечается недостаток незаменимых n-3 и n-6 ПНЖК (Сергеева, Варфоломеева, 2006; Christie, www.lipidlibrary.co.uk). Следует отметить, что в целых организмах и в отдельных органах, главным образом, у литоральных мидий при воздействии различной солености морской воды наблюдалось значительное изменение уровня n-9 ПНЖК (табл.8). Например, в целом организме литоральных мидий при воздействии 45‰ солености, а также в жабрах у субстратных мидий при влиянии 15 и 45‰ солености, наблюдался низкий уровень n-9 жирных кислот, наряду с пониженным содержанием n-3 и n-6 полиеновых кислот. Вероятно, такие особенности жирнокислотного состава мидий указывают на использование этих кислот с необычной структурой (т.е. n-9 ЖК) в процессах акклимации моллюсков к различной солености вместо недостающих полиеновых кислот обычного строения.

Таблица 7

**Содержание эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот
(% суммы жирных кислот) у литоральных и субстратных мидий
при влиянии различной солености морской воды**

Соленость	Эйкозапентаеновая 20:5n-3 кислота					Докозагексаеновая 22:6n-3 кислота				
	5‰	15‰	25‰ кон- троль	35‰	45‰	5‰	15‰	25‰ кон- троль	35‰	45‰
<i>Литоральные мидии</i>										
Целые организмы	11,1*	10,4*	12,7	11,3*	7,2*	11,8	13,2	13,5	12,4	5,2*
Жабры	10,3	9,2	9,8	9,2	10,4	14,3	12,0	13,7	12,8	15,8*
Край мантии	7,7	10,4*	9,0	10,2*	10,1*	11,3	14,9*	12,8	14,9*	14,3*
Мантия	12,8	16,7*	13,4	13,9	15,2*	14,9	16,5	16,3	17,3*	17,0*
Нога	11,2*	11,7*	13,6	10,7*	11,9*	14,5*	15,3*	17,9	14,9*	16,5*
<i>Субстратные мидии</i>										
Целые организмы	15,0*	13,6*	17,4	17,0	19,0	15,1	16,2	17,0	15,5	13,4
Жабры	12,6	11,5	13,1	11,6*	11,7*	17,0*	14,7*	15,6	15,5	14,8*
Край мантии	9,9*	11,5	11,6	12,5	11,9	14,1*	15,9	15,7	17,1*	17,6*
Мантия	16,5	16,6	15,6	16,7	15,1	15,8	15,1	14,8	16,1	13,7
Нога	11,1*	11,5*	10,8	12,5*	12,1*	15,4*	15,9*	14,7	17,0*	17,6*

Примечание. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰).

В процессе акклимации литоральных и субстратных мидий к смене солености морской воды отмечены разнонаправленные изменения в содержании сфингомиелина (СФМ). Данный фосфолипид, наряду с ФХ и ФЭА, является структурным компонентом клеточных мембран и, благодаря особенностям своей структуры, придает прочность липидному бислою при воздействии неблагоприятных факторов среды (Christie, www.lipidlibrary.co.uk). Известно, что снижение уровня СФМ в клеточной мембране

подавляет синтез ХС в клетке и увеличивает скорость его депонирования в виде эфиров (Scheek et al., 1997; Коломийцева и др., 2003). При влиянии различной солености на моллюсков отмечено, что изменения в концентрации СФМ сопровождаются колебаниями в уровне ХС и его эфиров. Кроме того, необходимо отметить, что при акклимации моллюсков к различной солености морской воды прослеживались определенные корреляции между уровнем СФМ и ФХ, особенно четко это прослеживалось в целом организме **литоральных мидий** (рис.35). При опреснении морской воды у **субстратных мидий** на уровне целого организма и в краевой части мантии наблюдались подобные, но менее выраженные, колебания в количестве данных липидных фракций (рис.36). Помимо того что, СФМ является структурным компонентом клеточных мембран и регулятором синтеза ХС, большое количество метаболитов биосинтеза СФМ участвуют в качестве вторичных мессенджеров во многих клеточных процессах, а также при стрессовых воздействиях окружающей среды (Christie, www.lipidlibrary.co.uk).

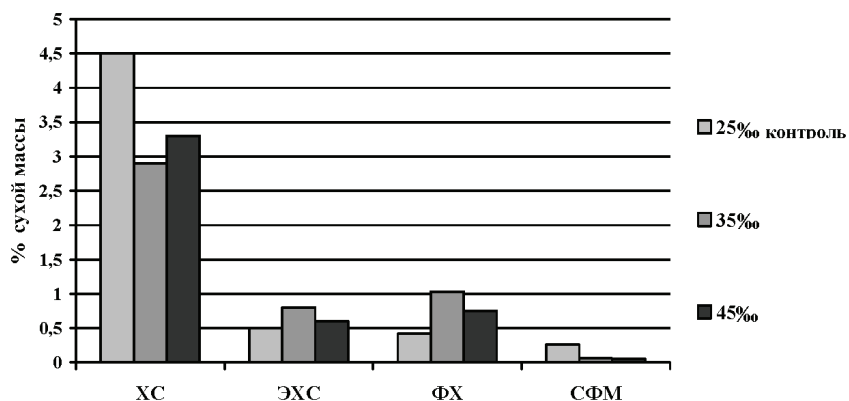


Рис. 35. Содержание СФМ, ХС, ЭХС и ФХ в целом организме **литоральных мидий** при влиянии повышенной солености морской воды

Таблица 8

**Содержание ПНЖК у литоральных и субстратных мидий
при влиянии различной солености морской воды**

	Литоральные мидии				Субстратные мидии			
	<i>n-3</i> ПНЖК	<i>n-6</i> ПНЖК	<i>n-9</i> ПНЖК	НМРЖК	<i>n-3</i> ПНЖК	<i>n-6</i> ПНЖК	<i>n-9</i> ПНЖК	НМРЖК
Целые организмы								
5‰	28,3*	15,1*	4,3	0,7	36,7	10,9	2,2	0,6
15‰	28,2*	17,8	5,5	0,7	36,9	11,4	2,4	0,7
25‰	31,9	16,6	4,7	0,7	40,1	10,4	2,1	0,7
35‰	28,8*	15,1*	5,2	1,1*	39,1	8,7*	3,0	0,9
45‰	21,5*	14,3*	1,7*	1,2*	38,5	11,7	1,7*	0,7
Жабры								
5‰	28,8	23,2*	7,4*	1,2*	33,0*	20,4*	5,2	1,0
15‰	25,6	20,9	5,4	1,3*	31,0*	18,7*	4,4*	0,9
25‰	27,7	20,4	6,2	1,1	37,3	19,6	5,1	1,0
35‰	26,7	20,1	6,0	1,0	30,9*	20,1	5,2	0,9
45‰	33,2*	21,0	5,8	1,4*	31,6*	18,9*	4,5*	0,8
Край мантии								
5‰	27,4	17,5	7,3*	0,9	37,5*	15,3*	7,2*	1,1
15‰	33,3	15,1	6,5	1,2	34,7	14,2	5,0	1,1
25‰	33,0	15,8	6,0	1,0	32,9	13,9	5,2	1,1
35‰	35,4	17,7	8,1*	1,2	38,7*	14,4	5,8	1,2
45‰	35,4	17,0	8,3*	1,1	40,3*	14,8*	5,6	1,1
Мантия								
5‰	37,3	14,0	5,5*	1,0	42,2	10,3	4,3*	1,3
15‰	42,4	11,4	4,1	1,1	40,0	9,2	2,2	1,2
25‰	39,0	14,3	3,5	1,5	38,0	9,4	2,8	1,1
35‰	39,9	14,3	4,9*	1,0	40,6	10,6	3,0	1,1
45‰	41,1	11,7*	3,6	1,0	38,0	10,6	3,5	0,9
Нога								
5‰	35,6	16,6*	5,4	0,9*	37,2*	15,3*	4,8	1,2
15‰	38,4	14,8	5,0	0,8*	36,7*	14,4*	4,8	1,1
25‰	37,2	14,0	5,6	1,1	34,5	13,6	4,8	1,2
35‰	37,0	15,2*	6,9*	0,9*	38,0	14,1	4,2	1,0
45‰	37,0	15,3*	6,1	1,1	37,7	13,9	5,7*	1,1

Примечание. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰).

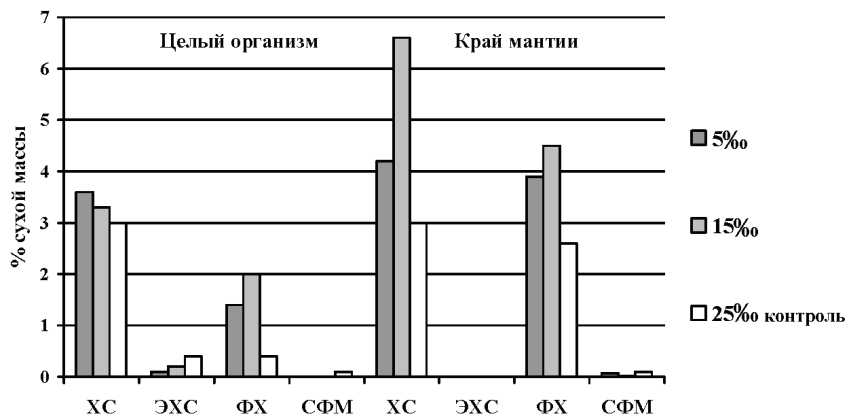


Рис. 36. Содержание СФМ, ХС, ЭХС и ФХ в целом организме и краевой части мантии **субстратных мидий** при опреснении морской воды

Содержание фосфатидилсерина (ФС) крайне важно для регуляции клеточного объема во время адаптаций двустворчатых моллюсков к различной солености среды обитания. Наряду с органическими молекулами, ключевыми осмолитами у пойкилосмотических организмов являются неорганические ионы, в частности K^+ , Na^+ , Cl^- (Бергер, 1986; Шахматова и др., 2006). Установлено, что помимо пассивного транспорта ионов, в регуляции объема клетки морских *Bivalvia* принимают участие убаин-чувствительная Na^+/K^+ -АТФ-аза и убаин-нечувствительная Mg^{2+}/Na^+ -АТФ-аза (Borgatti et al., 2003; Pagliarani et al., 2006). Проницаемость клеточной мембраны для ионов, а также активность классической Na^+/K^+ -АТФ-азы, встроенной в клеточную мембрану, во многом определяется особенностями структурной организации липидного бислоя, особенно присутствием ФС в мембране (Болдырев, 1998). Изменения в количестве ФС при смене солености морской воды у беломорских мидий, главным образом в жабрах и мантийной ткани субстратных мидий (табл.9), указывают на модификацию активности ферментов, ионных каналов и насосов, а также осмо- и натриорецепторов,

встроенных в мембраны и ответственных за регуляцию клеточного объема. Известно, что в мантийной ткани и жабрах двустворчатых моллюсков локализовано большое количество осмотических и натриорецепторов, а также ионных каналов и насосов, ответственных за процессы пассивной и активной регуляции клеточного объема при воздействии солености (Бергер, 1986). Однако активность данных белковых компонентов зависит не только от уровня ФС в мембране, но и от других структурных особенностей липидного бислоя (концентрация холестерина и фосфолипидный состав) (Крепс, 1981; Еляков, Стоник, 1988).

Важным физиологически активным липидом является лизофосфатидилхолин (ЛФХ), роль которого ранее связывали исключительно с патологическими состояниями в клетке (Проказова и др., 1998). При влиянии различной солености на литоральных и субстратных мидий не наблюдалось значительных (т.е. патологических) повышений уровня ЛФХ, которые могли бы привести к перестройкам липидного бислоя и его неспецифической проницаемости. При этом, в большинстве случаев отмечалось снижение концентрации данного фосфолипида, а именно в жабрах, мантии и ноге у литоральных и субстратных мидий (табл.10). Необходимо указать, что ЛФХ является промежуточным продуктом синтеза ЭХС (запасная форма холестерина в организме) (Christie, www.lipidlibrary.co.uk). Следовательно, при смене солености морской воды у беломорских мидий повышение уровня лизоформ ФХ, вероятно, может быть связано или с удалением избытка ХС из организма моллюсков, или с превращением его в запасную форму в виде ЭХС. Кроме того, колебания в концентрации ЛФХ у мидий при акклимации к различной солености среды обитания могут быть вызваны его важной ролью в передаче трансмембранного сигнала внутрь клетки (Проказова и др., 1998; Коломийцева и др., 2003), а также при влиянии на активность Na^+/K^+ -АТФазы (Oishi et al., 1990).

Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов

Таблица 9

Содержание ФС у литоральных и субстратных беломорских мидий при влиянии различной солености морской воды

Соленость	5‰	15‰	25‰ контроль	35‰	45‰
Литоральные мидии					
Целый организм	0,2*	0,1*	0,02	0,1*	0,03
Жабры	0,1	0,3*	0,1	0,1	0,2*
Край мантии	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2
Мантия	0,3	0,3	0,4	0,2*	0,3
Нога	0,4*	0,5*	0,3	0,2*	0,2*
Субстратные мидии					
Целый организм	0,02	0,02	0,1	0,1	0,1
Жабры	0,2*	0,2*	0,1	0,2*	0,2*
Край мантии	0,3	0,2*	0,3	0,2*	0,2*
Мантия	0,3*	0,2	0,2	0,3*	0,2
Нога	0,2*	0,3	0,3	0,3	0,1*

Таблица 10

Содержание ЛФХ у литоральных и субстратных беломорских мидий при влиянии различной солености морской воды

Соленость	5‰	15‰	25‰ контроль	35‰	45‰
Литоральные мидии					
Целый организм	0,4*	0,3*	0,2	0,4*	0,3*
Жабры	0,3*	1,2	1,2	0,8*	1,4
Край мантии	0,6*	0,1*	0,01	0,2*	0,7*
Мантия	0,04*	0,04*	1,5	0,04*	1,1
Нога	0,1*	0,1*	0,9	0,03*	1,3
Субстратные мидии					
Целый организм	1,2*	1,0*	0,4	0,4	0,3
Жабры	0,5	0,3	0,5	1,0*	0,7
Край мантии	1,3	0,1*	1,1	0,03*	1,0
Мантия	1,3	0,1*	0,7	0,1*	0,03*
Нога	0,4	0,0*	0,5	0,1	0,9

Примечание к табл. 9 и 10: * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰).

В составе липидов морских организмов выявлен целый ряд уникальных компонентов и структурных особенностей, являющихся важнейшими звеньями при адаптации данных организмов к специ-

фической среде обитания (Крепс, 1981; Захарцев и др., 1998). Для морских организмов, в том числе и для беломорских мидий *Mytilus edulis*, характерно наличие метиленразделенных жирных кислот (НМРЖК) в составе липидов. Известно, что присутствие данных кислот в липидном бислое оказывает существенное влияние на структуру и функционирование биологических мембран. Благодаря особенностям своей структуры НМРЖК, в отличие от полиенов обычного строения, имеют более низкую температуру плавления и более высокую устойчивость к окислению, что позволяет им в составе фосфолипидов влиять на жидкокристаллическую структуру липидного матрикса (Paradis, Ackman, 1977; Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998). При этом, НМРЖК могут синтезироваться *de novo* в организме моллюска (Zhukova, 1986), их биосинтетическими предшественниками являются 16:1n-7, 18:1n-7 и 20:1n-7 кислоты (De Mogeno, 1976b; Zhukova, 1986; Жукова, 1992; Хардин и др., 2002; Жукова, 2009). В результате действия пониженной и повышенной солености морской воды на литоральных мидий отмечены заметные колебания в уровне НМРЖК и их метаболитических предшественников, тогда как у субстратных мидий концентрация данных жирных кислот в меньшей степени подвергалась изменениям. Вероятно, для моллюсков из прибрежной зоны моря характерен более высокий уровень метаболизма НМРЖК, которые благодаря своим особым физическим свойствам предохраняют мембрану от серьезных повреждений, возникающих при обитании в столь изменчивой среде обитания, как литораль. Кроме того, у литоральных мидий на уровне целого организма при влиянии повышенной солености отмечена корреляция между содержанием n-3 полиенов и НМРЖК (табл.8). Наличие подобного явления указывает на активное участие НМРЖК в поддержании целостности и определенной жидкостности мембран при явном недостатке ПНЖК обычного строения (Klingensmith, 1982; Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998). Наоборот, в целых организмах и отдельных органах субстратных мидий, а также в отдельных органах литоральных мидий при влиянии различной солености отмечались изменения в составе n-3 и n-6 ПНЖК, которые происходили одновременно с колебаниями в концентрации НМРЖК, что

указывает на совместное действие полиеновых кислот нормального и необычного строения при акклимации к смене солености среды обитания. Известно, что наибольшее количество НМРЖК содержится в фосфолипидах мембран (Klingensmith, 1982; Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998). Следует отметить, что проведенный анализ жирнокислотного состава отдельных фракций фосфолипидов беломорских литоральных и субстратных мидий подтверждает литературные данные о локализации НМРЖК (табл.1). В настоящем исследовании показано, что у литоральных и субстратных мидий *Mytilus edulis* Белого моря НМРЖК в основном локализованы во фракции ФХ, и в меньшем количестве во фракции ФС и ФЭА.

Благодаря большому числу разнообразных функций, характерных для физиологически активных липидов (ФИ, ФС, ЛФХ и СФМ) и жирных кислот (20:4n-6, 20:5n-3, 22:6n-3, 18:1n-9 и др.), в настоящей работе невозможно четко обозначить степень участия того или иного липидного компонента в процессе акклимации мидий к различной солености морской воды. Характер количественных изменений данных липидов в целом организме и отдельных органах литоральных и субстратных мидий при влиянии, как опреснения, так и повышения солености морской воды свидетельствует об участии всех исследованных активных липидных молекул в процессе адаптации моллюсков к различной солености среды обитания

Таким образом, в настоящей работе показано, что липидный состав подвергается значительным изменениям при акклимации литоральных и субстратных мидий к различной солености морской воды. Благодаря тому, что липиды участвуют во всех процессах жизнедеятельности организма, они способствуют адаптации моллюсков к такому важному фактору морской среды обитания, как соленость.

II.1.3.4 Действие умеренных и критических значений солености на липидный состав беломорских мидий *Mytilus edulis*

При изучении влияния различной солености на морских беспозвоночных следует четко дифференцировать воздействие не только на опреснение и осолонение, но и на влияние «критических» и

«умеренных» значений солености (Kinne, 1971). Значения солености, используемые в настоящей работе, охватывают диапазон устойчивости мидий, включая крайние значения зоны резистентности, показанные для мидий в условиях *in situ*. Однако следует иметь в виду, что пределы солености, переносимой гидробионтами в условиях лабораторного однофакторного эксперимента, гораздо шире, чем это следует из анализа их распространения в водоемах переменного соленостного режима (Kinne, 1971; Хлебович, 1974; Бергер, 1986). Известно, что для большинства морских организмов, в том числе мидий *Mytilus edulis*, крайне низким пределом выживания является соленость 5-8‰ (Хлебович, 1974). Верхняя граница зоны толерантности мидий к солености более размыта, и сведений, характеризующих физиологическое состояние моллюсков в водоемах, соленость которых превышает 35-40‰, весьма ограничены. Следует отметить, что соленость в Белом море редко достигает, а тем более превышает соленость равную 35‰ (Наумов, 2006). Однако считается, что соленость 45‰ является верхним пределом влияния фактора «соленость», т.к. при воздействии на организм солености выше этого значения начинается влияние так называемого «рапического» фактора – смена ионного состава морской воды (Константинов, 1989). Показано значительное угнетение дыхания у мидий при действии солености 5 и 40‰, тогда как в пределах от 15 до 30‰ интенсивность дыхания моллюсков не изменялась (Бергер, 1986). Изменения белкового обмена при критической 5‰ солености для мидий расцениваются, как патологические, тогда как при повышенной солености колебания параметров внутриклеточного протеолиза имеют адаптивную направленность (Бондарева, 2004; Бондарева и др., 2007). Необходимо подчеркнуть, что модификации липидного состава, отмеченные у литоральных и субстратных мидий в результате действия сильно опресненной морской воды (5‰), не трактовались, как патологические. Хотя в жабрах литоральных *Mytilus edulis* были отмечены альтерации состава липидов, характерные только для 5‰ солености. Например, отмечено снижение концентрации фосфолипидов, главным образом, ФХ и его лизоформы (рис. 29 Б, В; табл. 10).

Жирнокислотный состав жабр литоральных мидий в условиях крайне низкой солености морской воды характеризуется пониженным содержанием олеиновой 18:1 n-9 кислоты, а также высокими концентрациями арахидоновой 20:4n-6 кислоты, НМРЖК и n-9 ПНЖК (рис.33, 37; табл.8). Низкий уровень олеиновой кислоты указывает или на недостаток данной кислоты в условиях эксперимента, или на низкие скорости фильтрации мидий в неблагоприятных условиях. Известно, что 18:1n-9 кислота поступает в организм моллюсков с пищей (главным образом, с фитопланктоном и детритом) (Kharlamenko et al., 1995; Жукова, 2009), а скорость фильтрации у мидий в условиях сильного опреснения морской воды значительно падает (Бергер, 1986).

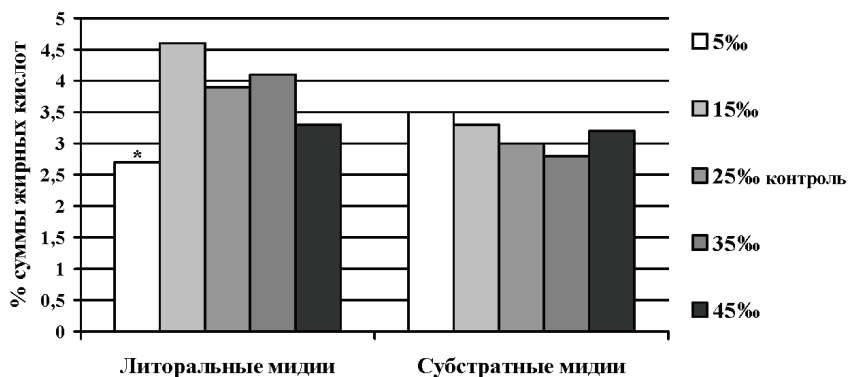


Рис. 37. Содержание олеиновой 18:1n-9 кислоты в жабрах литоральных и субстратных мидий при влиянии различной солености морской воды.

Примечание к рис. 37. * – различия достоверны при сравнении с контролем (соленость 25‰)

Повышенные концентрации жирных кислот с необычной структурой (НМРЖК и n-9 ПНЖК) свидетельствуют об их использовании для поддержания целостности и необходимой вязкости биологических мембран в условиях недостатка жирных кислот обычного строения (n-3 и n-6 ПНЖК) при действии сильно опресненной морской воды на литоральных мидий.

В целом организме и сагиттальной части мантии литоральных мидий при влиянии критических значений солености (5 и 45‰) низкое содержание ХС компенсируется повышенными концентрациями НЖК и ФХ. В жабрах литоральных мидий в ответ на действие 5 и 45‰ солености наблюдался рост уровня ПНЖК, что в свою очередь обеспечивает рыхлое состояние липидного бислоя (рис.29А, Б, В). В ноге литоральных и субстратных мидий при влиянии критических значений солености отмечено высокое содержание ФХ, что способствует стабилизации мембран. У мидий, обитающих на искусственных субстратах, в мантийной ткани также установлено высокое содержание ФХ, которое компенсировалось низким уровнем НЖК (рис.30А, Б). Вероятно, разнонаправленные изменения в количестве структурных липидов в целых организмах и отдельных органах литоральных и субстратных моллюсков придают определенную прочность, а также обеспечивают целостность биологическим мембранам и проницаемость их для осмолитов во время регуляторного изменения объема клетки в ответ на действие критических значений (5 и 45‰) солености. При влиянии умеренной солености (15 и 35‰) в сагиттальной части мантии литоральных мидий, а также во всех исследуемых органах, за исключением сагиттальной части мантии, и целом организме субстратных мидий изменения липидного состава направлены на стабилизацию липидного бислоя, тогда как в целом организме литоральных мидий наблюдались изменения способствующие разрыхлению мембран (рис. 31, 32).

На уровне запасных липидов в жабрах литоральных мидий при влиянии критических значений солености наблюдаются характерные изменения, а именно значительное повышение концентрации ТАГ. Необходимо отметить, что при воздействии 45‰ солености в краевой части мантии литоральных мидий и жабрах субстратных мидий увеличилось содержание ТАГ. В сагиттальной части мантии беломорских мидий в ответ на действие критических значений солености уровень ТАГ падает (рис.38). Таким образом, жабры и край мантии беломорских мидий в условиях действия критических значений солености морской воды накапливают запасные липиды

(а именно, ТАГ), в то время как в сагиттальной части мантии они расходуются. Вероятно, в условиях действия критических значений солёности морской воды идет перераспределение запасных липидов между данными органами, что является компенсаторной реакцией липидного состава беломорских мидий в ответ на солёностный стресс.

В отличие от литоральных мидий, для субстратных моллюсков характерны определенные изменения на уровне физиологически активных липидов в ответ на действие критических и умеренных значений солёности. Например, для дистальной части мантии (край мантии) характерно снижение уровня ЛФХ при действии умеренных значений солёности (табл.10), тогда как для ноги – снижение уровня ФС при критических значениях солёности (табл.9). Мантия субстратных мидий отличается характерной реакцией на уровне линолевой (18:2n-6) и арахидоновой (20:4 n-6) кислот, в частности, показано снижение уровня линолевой кислоты и одновременное повышение концентрации арахидоновой кислоты (рис. 33, 34).

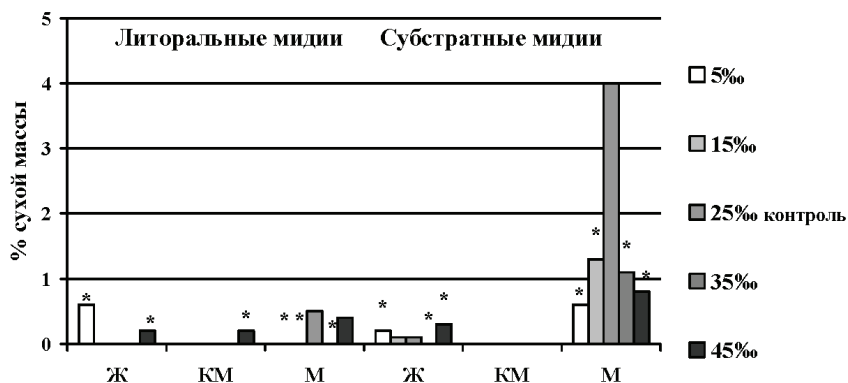


Рис. 38. Содержание ТАГ в жабрах и мантии литоральных и субстратных мидий при влиянии различной солёности морской воды

Примечание к рис. 38: Ж – жабры; КМ – край мантии (дистальная часть мантии); М – мантия (сагиттальная часть мантии); * – различия достоверны при сравнении с контролем (солёность 25‰).

Таким образом, невозможно четко дифференцировать ответную реакцию на уровне липидного состава беломорских мидий на опреснение и на повышение солености морской воды, а также на воздействие критических и умеренных значений солености.

П.1.3.5 Ответная реакция на уровне изменения липидного состава на действие солености в отдельных органах беломорских мидий *Mytilus edulis* L.

Установлено, что ответная реакция на уровне липидного состава на воздействие различной солености морской воды органоспецифична у беломорских мидий.

Как известно, клетки жабр и мантии теряют большое количество осмолитов при долгосрочном (2-3 недели) воздействии пониженной солености, то есть в данных органах наблюдается регуляторное снижение клеточного объема в ответ на опреснение морской воды. Жабры и мантийная ткань характеризуются значительными изменениями в содержании большинства липидных фракций при акклимации беломорских мидий к различной солености морской воды. Так, при влиянии пониженной солености на литоральных и субстратных мидий в жабрах снижается соотношение $n-3/n-6$ ПНЖК и основных мембранных фосфолипидов – ФХ/ФЭА (рис.39). В мантии (дистальная и сагиттальная части) беломорских мидий, наоборот, наблюдалось повышение соотношения ФХ/ФЭА в ответ на опреснение морской воды (рис. 29Б, 30Б). Таким образом, в жабрах и мантии беломорских мидий не отмечается односторонних изменений всех исследуемых структурных липидных показателей. В данных органах, вероятно, используются разные механизмы потока осмолитов сквозь клеточные мембраны при воздействии пониженной солености морской воды. Следует обратить внимание, что изменения в соотношении $n-3/n-6$ ПНЖК – одного из показателей жидкостности мембран, отмечались только в жабрах литоральных и субстратных мидий, хотя колебания других показателей физического состояния липидного бислоя, таких как НЖК/ПНЖК, ФХ/ФЭА, ХС/ФЛ, обнаружены во всех исследованных органах беломорских мидий. Таким образом, можно заклю-

чить, что соотношение $n-3/n-6$ ПНЖК, отражающее физическое состояние биологических мембран, является специфичным показателем ответной реакции жабр беломорских мидий на действие различной солености морской воды.

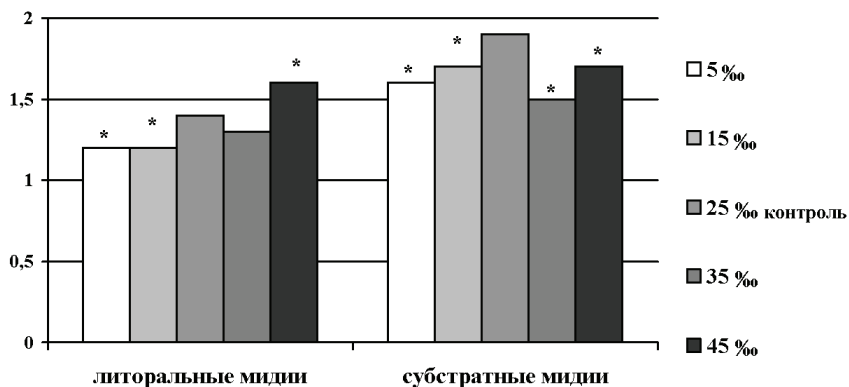


Рис. 39. Соотношение $n-3/n-6$ ПНЖК в жабрах литоральных и субстратных мидий при влиянии различной солености морской воды.

Примечание к рис. 39. * – различия достоверны при сравнении с контролем (соленость 25‰)

При действии повышенной солености морской воды (35 и 45‰) на беломорских мидий в жабрах отмечался рост концентрации ТАГ и ФС (рис.38; табл.9), а в мантии наблюдалось падение уровня ТАГ (рис.38), а также разнонаправленные изменения показателей физико-химического состояния мембран (НЖК/ПНЖК, ФХ/ФЭА, ХС/ФЛ) (рис. 29А, Б, В и 30А, Б, В). Мантия беломорских мидий (особенно обитающих на искусственных субстратах марикультуры) характеризуется повышенным содержанием ТАГ, поэтому значительные изменения, главным образом направленные на снижение концентрации, данного запасного липида наблюдались в мантийной ткани, а именно в ее сагиттальной части. Акклимация моллюсков к различной солености морской воды – это процесс, требующий достаточное количество энергии, поэтому значительное снижение концентрации ТАГ в мантийной ткани беломор-

ских мидий указывает на использование запасных липидов в качестве альтернативного источника энергии.

В ответ на действие различной солености морской воды во всех исследуемых органах беломорских мидий, за исключением ноги, повышался уровень ФИ – минорного компонента мембран. Однако содержание арахидоновой кислоты, которая, как известно, преимущественно содержится во фракции ФИ, не поддается данной закономерности. Разнонаправленные изменения ее содержания наблюдались во всех исследованных органах, в том числе и в ноге (рис.33).

Концентрация доминирующих $n-3$ ПНЖК – эйкозапентаеновой и докозагексаеновой значительно изменялась в жабрах и дистальной части мантии, в то время как в сагиттальной части мантии литоральных и субстратных мидий их содержание изменялось незначительно, в основном это было характерно для литоральных мидий (табл.7). Известно, что данные полиеновые кислоты имеют фитопланктонное происхождение, поэтому разнонаправленные изменения их количества в жабрах и дистальной части мантии связаны, главным образом, с их доступностью для мидий в условиях аквариального эксперимента, а также с их важной метаболической ролью в организме моллюсков в условиях действия различной солености. Незначительное повышение содержания некоторых $n-3$ ПНЖК наблюдаемое совместно с падением концентрации ТАГ и ростом уровня мембранных фосфолипидов в сагиттальной части мантии беломорских мидий при влиянии различной солености морской воды, может указывать на перераспределение полиеновых жирных кислот $n-3$ семейства между запасными и структурными липидными компонентами. Возможно, отмеченные перестройки в липидном и жирнокислотном спектре беломорских мидий направлены на поддержание структурной целостности мембран моллюсков в ответ на действие соленостного стресса.

Таким образом, количественные изменения спектра липидов жабр и мантийной ткани в ответ на смену солености среды отражают компенсаторную реакцию их липидного метаболизма, направленную на регуляцию клеточного объема, а также на стабилизацию функций всех систем клетки.

Модификации липидного состава, отмеченные в ноге – органе, для которого не установлены ответные реакции на уровне клеток на действие различной солености, также свидетельствуют о возможном участии этого органа в процессе акклимации моллюска к смене солености морской воды. Так, повышение солености до 45‰ способствовало снижению уровня ФС (табл.9), в то время как опреснение морской воды не вызывало схожих колебаний в липидном составе у литоральных и субстратных мидий. Интересно отметить, что при влиянии всех значений солености морской воды в ноге у литоральных мидий концентрация эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот значительно падала, тогда как у субстратных мидий, наоборот, росла (табл.7). Возможно, в ноге запускаются различные механизмы компенсаторной реакции на уровне жирнокислотного состава (в частности, n-3 ПНЖК) в ответ на смену солености морской воды, зависящие от исходного местообитания моллюсков (литораль или искусственные субстраты марикультуры).

II.1.3.6 Зависимость изменений липидного состава в ответ на действие различной солености морской воды от стадии репродуктивного цикла беломорских мидий *Mytilus edulis*

Ранее изучалось (Фокина и др., 2006) воздействие различной солености морской воды на липидный состав целых организмов беломорских мидий, находящихся на разных этапах репродуктивного цикла:

III_B – вымет гамет;

III_C – резорбция остаточных половых продуктов (подробнее об этапах репродуктивного цикла беломорских мидий см. главу «Половая система и развитие *Mytilus edulis* L.»).

У **литоральных мидий на этапе вымета гамет (III_B)** при опреснении морской воды до 15‰ и 5‰ показано значительное увеличение содержания холестерина и, как следствие, рост показателя ХС/ФЛ (табл.11), приводящее к повышению вязкости биологических мембран. У мидий **на этапе резорбции остаточных половых продуктов (III_C)** при опреснении до 5‰ были обнаружены противоположные явления. Возможно, мидии на этапе вымета

Таблица 11

Содержание липидов (% сухой массы) и жирных кислот (% суммы ЖК) в литоральных мидиях *Mytilus edulis* L. при опреснении морской воды

Липиды	Этап III _B – вымет гамет			Этап III _C – резорбция половых продуктов		
	25‰ (контроль)	15‰	5‰	25‰ (контроль)	15‰	5‰
ОЛ	8,0	9,1*	8,3	10,9	10,6	7,5
ФЛ	4,9	4,7	4,2	4,8	4,7	4,1
ХС	2,9 [~]	4,0*	3,7*	5,5 [~]	4,9	2,9*
ТАГ	0,2	0,4* [~]	0,2	0,1	0,0 [~]	0,0
ЭХС	0,0	0,0	0,15*	0,5	0,9	0,5
ХС/ФЛ	0,59 [~]	0,85*	0,88* [~]	1,15 [~]	1,10	0,70* [~]
<i>Жирные кислоты</i>						
14:0	1,5	2,0	1,9	3,0	2,7	3,6
16:0	13,0	13,3	13,8	14,1	13,6	13,9
18:0	4,1	3,6	3,6	1,9	4,3	4,7*
Σ НЖК	21,2	23,5	22,2	19,9	22,1	23,5*
16:1	2,9	4,4*	2,8	4,3	4,2	6,5*
18:1	4,0	3,6	5,4	4,1	4,5	4,2
20:1	5,6	6,3	6,4	5,2	5,7	5,6
Σ МНЖК	17,1 [~]	20,1* [~]	19,4 [~]	26,3 [~]	25,8 [~]	28,1 [~]
18:3n-3	1,0	1,0	1,1	1,4	1,0	1,4
20:5n-3	19,3 [~]	13,1* [~]	17,8 [~]	12,7 [~]	10,4* [~]	11,1* [~]
22:6n-3	15,8	17,9 [~]	18,2* [~]	13,5	13,2 [~]	11,8 [~]
Σ n-3 ПНЖК	39,7 [~]	34,0* [~]	38,3 [~]	31,9 [~]	28,2* [~]	28,3* [~]
18:2n-6	1,7	1,5	1,9 [~]	2,5	2,1	2,4 [~]
20:4n-6	7,2	7,9*	7,7	6,6	6,6	5,5*
Σ n-6 ПНЖК	13,5	12,3 [~]	12,2	16,6	17,8 [~]	15,1*
Σ НМРЖК	7,6 [~]	8,8* [~]	7,1 [~]	0,7 [~]	0,7 [~]	0,7 [~]
Σ ПНЖК	61,7	56,3	58,6	53,1	51,5	50,7*
20:4n-6/18:2n-6	4,2	5,4* [~]	4,0 [~]	2,9	3,3 [~]	2,3 [~]
n-3/n-6	2,9 [~]	2,8 [~]	3,2 [~]	1,9 [~]	1,6 [~]	1,9 [~]

Примечание к таблицам 11 и 12: В спектре жирных кислот были идентифицированы, но в таблице не отражены, следующие жирные кислоты: 15:0, 20:0, 24:0, 15:1; изомеры по положению двойной связи 16:1, 18:1, 20:1; n-3 кислоты – 16:4, 18:4, 20:2, 20:3, 20:4, 22:5; n-6 кислоты – 16:2, 16:3, 20:2, 22:2, 22:3, 22:4, 22:5, уровень которых не превышал 2,0%; различия их содержания при влиянии различной солености морской воды были не достоверны; * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰); [~] – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении мидий на двух этапах зрелости в результате воздействия одинаковой концентрации солей морской воды.

гамет (III_B), когда происходит активация всех физиологических функций организма, более уязвимы к воздействию пониженной солености. Повышение вязкости мембран при опреснении морской воды до 15‰ является, по-видимому, адаптивным ответом литоральных III_B мидий, в то время как у литоральных III_C мидий, возможно, задействованы другие механизмы молекулярных адаптаций, позволяющие мембранам функционировать при разной солености.

У **субстратных мидий**, обитающих в более стабильных условиях, чем литоральные моллюски и, по-видимому, в меньшей степени адаптированных к резким изменениям солености, были отмечены наибольшие изменения уровня липидов при воздействии воды различной солености. В отличие от III_C мидий, у которых в результате влияния различной солености происходили незначительные изменения содержания липидных компонентов, у субстратных III_B мидий как понижение (до 15 и 5‰), так и повышение (до 35 и 45‰) солености воды вызывало изменение уровня структурных (ХС и ФЛ) и запасных (в частности, ТАГ) липидов (табл.12).

У III_B мидий при повышении солености до 45‰ была отмечена корреляция между содержанием холестерина и активацией Ca^{2+} -активируемых протеиназ (кальпаинов) (Кяйвярйнен и др., 2005; Бондарева и др., 2007), что может указывать на увеличение концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле, в результате снижения уровня холестерина в мембранах и повышения проницаемости мембран. Изменение показателей ХС/ФЛ у субстратных III_B и III_C мидий при понижении солености до 5‰ и повышении до 45‰ может влиять на степень вязкости биологических мембран, обеспечивая тем самым оптимальные условия для функционирования мембранных ферментов и клеточных рецепторов. По-видимому это связано с развитием адаптивных реакций на уровне мембран, которые обеспечивают возможность выживания мидий при колебании солености в пределах толерантного диапазона (Хлебович, 1981; Бергер, 1986). Кроме того, у субстратных III_B мидий влияние различной солености отразилось на содержании запасных липидов (в частности, ТАГ), что указывает на возможное их использование в качестве альтернативного источника энергии при акклимации мидий к смене солености морской воды.

Таблица 12

**Содержание липидов (% сухой массы) и жирных кислот
(% суммы ЖК) в субстратных мидиях *Mytilus edulis* L.
при изменении солености морской воды**

	Этап III _B – вымет гамет					Этап III _C – резорбция половых продуктов				
	45‰	35‰	25‰	15‰	5‰	45‰	35‰	25‰	15‰	5‰
ОЛ	11,5* [~]	6,6	6,8	9,7*	10,0*	5,6* [~]	6,5	7,7	8,2	7,9
ФЛ	3,3 [~]	3,7 [~]	3,5	5,1*	5,3* [~]	2,5 [~]	2,8 [~]	3,5	4,2	3,7 [~]
ХС	1,8*	2,8 [~]	2,7	4,3* [~]	3,9*	2,2*	2,0* [~]	3,3	3,3 [~]	3,6
ТАГ	6,4*	0,1*	0,6	0,3*	0,8*	0,7	1,1	0,5	0,6	0,5
ЭХС	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	0,2	0,1*
ХС/ФЛ	0,50* [~]	0,75	0,77	0,81*	0,73 [~]	0,89 [~]	0,73	0,93	0,77	0,90 [~]
<i>Жирные кислоты</i>										
14:0	2,6	0,9	1,9	1,4	2,3	2,6	3,4	1,8	4,4*	4,2
16:0	19,1* [~]	11,4 [~]	13,3 [~]	15,4	13,5 [~]	15,9 [~]	16,2 [~]	15,8 [~]	14,9	15,3 [~]
18:0	2,3	3,8	3,4	4,2	2,8	4,5	2,0*	6,0	4,4	3,9
Σ НЖК	31,0* [~]	18,9 [~]	23,0	23,9	23,7	24,1 [~]	23,4 [~]	24,9	24,8	24,4
16:1	13,0*	1,8*	6,5	4,4*	8,0*	6,4	9,8	7,6	8,6	10,2
18:1	6,0	3,0*	5,7	4,0*	6,8*	4,5	2,9	3,3	3,4	3,3
20:1	4,8	5,1	6,2	5,1	5,5	3,2	2,6	2,5	2,7	2,4
Σ МНЖК	25,8*	15,6* [~]	22,6	16,7* [~]	24,0*	23,4	24,9 [~]	21,8	23,8 [~]	25,2
18:3n-3	2,2* [~]	0,9* [~]	1,4	1,2 [~]	1,4 [~]	1,0 [~]	1,5 [~]	1,4	1,8 [~]	1,9 [~]
20:5n-3	14,0* [~]	17,8*	16,3	18,9* [~]	14,3*	19,0 [~]	16,9	17,4	13,6* [~]	14,9*
22:6n-3	13,2*	24,9* [~]	18,2	20,6* [~]	13,4*	13,4	15,5 [~]	16,9	16,2 [~]	15,1
Σ n-3 ПНЖК	31,1* [~]	45,3* [~]	37,1	42,1* [~]	35,1*	38,5 [~]	39,1 [~]	40,1	36,9 [~]	36,7
18:2n-6	2,5 [~]	1,4 [~]	2,0 [~]	1,7	2,4	1,3 [~]	1,7 [~]	1,4 [~]	2,3	2,6*
20:4n-6	2,4*	7,5 [~]	6,6 [~]	6,0 [~]	6,2 [~]	2,0	2,6 [~]	2,9 [~]	2,7 [~]	2,5 [~]
Σ n-6 ПНЖК	7,1*	11,4* [~]	10,2	11,5*	9,7*	11,7	8,7* [~]	10,4	11,4	10,9
Σ НМРЖК	5,0* [~]	7,3 [~]	7,0 [~]	6,9 [~]	7,2 [~]	0,7 [~]	0,9 [~]	0,7 [~]	0,7 [~]	0,6 [~]
Σ ПНЖК	43,2	65,5	54,4	59,4	52,3	51,8	50,7	52,6	50,7	47,7
20:4n-6/18:2n-6	0,9*	5,4* [~]	3,3 [~]	3,5 [~]	2,6* [~]	1,5	1,6 [~]	2,1 [~]	1,2 [~]	0,9* [~]
n-3/n-6	4,4*	3,9	3,6	3,6	3,6	3,6	4,5	3,9	3,3	3,4

Повышенный уровень НМРЖК у литоральных и субстратных мидий (табл.11, 12) на этапе вымета гамет (III_B) по сравнению с таковым у мидий на этапе резорбции остаточных половых продуктов (III_C) обеспечивает устойчивость мембран определенных тканей, контактирующих с окружающей средой, к окислению и

воздействию факторов среды обитания. Характерной особенностью жирнокислотного ответа **литоральных** $\text{III}_\text{В}$ мидий при снижении солености до 15‰ был расход эйкозапентаеновой 20:5n-3 кислоты, сопровождающийся ростом уровня арахидоновой 20:4n-6 и неметиленразделенных ЖК (табл.11), что свидетельствует о повышении устойчивости мембран к воздействию различных факторов окружающей среды. Подобная обратная зависимость между НМРЖК и полиеновыми n-3 кислотами была ранее отмечена у морских моллюсков и другими авторами (Klingensmith, 1982; Жукова, 1992). Такие изменения в составе жирных кислот способствуют стабилизации мембраны при сохранении необходимого уровня жидкостности за счет синтеза *de novo* НМРЖК моллюсками, и поэтому они не зависят от внешних источников полиеновых кислот (Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998). При опреснении морской воды до 5‰ у **литоральных** $\text{III}_\text{В}$ мидий для регуляции жидкостности мембран, возможно, используются полиненасыщенные n-3 кислоты (в основном, докозагексаеновая 22:6n-3 кислота), уровень которых увеличился, в результате чего повысилось соотношение n-3/n-6 кислот. В этих условиях, вероятно, нет необходимости в дополнительном синтезе НМРЖК. У **литоральных** $\text{III}_\text{С}$ мидий при крайне низком значении солености отсутствие изменений в уровне НМРЖК компенсировалось снижением содержания эйкозапентаеновой 20:5n-3 и арахидоновой 20:4n-6 кислот, а также ростом стеариновой 18:0 и пальмитолеиновой 16:1n-7 кислот. Данные колебания в количестве насыщенных, моноеновых и полиеновых ЖК у литоральных мидий на этапе $\text{III}_\text{С}$ сопровождались уменьшением показателя ХС/ФЛ (табл.11). Вероятно, такие изменения липидных показателей способствуют созданию оптимального физического состояния биологических мембран, необходимых для их функционирования.

У **субстратных** мидий на этапе $\text{III}_\text{В}$ – вымета гамет изменения в содержании жирных кислот четко связаны с концентрацией соли в воде. Так, например, при воздействии критических значений солености – 5 и 45‰, наблюдалось увеличение содержания насыщенных (пальмитиновой 16:0) и моноеновых (в частности, пальми-

толеиновой 16:1n-7 и олеиновой 18:1n-9) кислот, а также снижение полиеновых – 20:5n-3, 22:6n-3 и 20:4n-6 кислот (табл.12), что способствует повышению микровязкости мембран (Крепс, 1981). У субстратных мидий на этапе III_С – резорбции остаточных половых продуктов не было отмечено подобной тенденции в изменениях липидных показателей. У субстратных III_В мидий увеличивается соотношение n-3/n-6 ПНЖК при действии 45‰ солености, которое является одним из важных показателей характеризующих вязкость и жидкость биологических мембран (Хочачка, Сомеро, 1977; Gillis, Ballantyne, 1999a, б), что может свидетельствовать об изменении их состояния в пределах компенсаторных возможностей организма. У субстратных III_С мидий снижение содержания эйкозапентаеновой кислоты при опреснении до 15‰ и 5‰ может быть вызвано с одной стороны, повышенным использованием данной кислоты для синтеза различных биологически активных веществ (простагландины, простациклины, тромбоксаны, лейкотриены и липоксины) (Шульман, Юнева, 1990; Tocher, 2005), а с другой – угнетением фильтрации у мидий, в результате чего уменьшилось потребление данной кислоты из окружающей среды. Известно, что эйкозапентаеновая 20:5n-3 кислота имеет фитопланктонное происхождение, тогда как докозагексаеновой 22:6n-3 кислоты в фитопланктоне мало (Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Хардин и др., 2002; Жукова, 2009). Показано, что у рыб 22:6n-3 кислота наряду с другими макромолекулами играет важную специфическую роль в адаптационном процессе (Шульман, Юнева, 1990), в то время как у прикрепленных, малоподвижных беспозвоночных функциональным аналогом докозагексаеновой кислоты является ее предшественник – эйкозапентаеновая кислота (Ромашина, 1983). Изменение уровня – 20:5n-3, 22:6n-3 и 20:4n-6 кислот у **литоральных и субстратных** III_В и III_С мидий в результате изменения солености воды, возможно, связано с их важной ролью для поддержания функций организма в этих условиях, так как известно, что их содержание изменяется при различных стрессовых воздействиях (Правдина, 1975; Гершанович и др., 1991).

Таким образом, при исследовании влияния различной солености, на липидный и жирнокислотный состав беломорских мидий *Mytilus edulis* L. были получены результаты, свидетельствующие о различиях, связанных как с этапом нерестового периода (III_в – вымет гамет и III_с – резорбция остаточных половых продуктов), так и с местом обитания моллюсков (литораль и искусственные субстраты марикультуры).

II.1.3.7 Зависимость колебаний липидного состава в ответ на действие различной солености морской воды от местообитания мидий *Mytilus edulis* в Белом море

Местообитание моллюсков оказывает существенное влияние на характер компенсаторной реакции на уровне липидного состава в ответ на смену солености морской воды. Изменения в количестве липидов литоральных мидий при действии различной солености морской воды значительно отличается от таковых у моллюсков, обитающих на искусственных субстратах марикультуры.

У литоральных *Mytilus edulis* в целом организме при влиянии всех исследованных значений солености наблюдалось снижение показателя ХС/ФЛ одновременно с повышением концентрации НЖК по отношению к ПНЖК. Данные вариации свидетельствуют о разжижении липидного бислоя в ответ на действие различной солености, не зависимо от характера влияния (опреснение или повышение солености морской воды, а также влияние критических или умеренных значений солености). У субстратных мидий при воздействии 5‰ солености повышается показатель ХС/ФЛ, а при действии 5, 15 и 35‰ солености – ФХ/ФЭА, в то время как концентрация НЖК не изменяется по отношению к ПНЖК. Отмеченные изменения в структурных липидах у субстратных мидий в ответ на опреснение морской воды до 15 и 5‰ и повышение солености до 35‰ указывают на стабилизацию липидного бислоя.

Необходимо отметить, что у литоральных мидий при действии высоких значений солености (35 и 45‰) повышается уровень запасных липидов (ТАГ и ЭХС), а при влиянии опреснения морской воды их уровень снижается. У субстратных мидий изменения в

концентрации запасных липидов в ответ на смену солености морской воды отмечены не были, однако данные моллюски, обитающие в относительно стабильных условиях окружающей среды, отличаются повышенным содержанием данных липидных компонентов.

У беломорских мидий в целом организме наблюдаются значительные изменения в содержании таких физиологически активных фосфолипидов, как ФИ, ФС, ЛФХ и СМ. Так, в целом организме литоральных мидий в ответ на действие всех исследуемых значений солености морской воды значительно повышается содержание ЛФХ, тогда как концентрация СФМ падает. Однако у субстратных мидий в целом организме подобные изменения в содержании ЛФХ и СФМ наблюдались исключительно при опреснении морской воды до 15 и 5 ‰. Необходимо отметить, что у литоральных мидий при действии солености равной 5, 15 и 35 ‰ содержание ФС, а при 35‰ – ФИ значительно превышало контрольные значения. В тоже время у субстратных моллюсков уровень данных липидов не изменялся в ответ на действие различной солености морской воды. Вероятно, при смене солености морской воды ответная реакция на уровне ФИ и ФС является специфичной для целых организмов литоральных мидий.

На уровне жирнокислотного состава также были заметны некоторые различия в ответной реакции литоральных и субстратных мидий на действие различной солености морской воды. У литоральных мидий значительно снизилась концентрация ПНЖК n-3 и n-6 семейств в ответ на влияние всех исследуемых значений солености. Кроме того, при влиянии солености равной 45‰ у них уменьшилось содержание n-9 ПНЖК, которые, вероятно, используются при недостатке ПНЖК обычного строения. В ответ на действие повышенных значений солености (35 и 45‰) у литоральных мидий увеличивалось содержание НМРЖК, которые, по-видимому, на фоне недостающих ПНЖК n-3 семейства участвуют в поддержании целостности и стабильности липидного бислоя. Для субстратных мидий не характерны изменения уровня ПНЖК n-3 и n-6 семейств, а также жирных кислот с необычной структурой

(НМРЖК и n-9 ПНЖК). Вероятно, литоральные мидии, которые адаптированы к часто изменяющимся условиям среды обитания, используют дополнительные компенсаторные механизмы, отличные от таковых у моллюсков, обитающих на искусственных субстратах марикультуры и не подвергающихся воздействию неблагоприятных факторов среды.

Как уже отмечалось выше, ответная реакция на уровне целого организма не может полностью охарактеризовать компенсаторные вариации на уровне липидного состава моллюсков в ответ на смену солености морской воды, поэтому необходимо рассмотреть особенности ответной реакции на уровне состава липидов в отдельных органах литоральных и субстратных мидий.

Так, в жабрах литоральных мидий в ответ на действие критических значений солености (5 и 45‰) отмечался рост концентрации ТАГ, тогда как у субстратных мидий подобные изменения наблюдались исключительно при 45‰ солености. Характерным отличием компенсаторного ответа на уровне физиологически активных липидов в жабрах было изменение концентрации СФМ: у литоральных мидий отмечалось ее повышение при действии всех исследуемых значений солености, а у субстратных мидий – снижение в ответ на опреснение морской воды. При влиянии всех значений солености доля n-3 ПНЖК заметно ниже в жабрах у субстратных мидий по сравнению с литоральными особями, у которых достоверных различий в содержании данных жирных кислот не было обнаружено. Необходимо отметить, что в жабрах как у литоральных, так и у субстратных мидий при действии крайне низкого значения солености (5‰) отмечалось повышение уровня арахидоновой кислоты.

Дистальная часть мантии (край мантии) характеризуется заметно сниженным уровнем ФИ в ответ на действие высоких концентраций солей в морской воде, тогда как у субстратных мидий при влиянии всех значений солености отмечен рост уровня ФИ. У субстратных мидий в дистальной части мантии при действии всех значений солености наблюдается снижение содержания СФМ, тогда как у литоральных мидий, наоборот, его повышение (за исключе-

нием 35‰ солености). Кроме того, в дистальной части мантии моллюсков, обитающих на искусственных субстратах, в ответ на действие всех значений солености наблюдается повышение концентрации арахидоновой кислоты, а у литоральных мидий подобные изменения отмечались только при действии 35‰ солености, в остальных случаях различия в содержании данной кислоты были недостоверны.

В ответ на действие различной солености морской воды в сагиттальной части мантии беломорских мидий обнаружены изменения в концентрациях физиологически активных липидов. Так, у литоральных мидий отмечено снижение уровня СФМ при влиянии всех значений солености, за исключением 45‰, тогда как у субстратных мидий – повышение содержания СФМ только в ответ на крайнее опреснение морской воды (5‰). Содержание ФС в сагиттальной части мантии у литоральных мидий снижалось при действии солености равной 35‰, а у субстратных моллюсков оно повышалось при 5 и 35‰ солености. Концентрация арахидоновой кислоты у литоральных мидий значительно понижалась в ответ на действие 45‰ солености, в то время как у субстратных мидий она повышалась при влиянии солености равной 5 и 45‰.

Нога литоральных мидий в ответ на действие различной солености морской воды характеризовалась отсутствием достоверных изменений в соотношениях структурных липидов – ХС/ФЛ и НЖК/ПНЖК, определяющих вязкость липидного бислоя, хотя у них наблюдалось повышение показателя ФХ/ФЭА при действии крайних значений солености (5 и 45‰). У субстратных мидий смена солености морской воды отразилась на показателях ХС/ФЛ и ФХ/ФЭА. Необходимо обратить внимание на изменения в содержании ФС и СФМ в ноге у беломорских мидий при действии 5‰ солености: у литоральных мидий их количество повышалось, тогда как у субстратных мидий, наоборот, снижалось. Кроме того, у литоральных мидий в ноге при влиянии всех исследуемых значений солености отмечалось падение концентрации n-3 ПНЖК (20:5n-3 и 20:6n-3), а у субстратных мидий – рост их концентрации.

Таким образом, отмечены значительные различия в ответной реакции целых организмов и их отдельных органов у беломорских мидий, обитающих в местах, отличающихся по исходным условиям окружающей среды, на действие различной солености морской воды. Значительные различия наблюдались в липидах, выполняющих регуляторную функцию в организме (ФИ, ЛФХ, СФМ и ПНЖК n-3 и n-6 рядов), что указывает на различные механизмы ответной компенсаторной реакции у литоральных и субстратных мидий. При этом, отмеченные изменения в липидном составе беломорских *Mytilus edulis* подтверждают неодинаковую адаптивную способность мидий, обитающих в разных условиях окружающей среды. Обитатели прибрежной зоны моря, в том числе *Mytilus edulis*, во время приливно-отливных циклов подвержены частым воздействиям таких неблагоприятных факторов среды, как периодическое осушение, сильные перепады температуры и солености, в отличие от субстратных животных, которые находятся в относительно стабильных условиях.

ГЛАВА 2

Краткосрочная аноксия – основной фактор приливоно-отливной среды обитания

II.2.1 Адаптации морских моллюсков к действию низких концентраций кислорода в окружающей среде

Способность к длительному выживанию в бескислородных условиях (т.е. в условиях аноксии) хорошо развита у многих видов беспозвоночных, а также у некоторых эктотермных позвоночных животных. Адаптации к аноксии особенно хорошо изучены у различных видов морских моллюсков, включая двустворчатых (например, мидий, устриц) и брюхоногих моллюсков (например, литорин, улиток) (Larade, Storey, 2002). Морские организмы приспосабливаются к низким концентрациям кислорода (гипоксия или аноксия) в окружающей среде на различных уровнях организации. Например, у рыб и морских беспозвоночных адаптивная реакция в ответ на анаэробные условия среды обитания происходит на молекулярном, биохимическом, физиологическом и поведенческом уровнях организации (Kluytmans et al., 1975; de Zwaan et al., 1976; Gade, 1983; Brinkhoff et al., 1983; de Zwaan, Putzer, 1985; Громосова, Шапиро, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988; Fandrey, 1995; Michaelidis et al., 1999; Wu, 2002; David et al., 2005).

Гипоксия/аноксия оказывает сильное воздействие на организм. Различные виды водных животных могут или избегать, или переживать, или адаптироваться к низким уровням кислорода в воде. Например, в случае с прикрепленными организмами, когда реакция избегания воздействия низких концентраций кислорода в окружающей среде невозможна, их ответная реакция зависит от *интенсивности и продолжительности* действия данного фактора.

Продолжительность влияния фактора гипоксии/аноксии может быть относительно короткой (т.е. действовать в течение суток или приливо-отливного цикла) или долгосрочной (т.е. в течение недель, лет) (Burnett, Strickle, 2001). В частности, во время отлива двустворчатые моллюски закрывают створки раковины и находятся в условиях краткосрочной гипоксии, в данном случае они используют внутренние резервы организма для переживания этого непродолжительного воздействия. При более длительном воздействии низких концентраций кислорода животное находится в условиях аноксии (т.е. в условиях отсутствия доступного кислорода в окружающей среде), в это время его внутренние запасы кислорода истощаются и включаются компенсаторные адаптивные реакции на уровне метаболизма (Larade, Storey, 2002). В зависимости от *интенсивности* действия низких концентраций кислорода в окружающей среде влияние данного фактора может быть умеренным (т.е. уровень кислорода в среде обитания составляет 50% от насыщенности кислородом) или жестким (т.е. уровень кислорода меньше, чем 20-30% от насыщенности кислородом). Очевидно, что жесткое воздействие гипоксии оказывает более сильное физиологическое влияние на организм животного. В частности, оно может стимулировать использование анаэробного метаболизма для поддержания энергетических потребностей организма (Burnett, Strickle, 2001).

Острое действие пониженной концентрации кислорода на организм может вызывать летальный исход. В литературе описаны случаи массовой гибели рыб в результате действия острой гипоксии. Однако у большинства водных обитателей развиты механизмы адаптации на различных уровнях организации к данному фактору среды обитания. В результате действия гипоксии/аноксии значительно снижаются энергетические запасы в организме, вследствие чего ограничиваются возможности для роста, развития и активности животных. В свою очередь, такие модификации в физиологическом состоянии организмов могут привести к изменениям в их поведении и устойчивости к воздействию других факторов окружающей среды, оказывая определенное влияние на популяцион-

ный и экосистемный уровень организации. Известно, что изменения в физиологических параметрах и поведении отдельного организма вызывают альтерации в структуре, плотности и пределах распространения популяции вида (Burnett, Strickle, 2001).

Некоторые виды прибрежных животных способны воспринимать и избегать неблагоприятного воздействия низких концентраций кислорода в окружающей среде. Для рыб, ракообразных и кольчатых червей характерна миграция в ответ на низкий уровень кислорода в морской воде (Pavela et al., 1983; Pihl et al., 1991; Nestlerode, Diaz, 1998; Burnett, Strickle, 2001). Показано, что гипоксия в значительной степени влияет на поведение брюхоногих моллюсков *Stramonita haemastoma* и крабов *Callinectes sapidus*, *Callinectes similes*. Хотя, известно, что у них развиты физиологические и биохимические механизмы адаптивного ответа на действие низких концентраций кислорода (в частности, снижение скорости метаболизма, питания и роста), которые дают им возможность переживать такие неблагоприятные условия среды обитания (Burnett, Strickle, 2001).

Многие организмы, обитающие в прибрежной (литоральной) зоне моря, хорошо адаптированы к воздействиям неблагоприятных факторов окружающей среды, и, благодаря набору адаптаций, способны выживать в условиях недостатка кислорода. В частности, (1) у них развиты дополнительные механизмы потребления кислорода из окружающей среды; (2) они способны поддерживать внутреннее энергетические ресурсы организма, переключаясь на анаэробные метаболические пути; а также (3) они снижают скорость своего общего метаболизма в ответ на действие низких концентраций кислорода в морской воде (Burnett, Strickle, 2001). Причем третий способ считается основным и количественно более значимым для многих видов морских моллюсков (Larade, Storey, 2002).

Известно, что большинство животных способны сохранять необходимый уровень потребления кислорода, когда его концентрация в окружающей среде снижена. Для описания данного явления используется термин «кислородная регуляция». Способность организмов сохранять и/или регулировать уровень потребления кисло-

рода в условиях гипоксии/аноксии важна для поддержания нормального уровня активности животных (Burnett, Strickle, 2001).

Хорошо изученным примером морских организмов, устойчивых к действию низких концентраций кислорода, является краб *Callinectes sapidus*. Как известно, крабы - активные животные, которые устойчивы к воздействию широкого спектра температур, солености и кислородных условий, что позволяет им заселять разнообразные местообитания. Крабы реагируют на острую краткосрочную гипоксию увеличением тока воды сквозь жабры (т.е. гипервентиляцией дыхательных поверхностей). Во время хронического воздействия низких концентраций кислорода гипервентиляция продолжается в течение пяти дней, а затем возвращается к исходному уровню. В большинстве случаев гипервентиляция способствует появлению алкалоза у крабов, т.е. повышению рН гемолимфы, что в свою очередь способствует адаптивному повышению сродства к кислороду гемоцианинов. Сердцебиение у крабов повышается более чем на 30% в течение пятидневного воздействия низких концентраций кислорода в воде, а затем возвращается на исходный уровень. Хроническая гипоксия стимулирует значительное изменение концентрации и структуры гемоцианинов у *Callinectes sapidus*. Так, концентрация гемоцианинов увеличивается примерно на 40%, повышая способность гемолимфы сохранять необходимый уровень кислорода. Во время воздействия гипоксии в результате процессов синтеза или распада гемоцианинов образуются молекулы, которые отличаются от таковых у крабов, обитающих в нормальных условиях. Существенные изменения в структуре гемоцианинов у *Callinectes sapidus* могут изменять сродство к кислороду в ответ на хронические изменения окружающей среды (Burnett, Strickle, 2001).

Для многих прикрепленных литоральных организмов реакция избегания неблагоприятного воздействия гипоксии невозможна. Поэтому, помимо физиологических механизмов потребления максимально доступного кислорода из воды и его транспорта в ткани, для них характерны следующие адаптивные метаболические стратегии выживания в условиях недостатка кислорода в морской во-

де: (1) они обладают большими запасами потенциальных источников энергии в тканях (главным образом, гликогена и некоторых аминокислот); (2) соединение реакций гликолиза с дополнительными реакциями на уровне субстратного фосфорилирования с повышенным выходом АТФ; (3) образование альтернативных конечных продуктов молочной кислоты, которые являются или летучими или менее кислотными компонентами для того, чтобы клеточный гомеостаз минимально изменялся во время воздействия долгосрочной аноксии; (4) значительное понижение скорости метаболизма, что способствует снижению потребностей организма в молекулах АТФ (Kapper, Stickle, 1987; Burnett, Strickle, 2001; Larade, Storey, 2002). Например, показано, что двустворчатый моллюск *Crassostrea virginica* в условиях пониженного содержания кислорода в морской воде использует механизм переключения метаболизма с аэробного на анаэробный путь для поддержания энергетической продукции. Однако брюхоногий моллюск *Stramonita haemastoma* помимо способности переключения метаболизм с аэробного пути на анаэробный, снижает скорость своего метаболизма в целом (Kapper, Stickle, 1987; Burnett, Strickle, 2001).

Уровень обмена веществ и, в частности, энергетического метаболизма, определяет адаптивные возможности организма. Ключевым звеном, определяющим уровень биоэнергетики особи, служит количество поступающего в организм кислорода (Озернюк, 2003). В литературе по биоэнергетике животных особое внимание уделяется использованию липидных и углеводных субстратов в качестве источников энергии (Громосова, Шапиро, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988). Известно, что в аэробных условиях морские моллюски используют в качестве источников энергии липиды, углеводы и аминокислоты. В условиях аноксии углеводы становятся основным энергетическим субстратом, поскольку в ходе реакций гликолиза, а именно окисления фосфатов гексоз (образованных из глюкозы и гликогена) до фосфатов триоз, а также субстратного фосфорилирования образуется АТФ (Larade, Storey, 2002). У моллюсков наблюдается использование в качестве энергетических субстратов не только гликогена, но и белков, тогда как липиды еще не стали

главным источником энергии (Громосова, Шапиро, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988; Шульман и др., 1993).

У морских моллюсков показан двухфазный адаптивный ответ на воздействие низких концентраций кислорода в окружающей среде. Во время отлива они подвергаются *первичному воздействию гипоксии*, при этом у них значительно истощаются запасы кислорода в тканях, постепенно усиливается распад углеводов. Такие изменения в метаболизме моллюсков приводят к компенсаторному увеличению выхода ферментативного АТФ, необходимого для поддержания нормальной скорости общего метаболизма. При *длительном воздействии низких концентраций кислорода*, т.е. при отсутствии кислорода в морской воде (например, в экспериментальных условиях) у моллюсков скорость метаболизма падает, а выход АТФ составляет 10% от аэробного метаболизма. Снижение скорости метаболизма продолжается до тех пор, пока внутренние запасы организма способствуют выживанию моллюсков в таких неблагоприятных условиях. Известно, что большинство морских моллюсков, обитающих на литорали, могут выживать в условиях аноксии дни и даже недели (Larade, Storey, 2002; Алякринская, 2004). Значительное снижение метаболизма в свою очередь способствует подавлению скорости реакций синтеза и использования АТФ в метаболических процессах. Следовательно, многие физиологические процессы длительное время могут обеспечиваться за счет продукции АТФ ферментативным способом (Storey, 2004). У морских моллюсков описано несколько механизмов, которые способствуют регуляции скорости метаболизма, а именно скорости гликолитических реакций. Например, у них показано аллостерическое регулирование, в ходе которого метаболиты определенное оказывают воздействие на специфические локусы ферментов во время действия аноксии. Одним из примеров такой регуляции в условиях аноксии служит ингибирование активности 6-фосфофрукто-1-киназы и пируваткиназы низким уровнем фруктоза-2,5-дифосфат и повышенной концентрацией L-аланина, соответственно. Регуляция с помощью изменений в значениях pH окружающей среды также способствует альтерациям в скорости гликолитических реакций.

Так, низкие значения рН благоприятствуют направлению потоков фосфоенолпирувата (ФЕП) в сторону синтеза сукцината (Larade, Storey, 2002) (подробнее см. ниже). Одним из важных механизмов снижения скорости общего метаболизма служит обратимое фосфорилирование белков. Такие изменения в структуре белков вызывают значительные модификации в активности многих ферментов и функциональных белков, участвующих во всех процессах жизнедеятельности организма. Например, у *Littorea littorea*, как и у большинства моллюсков, устойчивых к аноксии, обратимое фосфорилирование некоторых ферментов гликолиза способствует перенаправлению потока углерода в анаэробный путь ферментативного метаболизма, а также подавлению скорости гликолитического пути. Известно, что в аноксийных условиях фосфорилирование фосфофруктокиназы и пируваткиназы способствует их превращению в менее активные формы (Storey, 2004). Следовательно, ковалентная модификация ферментов, индуцированная аноксией, значительно понижает их активность, изменяет кинетические свойства и подавляет общую скорость метаболизма. Кроме того, фосфорилирование, вызванное действием аноксии, может не только изменять кинетические свойства ферментов гликолиза, но и различных протеинкиназ и превращать эти ферменты в менее активные формы. Основными киназами являются цАМФ-зависимая протеинкиназа, цГМФ-зависимая протенкиназа, Ca^{2+} и фосфолипид-зависимая протенкиназа, активность которых также обеспечивается соответствующими вторичными мессенджерами – цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} и фосфолипидами (Larade, Storey, 2002). Показано, что в условиях аноксии снижается количество цАМФ-зависимой протеинкиназы. Следовательно, метаболические функции, которые усиливает данная протеинкиназа, будут подавляться во время анаэробноза. Считается, что основное подавление каскада сигнальной трансдукции является одним из механизмов снижения скорости метаболизма (Storey, 2004). Известно, что цГМФ и его протеинкиназа играют основную роль в сигнальной трансдукции при адаптивном ответе морских двустворчатых моллюсков на действие низких концентраций кислорода в морской воде. В переднем мускуле замыкателе

Mytilus edulis увеличение концентрации цГМФ происходит в ответ на действие ацетилхолина, который является нейротрансмиттером, стимулирующим сокращение этих мышц для того, чтобы закрыть створки раковины. Для двустворчатых моллюсков закрывание створок раковины служит событием, которое способствует низкому уровню кислорода в организме, а также индукции анаэробных адаптаций (Larade, Storey, 2002). цГМФ-зависимая протенкиназа способствует фосфорилированию некоторых ферментов, включенных в обмен углеводов (в частности, пируваткиназы) у большинства видов морских моллюсков (Brooks, Storey, 1997), и экспрессию генов, ответственных за устойчивость моллюсков к аноксии (Larade et al., 2001; Larade, Storey, 2002).

Показано, что во время анаэробии у морских моллюсков снижается уровень внутри- и внеклеточного pH (Ellington, 1983; Walsh et al., 1984). Предполагается, что изменения значений pH при влиянии аноксических условий также инициируют понижение скорости метаболизма. Однако этому утверждению о сигнальной роли значений pH в снижении скорости общего метаболизма противоречат следующие факты. Во-первых, уровень pH во время воздействия аноксии снижается равномерно в течение длительного времени, тогда как переход в гипометаболическое состояние происходит за короткий промежуток времени после начала действия аноксии (Storey, Storey, 1990). Во-вторых, морские моллюски используют механизм «наименьшего синтеза» кислот во время воздействия аноксии (т.е. они в основном накапливают нейтральные и летучие конечные продукты, используя бикарбонаты раковины для создания буфера) (de Zwaan, 1977; Storey, Storey, 1990). В тоже время показано, что низкие значения pH во время воздействия аноксии способствуют созданию определенного метаболического состояния, которое благоприятствует снижению скорости метаболизма (Busa, Nuccitelli, 1984). Например, низкий уровень pH в окружающей среде способствует распаду ФЕП посредством реакции с участием ФЕП-карбоксилазы (а не с помощью пируваткиназы), и, следовательно, способствует направлению гликолитического углерода в сторону реакции синтеза сукцината (Hochachka, Somero,

1984). Более того, низкие значения рН могут влиять на протекание других процессов, таких как связывание ферментов с субклеточными структурными элементами, скорости ферментативных реакций, активности протеинкиназы относительно протеинфосфатазы, а также в изменении стабильности белков (Storey, 1988; Hand, Hardewig, 1996; Schmidt, Kamp, 1996; Sokolova et al., 2000).

Несмотря на то, что снижение скорости метаболизма является количественно выгодным механизмом, способствующим выживанию морских моллюсков в условиях аноксии, использование модифицированных путей метаболизма также играет важную роль в процессах адаптаций морских моллюсков к низким концентрациям кислорода в морской воде. В ходе данных реакций в значительной степени увеличивается выход АТФ и образуются неокислотные и/или летучие конечные продукты, способствующие, в свою очередь, сохранению гомеостаза клетки в условиях аноксии. У морских моллюсков первичным ответом на недостаток кислорода в окружающей среде является обычный метаболический путь с использованием гликогена и аспартата до образования конечных продуктов – аланина и сукцината, соответственно. Так, в ходе реакций гликолиза гликоген (а именно, глюкоза) распадается до пирувата, а затем вместо того, чтобы восстанавливаться до лактата, пируват подвергается реакции трансаминирования (используя аминоксигруппы аспартата) с образованием аланина (рис.40). Продукт дезаминирования аспартата – оксалоацетат, восстанавливается до малата (используя НАДН, который в других обстоятельствах расходуется в реакции с лактатдегидрогеназой). Малат превращается в фумарат, а затем в сукцинат с образованием АТФ, а последующее превращение сукцината в пропионат у некоторых видов морских моллюсков связано с дополнительным синтезом АТФ. Известно, что вследствие истощения пула аспартата происходит метаболический сдвиг, который направляет ФЕП, образованный в ходе реакций гликолиза, на синтез оксалоацетата (рис.41). Данный эффект достигается ингибированием фермента пируваткиназы таким образом, что ФЕП карбоксилируется с образованием оксалоацетата, который затем используется в реакциях синтеза сукцината (Хочачка, Сомеро, 1988; Larade, Storey, 2002).

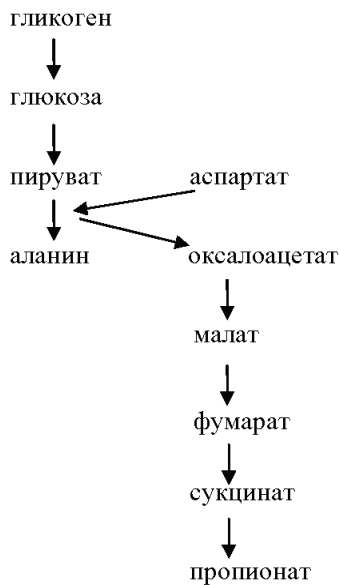


Рис. 40. Схематическое изображение метаболического пути использования гликогена и аспартата у морских моллюсков в условиях недостатка кислорода

Необходимо отметить, что восстановление малата до сукцината происходит с помощью сукцинатдегидрогеназного комплекса электрон-транспортной цепи (комплекс II). Во время прилива, у моллюсков аэробный энергетический метаболизм осуществляется посредством цикла Кребса, с переносом электронов от сукцината на убихинон (KoQ) через комплекс II в электрон-транспортной цепи. Во время отлива, у моллюсков включается анаэробный путь, когда перенос электронов осуществляется через родохинон на фумарат с образованием сукцината (Tielens, Van Hellemond, 1998). Родохинон является аналогом KoQ с более отрицательным потенциалом (Скулачев, 1989). В тех случаях, когда недостаточно кислорода в окружающей среде, фумарат действует как акцептор электронов, образуя при этом сукцинат. Повышенный уровень сукцината во время анаэробноза позволяет митохондриям сохранять свою метаболическую активность до тех пор, пока кислород снова станет доступным (Bacchicchi, Principato, 2000).

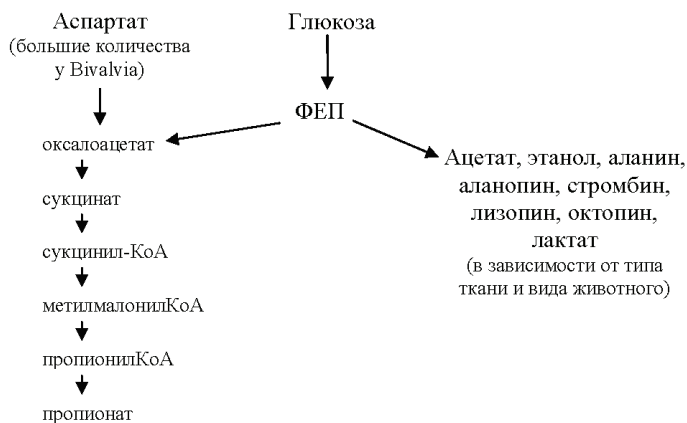


Рис. 41. Альтернативные пути сбраживания глюкозы у факультативных анаэробов двустворчатых моллюсков (Хочачка, Сомеро, 1988)

Большинство процессов, затрачивающих энергию, в том числе процессы синтеза белков, подавляются у организмов при долгосрочном воздействии низких концентраций кислорода в окружающей среде. Однако известно, что некоторые специфические РНК транскрипты, наоборот, активируются под действием аноксии. Вероятно, они обеспечивают синтез белков, способствующих выживанию моллюсков в неблагоприятных анаэробных условиях (Larade, Storey, 2002). Активность примерно 10,6% перекрестно действующих генов (около 300 генов) предположительно усиливается в два или более раз при влиянии аноксии. Они включают гены протеинкиназ и фосфатаз, факторов трансляции, антиоксидантных ферментов и ядерных рецепторов. В частности, гипоксия индуцируемый транскрипционный фактор (HIF-1) служит посредником при усилении синтеза гликолитических ферментов, необходимых для повышения выхода ферментативного АТФ. У *Littorea littorea* впервые обнаружены и исследованы гены *kvp* и *sarp-19*. Так, у продукта *kvp* гена N-концевая гидрофобная сигнальная последовательность направляет белки к эндоплазматическому ретикулуму, где они обрабатываются и секретируются к конечному месту на-

значения. Данный факт позволяет предположить, что белок KVN выполняет внеклеточную функцию. Он обладает рядом определенных последовательностей, таких как цистеиновые кластеры. Предполагается, что KVN является железо-серным белком, который связывает железо и, поэтому, может относиться к семейству ферредоксинов. Его функция подобна другим ферредоксин-подобным белкам. По-видимому, он является посредником в электрон-переносных реакциях во время действия аноксии или при возвращении организмов в исходные условия. Продукт гена *sarp-19* – белок, синтезируемый в результате действия аноксии на моллюсков. Общая функция EF- домена данного белка – это связывание кальция, что, в свою очередь, стимулирует конформационные изменения, приводящие к активации (или инактивации) белков – мишеней. Функция белка SARP-19 при анаэробии может включать кальций-активируемый сигналинг или выделение кальция. Как уже отмечалось выше, переключение метаболизма у моллюсков с аэробного пути на анаэробный сопровождается растворением раковины с образованием бикарбоната кальция, который выполняет буферные функции. Характерной реакцией у двустворчатых моллюсков на воздействие воздуха служит закрытие створок раковины, а у брюхоногих моллюсков – крышки отверстия в раковине. Таким образом, моллюски ограничивают себя от действия окружающей среды, что, в свою очередь, требует создание водного и осмотического баланса внутри организма. Закрывание раковины моллюсков вызывает существенное повышение уровня кальция во время анаэробии. Следовательно, повышенное количество кальция связывающего белка (SARP-19) в организме моллюсков под действием аноксии способствует снижению уровня свободного кальция. В основном это происходит в условиях гипометаболического состояния организма, когда сокращаются расходы АТФ на перенос кальция через плазматическую мембрану (Storey, 2004).

Предполагается, что у многих организмов кислородным сенсором служит фермент пролилгидроксилаза, который модифицирует остаток пролина в кислород-зависимом домене HIF-1, основного

транскрипционного фактора, включенного в регуляцию транскрипции генов с помощью кислорода (Ivan et al., 2001; Jaakkola et al., 2001). Данный кислородный сенсор встречается у большинства животных. Однако вторичные мишени этого сенсора (HIF-1 или другие) значительно отличаются у животных, *чувствительных к гипоксии и устойчивых к аноксии*. Известно, что HIF-1 у *чувствительных к гипоксии* млекопитающих запускает различные компенсаторные реакции, в ходе которых увеличивается поступление кислорода в ткани, и усиливаются гликолитические реакции. У животных, *устойчивых к действию аноксии*, наоборот инициируется серия механизмов, способствующих подавлению скорости метаболизма, и обратимо останавливаются различные энергозависимые процессы. Следовательно, у животных, устойчивых к аноксии, в том числе у морских моллюсков, в опосредование экспрессии генов в ответ на недостаток кислорода включаются транскрипционные факторы, отличные от HIF-1 (Larade, Storey, 2002).

Таким образом, ответными реакциями водных организмов на действие низких концентраций кислорода в морской воде (гипоксия/аноксия) служат поведенческие, физиологические и метаболические изменения. При влиянии гипоксии/аноксии некоторые организмы сохраняют уровень своего аэробного метаболизма на первичном уровне, интенсивно используя физиологические адаптивные механизмы (снижение скорости питания, роста и развития, модификация структуры и функций дыхательных пигментов, гипервентиляция и др.). Многие организмы, в том числе морские моллюски, отвечают на воздействие гипоксию/аноксию переключением метаболизма с аэробного на анаэробный путь и/или снижением скорости общего метаболизма. Причем установлено, что снижение скорости метаболизма под действием низких концентраций кислорода в окружающей среде – это стратегия выживания, используемая исключительно кольчатыми червями и моллюсками, но не ракообразными. Более того, гипоксия может ингибировать иммунный ответ, вызывая повышенную смертность животных, по сравнению с особями, которые подвергаются действию патогенных веществ (Burnett, Strickle, 2001).

**П.2.2. Двустворчатые моллюски – факультативные анаэробы.
Их липидный состав при влиянии гипоксии/аноксии**

Во время периодических обсыханий, возникающих в результате приливо-отливных циклов, литоральные двустворчатые моллюски (в том числе мидии *Mytilus edulis*) подвергаются воздействию краткосрочной аноксии и переключают свой метаболизм на анаэробный путь. Вследствие этого, обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L. считается типичным факультативным анаэробным организмом (Громосова, Шапиро, 1984). Известно, что интенсивность обмена у мидий при аноксии снижается более чем в 18 раз (Громосова, Шапиро, 1984). Снижение скорости метаболизма может считаться одной из важнейших адаптаций факультативных анаэробов к недостатку кислорода (Хочачка, Сомеро, 1988; David et al., 2005). Снижая скорость метаболизма, гипоксия/аноксия в значительной степени влияет на ростовые и многие другие физиологические характеристики моллюсков (Suchotin, Portner, 2001). Способность *Mytilus edulis* L. выдерживать длительное (до 16 суток) отсутствие кислорода обеспечивается деятельностью ряда адаптивных механизмов.

Характерной поведенческой реакцией двустворчатых моллюсков на воздействие атмосферного воздуха является плотное смыкание створок раковины, что препятствует обезвоживанию организма (Алякринская, 2004).

Физиологическим механизмом приспособления к гипоксии у мидий является запасание кислорода в мантийной жидкости (Newell, 1989). В аноксических условиях запасы кислорода быстро истощаются (Gabbott, 1983; Newell, 1989), и когда парциальное давление кислорода падает ниже 20-50 мм.рт.ст. моллюски переходят на анаэробный обмен и расход энергии у них заметно снижается (Ortmann, Grieshaber, 2003). Для того чтобы избежать закисления внутренней среды продуктами анаэробного метаболизма, увеличивается концентрация кальция в лимфе за счет растворения раковины, который регулирует уровень pH крови и дает возможность избежать ацидоза тканей (Алякринская, 2004).

К биохимическим механизмам адаптаций моллюсков можно отнести большое содержание каротиноидов, являющихся аккумуляторами кислорода в клетке (Карнаухов, 1973; Карнаухов, 1978), а также особенности организации гликолитической системы и дикарбоновой части цикла Кребса, позволяющие функционировать в условиях отсутствия кислорода длительное время и достаточно эффективно (Громосова, Шапиро, 1984). Основным энергетическим субстратом у моллюсков является гликоген, который накапливается главным образом в гепатопанкреасе (пищеварительной железе) и мантии, а также частично запасается в жабрах и мышцах (Хочачка, Сомеро, 1988). Во время анаэробноза моллюски включают дополнительный путь (рис.40) получения энергии (аспартат $\rightarrow$ сукцинат), а также направляют метаболизм гликогена на уровне ФЕП в сторону образования альтернативных конечных продуктов брожения (рис.41) сукцината, пропионата, лактата, аланина, ацетата и летучих жирных кислот, для того чтобы увеличить выход АТФ (Kluytmans et al., 1975; de Zwaan et al., 1976; Gade, 1983; Brinkhoff et al., 1983; de Zwaan, Putzer, 1985; Хочачка, Сомеро, 1988; David et al., 2005).

Необходимо отметить, что накопление лактата и сукцината приводит к снижению внутри- и внеклеточного рН. Одним из механизмов избежания изменений в кислотном статусе ткани в организме моллюсков является ингибирование пируваткиназы (Demers, Guderley, 1994; Michaelidis et al., 1999). Во время анаэробноза лактат превращается в пируват, и, несмотря на высокую активность лактатдегидрогеназы во всех тканях моллюска, лактат анаэробно декарбоксилируется в ацетил-КоА, который затем используется для синтеза липидов. В тканях моллюсков отмечено повышение уровня жирных кислот. Ключевой гликолитический фермент пируваткиназа играет важную роль при направлении пирувата в сторону биосинтеза жирных кислот. Путем фосфорилирования, этот фермент превращается в менее активную форму в течение первых 12-ти часов аноксии. Изменения в кинетических свойствах пируваткиназы приводят к последовательному снижению скорости накопления анаэробных конечных продуктов (лактата и сукцината), тем самым, оказывая положительное влияние на кислотный статус ткани (Michaelidis et al., 1999).

Известно, что мидии при дефиците кислорода наряду с углеводами используют белки, а липиды у моллюсков не являются источниками энергии (Шульман и др., 1993; Щербань, Вялова, 2001). Однако, у *Mytilus edulis* L. было показано, что липиды могут утилизироваться в анаэробных условиях через β -окисление с образованием ацетил-КоА (Громосова, Шапиро, 1984). Поскольку у *Bivalvia* липиды не являются источниками энергии, большинство исследований по влиянию гипоксии или аноксии на моллюсков посвящено изучению особенностей углеводного и белкового обмена. Однако при анаэробии у моллюсков обнаружены изменения в некоторых показателях метаболизма липидов: снижение мембранной проницаемости (Hochachka et al., 1996), изменение экспрессии генов, участвующих в обмене липидов (David et al., 2005), а также изменение количества ТАГ (Hole et al., 1995) и жирных кислот (Horst et al., 1970; Horst et al., 1974). Известно, что стерины, наряду с коферментом Q и ненасыщенными жирными кислотами, синтезируются только при хорошей аэрации. В анаэробных условиях не происходит значительного синтеза стерина и ненасыщенных жирных кислот. При анаэробии содержание стерина в клетках минимально, т.е. то количество, которое необходимо для поддержания жизнедеятельности организма. Кроме того, показано, что в анаэробных условиях мембраны клетки обладают слабой ферментативной активностью, а отличительной особенностью липидного состава таких мембран является небольшое количество стерина и необычный состав жирных кислот, характеризующийся низким содержанием полиненасыщенных кислот, в тоже время состав фосфолипидов не меняется (Кандюк, 2006).

Ответ морских беспозвоночных на молекулярном уровне на действие гипоксии/аноксии по большей части неизвестен (David et al., 2005). У насекомых, рыб и млекопитающих идентифицирован гипоксия - индуцируемый фактор 1 (HIF-1), альфа субъединица которого транслируется под действием низких концентраций кислорода (Storey, 2004; David et al., 2005). HIF-1 получает сигналы от сенсора (молекулярного кислорода) через окислительно-восстановительные реакции и/или фосфорилирование, и далее регулирует

транскрипцию гипоксия – индуцируемых генов, а также генов, вовлеченных в гликолиз и многие другие процессы (David et al., 2005). Таким образом, молекулярный ответ активирует каскад биохимических и физиологических приспособлений, позволяющих животному переживать условия гипоксии или аноксии (Fandrey, 1995; Wu, 2002; Nikinmaa, Rees, 2005). У беспозвоночных животных (дрозофила *Drosophila melanogaster*, морской моллюск *Littorina littorea* и краба *Callinectes sapidus*) также обнаружены специфические РНК транскрипты, которые регулируются гипоксией (David et al., 2005). Показано, что гены, кодирующие ферменты, которым для активации нужен кислород, могут регулироваться гипоксией. В частности, активность $\Delta 9$ -десатуразы (рис.12), которая катализирует реакцию образования МНЖК (главным образом, олеиновой 18:1n-9 кислоты), зависит от уровня кислорода в окружающей среде. Известно, что степень ненасыщенности ЖК, образованных в результате действия $\Delta 9$ -десатуразы, влияет на физические свойства мембранных фосфолипидов. Более того, в организме животных метаболиты ПНЖК действуют как сигнальные молекулы. Изменение экспрессии мРНК $\Delta 9$ -десатуразы, по-видимому, является ответом на недостаток кислорода как субстрата (David et al., 2005). Кроме того, в аноксийных условиях моллюски способны синтезировать насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты (Horst et al., 1970; Horst et al., 1974), а накопление ненасыщенных ТАГ в мидиях после 24-х часовой гипоксии связано с явлением аутофагии в пищеварительных клетках (Hole et al., 1995).

Таким образом, можно заключить, что воздействие гипоксии/аноксии у водных беспозвоночных происходит гораздо чаще, чем у рыб. Факультативные анаэробы встречаются повсеместно. К ним относятся литоральные организмы. Известно, что прибрежные мидии, являясь типичными представителями факультативных анаэробов, выработали комплекс адаптаций, позволяющий им выдерживать длительное отсутствие кислорода (до 16 суток аноксии) (Kluytmans et al., 1975; de Zwaan et al., 1976; Gade, 1983; Brinkhoff et al., 1983; de Zwaan, Putzer, 1985; Громосова, Шапиро, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988; Newell, Moran, 1989; Шульман и др., 1993;

Fandrey, 1995; Michaelidis et al., 1999; Suchotin, Portner, 2001; Щербань, Вялова, 2001; Wu, 2002; Алякринская, 2004; David et al., 2005). Однако роль липидного состава в адаптивных реакциях моллюсков в ответ на краткосрочную аноксию изучена слабо, а данные, имеющиеся в литературе, фрагментарны и противоречивы (Horst et al., 1970; Horst et al., 1974; Hole et al., 1995; Hochachka et al., 1996; Васильева, Мещерякова, 2003; David et al., 2005).

II.2.3. Модификации липидного состава у беломорских мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на краткосрочную аноксию

Для изучения ответной реакции на уровне липидного состава беломорских мидий на действие краткосрочной аноксии на базе ББС «Картеш» ЗИН РАН были поставлены аквариальные эксперименты. Литоральные и субстратные мидии (собранные на литоральной мидиевой банке Иванов Наволок, и с искусственных субстратов экспериментальной марикультуры в бухте Круглая (губа Чупа, Кандалакшского залива), соответственно) в ходе аквариального эксперимента подвергались краткосрочному воздействию аноксии (т.е. находились без воды в течение 12 и 24 часов), а контрольные организмы находились в аэрируемой воде.

При исследовании влияния краткосрочной аноксии на беломорских мидий *Mytilus edulis* были обнаружены компенсаторные изменения в составе липидов. Как у литоральных, так и у субстратных мидий экспериментальная 12-ти и 24-х часовая аноксия способствовала повышению коэффициентов ХС/ФЛ и ФХ/ФЭА (рис.42 А, Б). Данные изменения в содержании структурных липидов приводят к уплотнению мембран (Еляков, Стоник, 1988; Gillis, Ballantyne, 1999a, б; Loque et al., 2000; Коломийцева и др., 2003), и, следовательно, к снижению мембранной проницаемости и изменению активности многих ферментов. Следует отметить, что в некоторых работах, посвященных исследованию влияния аноксии на морских животных, наблюдалось снижение проницаемости мембран (Hochachka et al., 1996). У литоральных и субстратных мидий высокий уровень ХС и ФХ, которые стабилизируют липидный бислой, компенсировался повышенным содержанием ПНЖК, ко-

торые, как известно, оказывают разжижающее действие на мембраны (Крепс, 1981; Bell et al., 1986; Хочачка, Сомеро, 1988; Gillis, Ballantyne, 1999a, б). В результате действия краткосрочной аноксии среди ПНЖК увеличивалась относительная доля n-6 кислот (табл.13), которые благодаря особенностям своей структуры (Крепс, 1981; Bell et al., 1986) обеспечивают определенную прочность мембранам при неблагоприятном воздействии аноксии на мидий. Помимо ПНЖК обычного строения, важную роль в обеспечении целостности и стабильности липидного бислоя играют НМРЖК, которые, как известно, более устойчивы к окислению, что позволяет им в составе фосфолипидов значительно влиять на структуру липидного матрикса (Paradis, Ackman, 1977; Klingensmith, 1982; Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998).

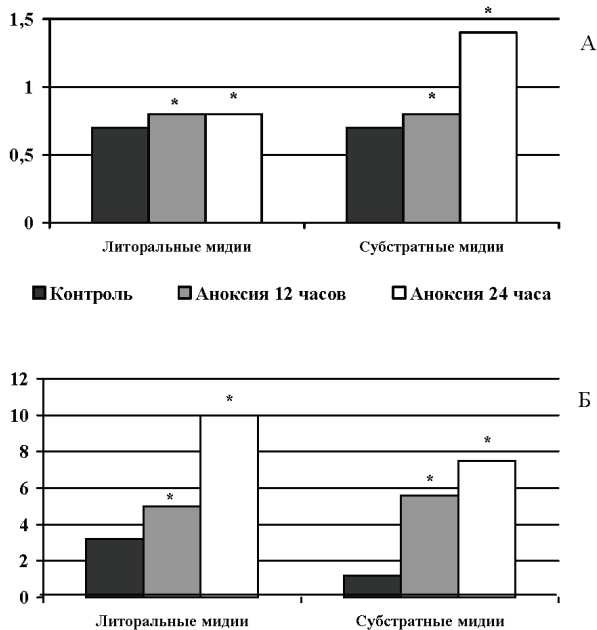


Рис. 42. Изменения показателей ХС/ФЛ (А) и ФХ/ФЭА (Б) у литоральных и субстратных мидий при влиянии краткосрочной аноксии.

Примечание к рис. 42. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем

Как уже отмечалось выше, биосинтетическими предшественниками НМРЖК являются 16:1n-7, 18:1n-7 и 20:1n-7 кислоты (De Mogeno, 19766; Zhukova, 1986; Жукова, 1992; Хардин и др., 2002; Жукова, 2009), поэтому изменение их содержания, главным образом у литоральных мидий, свидетельствуют о возможном дополнительном синтезе НМРЖК. Необходимость в кислотах с необычной структурой появилась у литоральных моллюсков в связи с падением уровня n-3 ПНЖК (табл.13). Подобная обратная зависимость между НМРЖК и n-3 кислотами была ранее отмечена у морских моллюсков и другими авторами (Klingensmith, 1982; Жукова, 1992). Такие изменения в составе жирных кислот способствуют стабилизации мембраны при сохранении необходимого уровня жидкостности за счет синтеза *de novo* НМРЖК моллюсками, и в таком случае они не зависят от внешних источников полиеновых кислот (Захарцев и др., 1998). У субстратных мидий изменения в количестве МНЖК и НМРЖК были менее выражены, более того, у них наблюдалось повышенное содержание полиенов линоленового семейства (n-3 ПНЖК), которые, по-видимому, обеспечивают нормальное функционирование мембран при воздействии аноксии на моллюсков.

Ранее было показано, что двустворчатые моллюски в условиях аноксии наряду с углеводами в качестве энергетического ресурса обычно используют белки, а липиды у них не являются источниками энергии (Шульман и др., 1993; Щербань, Вялова, 2001). Однако некоторые авторы предполагают включение липидов в энергетический обмен мидий *Mytilus edulis* L. при краткосрочной гипоксии (Васильева, Мещерякова, 2003). Отмеченное нами снижение уровня ТАГ и ЭХС в основном у субстратных мидий при влиянии 12-ти и 24-х часовой аноксии свидетельствует о возможном использовании запасных липидов для получения метаболической энергии или для синтеза обычных для мидий энергетических субстратов углеводной или белковой природы (рис.43).

Таблица 13

Жирнокислотный состав литоральных и субстратных мидий при влиянии краткосрочной аноксии (12 и 24 часа) (% суммы ЖК)

	Литоральные мидии			Субстратные мидии		
	Контроль	Аноксия 12 часов	Аноксия 24 часа	Контроль	Аноксия 12 часов	Аноксия 24 часа
14:0	4,7	3,1*	2,4*	5,3	2,6*	3,6*
15:0	0,7	0,7	0,6*	0,6	0,5*	0,5*
16:0	14,6	12,7*	13,2*	16,9	13,9*	14,7*
18:0	3,0	4,5	5,6	3,1	2,6	4,0
20:0	1,2	1,2	0,8	0,4	1,0*	0,5
Σ НЖК	24,2	22,2	22,5	26,3	20,5*	23,4*
15:1	0,5	1,0*	0,9*	0,3	0,4	0,5*
16:1n-9	0,4	0,1	0,0	0,3	0,0	0,2
16:1n-7	7,1	3,6*	4,4*	11,6	8,1*	7,1*
16:1n-5	1,0	1,3*	1,4*	1,2	0,8*	1,1
18:1n-9	3,7	3,9	4,7*	2,9	3,6*	2,9
18:1n-7	2,5	3,7*	3,2	2,4	2,2	1,9*
18:1n-5	2,5	2,0*	1,9*	2,7	3,2*	3,1*
20:1n-11	2,0	2,4*	2,5*	1,6	1,9*	1,5
20:1n-9	3,1	5,8*	5,7*	2,3	3,9*	2,5
20:1n-7	1,0	0,9	0,9	1,2	1,0	0,9*
Σ МНЖК	23,7	24,5	25,6*	26,5	25,2	21,8*
16:4n-3	1,3	1,1	0,5	0,2	1,5*	1,0*
18:3n-3	2,2	1,5*	1,1*	2,6	1,6*	1,9*
18:4n-3	2,3	1,6	1,0	3,3	1,1*	2,2*
20:2n-3	0,5	0,4	0,5	0,3	0,5*	0,7*
20:3n-3	0,1	0,0	0,2	0,2	0,2	0,1
20:4n-3	0,4	0,2*	0,3	0,4	0,3*	0,3*
20:5n-3	12,1	9,5*	9,1*	11,7	12,1	13,4*
22:5n-3	1,0	1,2	1,4*	0,8	1,5*	1,2*
22:6n-3	15,3	14,2*	13,4*	14,1	16,9*	19,0*
Σ n-3 ПНЖК	35,2	29,6*	27,4*	33,6	35,5*	39,9*
16:2n-6	0,4	0,7*	0,6*	0,3	0,4*	0,3
16:3n-6	1,2	1,3	1,4	1,6	1,0*	1,3*
18:2n-6	2,7	2,4	2,1	2,8	1,8*	2,1*
20:2n-6	0,7	0,7	0,8	0,7	0,9	1,0
20:4n-6	3,2	6,7*	7,1*	1,9	3,7*	2,6*
22:2n-6	2,8	3,5	3,5	1,9	3,7*	2,5*
22:3n-6	1,0	1,3	1,8*	0,6	1,4*	0,8*
22:4n-6	0,3	0,5*	0,5*	0,2	0,2	0,2
22:5n-6	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4*
Σ n-6 ПНЖК	13,0	17,4*	18,2*	10,5	13,7*	11,3*
20:2n-9	2,8	4,5*	4,7*	1,8	3,6*	2,7*
22:2n-9	0,3	1,1*	1,0*	0,3	0,7*	0,2
Σ n-9 ПНЖК	3,2	5,6*	5,7*	2,0	4,3*	2,9*
Σ НМРЖК	0,8	0,8	0,7*	1,1	0,8*	0,7*
Σ ПНЖК	51,3	52,6	51,3	46,1	53,5*	54,1*
НЖК/ПНЖК	0,5	0,4	0,4	0,6	0,4*	0,4*
18:2n-6/20:4n-6	0,8	0,4*	0,3*	1,5	0,5*	0,8*
n-3/n-6	2,7	1,7*	1,5*	3,2	2,6*	3,5*

Примечание к табл. 13. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем.

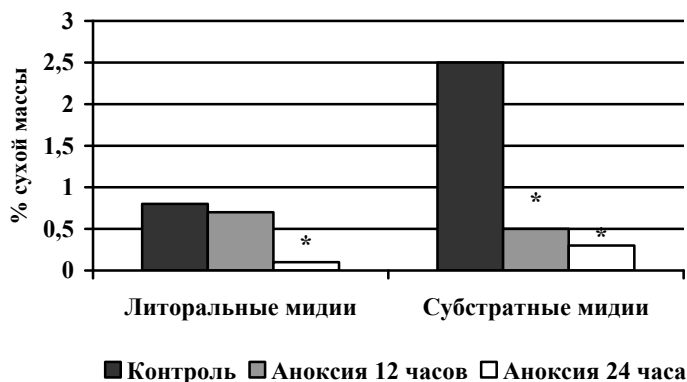


Рис. 43. Содержание запасных липидов (ТАГ и ЭХС) у литоральных и субстратных мидий при влиянии краткосрочной аноксии.

Примечание к рис. 43. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем

У литоральных и субстратных мидий в результате действия краткосрочной аноксии (12 и 24 часа), помимо основных структурных (ХС, ФХ, ФЭА, НЖК, n-3 и n-6 ПНЖК) и запасных (ТАГ и ЭХС) липидных компонентов, изменялось содержание минорных фосфолипидов мембран – ФИ, ЛФХ и СФМ, а также жирных кислот (18:1n-9, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3), обладающих определенной физиологической активностью.

При действии суточной аноксии на литоральных и субстратных мидий отмечалось снижение количества СФМ, который, как известно, через генетический аппарат клетки контролирует синтез ХС (Scheek et al., 1997). В настоящем исследовании у литоральных мидий наряду со снижением концентрации ХС наблюдалось падение уровня СФМ (рис.42А, 44). Низкое количество ЛФХ у мидий с искусственных субстратов после влияния 12-ти часовой аноксии, вероятно, связано с его мембранно-модулирующим эффектом (Проказова и др., 1998).

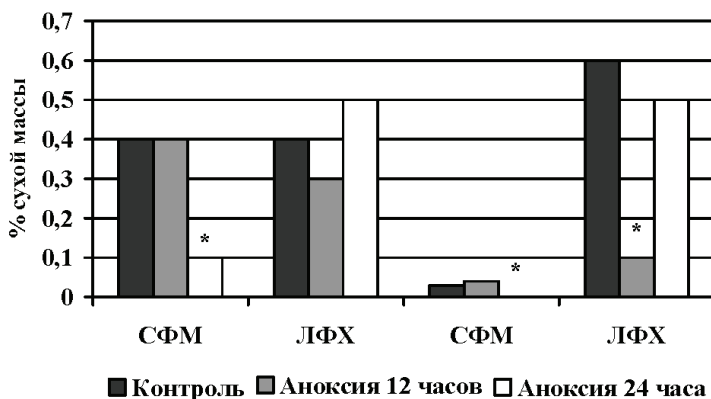


Рис. 44. Содержание СФМ и ЛФХ у литоральных и субстратных мидий при влиянии краткосрочной аноксии.

Примечание к рис. 44. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем.

При влиянии 12-ти и 24-х часовой аноксии на литоральных и субстратных мидий изменения в количестве ФИ сопровождались повышением уровня арахидоновой 20:4n-6 кислоты (табл.13). Известно, что ФИ является основным источником 20:4n-6 кислоты в организме (Bell et al., 1986; Кучеренко, Блюм, 1986). Отмеченные в данной работе изменения в коэффициенте 18:2n-6/20:4n-6 свидетельствуют о высоком уровне метаболизма 20:4n-6 кислоты и ее биосинтетического предшественника – линолевой 18:2n-6 кислоты. Поскольку 20:4n-6 кислота используется для синтеза эйкозаноидов (Bell et al., 1986; Tocher, 2005) то, вероятно, усиленный обмен данной кислоты способствует выживанию моллюсков в неблагоприятных аноксийных условиях. Помимо 20:4n-6 кислоты у литоральных и субстратных мидий в результате влияния аноксии повышался уровень олеиновой 18:1n-9 кислоты (табл.13). Данный эффект может быть связан с увеличением активности ферментов, ответственных за синтез данной кислоты. Известно, что 18:1n-9 кислота является продуктом деятельности $\Delta 9$ -десатуразы, экспрессия генов которой

у двустворчатых моллюсков усиливается при воздействии гипоксии (David et al., 2005). Высокая концентрация данной кислоты в фосфолипидах мембран влияет на их физико-химические свойства, а метаболиты ПНЖК действуют как сигнальные молекулы. Снижение количества основных кислот линоленового семейства: 20:5n-3 и 22:6n-3, у литоральных мидий в результате влияния краткосрочной аноксии, по-видимому, связано с использованием этих кислот для синтеза эйкозаноидов или на энергетические нужды организма (Tocher, 2005; Freitas et al., 2002b). У субстратных мидий, наоборот, повышенное содержание 20:5n-3 и 22:6n-3 кислот может указывать на дополнительный их синтез, хотя известно, что данные кислоты имеют фитопланктонное происхождение (Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Fluerece et al., 1994; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Хардин и др., 2002; Ramos et al., 2003; Saito, 2004). Установлено, что у морских прикрепленных беспозвоночных 20:5n-3 кислота наряду с другими макромолекулами играет важную роль в адаптационном процессе (Ромашина, 1983; Шульман, Юнева, 1990), тогда как 22:6n-3 кислота у двустворчатых моллюсков в основном используется для получения метаболической энергии, а также участвует в регулировании мембранной жидкости (Freitas et al., 2002b).

Таким образом, установлено, что компенсаторная реакция липидного состава в ответ на анаэробные условия среды обитания имеет схожие черты у литоральных и субстратных мидий, хотя были отмечены некоторые характерные особенности в изменениях липидного спектра у мидий из различных местообитаний (литораль и мариккультура). Так, например, у литоральных моллюсков отмечены колебания в количестве НМРЖК, обеспечивающие более прочную и стабильную структуру липидного бислоя, тогда как у субстратных особей изменялся уровень n-3 полиеновых кислот обычного строения. Количество запасных липидов (в частности, ТАГ) изменялось в основном у мидий с искусственных субстратов мариккультуры, которые характеризовались повышенной концентрацией данных липидных компо-

нентов. Отмеченные колебания в составе липидов беломорских мидий *Mytilus edulis* L., по-видимому, направлены на поддержание жизнеспособности мидий при воздействии анаэробных условий среды обитания. В большей степени это характерно для литоральных мидий Белого моря.

II.2.4. Некоторые схожие черты изменений липидного состава у беломорских мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие различной солености и краткосрочной аноксии

При сравнительном анализе модификаций липидного состава в ответ на воздействие различной солености и краткосрочной аноксии достаточно сложно выявить сходные черты в их компенсаторной реакции. Показано, что ответ на уровне состава липидов (в частности, на действие различной солености морской воды) может определяться степенью воздействия фактора (т.е. критическими или умеренными значениями солености), а также направлением влияния данного фактора (т.е. опреснением или повышением солености морской воды). Однако считается, что при влиянии крайне низкого значения солености 5‰ морские моллюски находятся в условиях недостатка кислорода (т.е. во время действия сильного опреснения створки раковины у них закрыты). Компенсаторная реакция на уровне липидного состава мидий в ответ на действие 5‰ солености и краткосрочной аноксии имеет схожие черты.

Так, у **литоральных мидий** в целом организме как при влиянии 5‰ опреснения, так и при действии краткосрочной аноксии, наблюдалось значительное падение уровня ХС. Однако действие 5‰ солености привело к снижению показателя ХС/ФЛ, а влияние краткосрочной аноксии, напротив, к его увеличению. Следовательно, отмеченные колебания показателя ХС/ФЛ указывают на различное физико-химическое состояние клеточных мембран мидий, что, вероятно, способствует развитию адаптивных реакций моллюсков на действие неблагоприятных факторов среды обитания. При влиянии данных факторов среды у литоральных мидий отмечено снижение концентрации СФМ, что может быть связано с регуляцией биосинтеза ХС в клетках мидий. При действии 5‰ солености

и краткосрочной аноксии у мидий отмечался низкий уровень $n-3$ ПНЖК, которые поступают в организм мидий главным образом с пищей (т.е. с фитопланктоном). Следовательно, низкие концентрации данных жирных кислот свидетельствуют об угнетении фильтрации у мидий или о недостаточном их поступлении извне в условиях действия данных факторов среды.

У **субстратных мидий** при влиянии исследуемых факторов среды обитания была отмечена сходная тенденция в ответной реакции на уровне структурных липидов: повышение показателей ХС/ФЛ и ФХ/ФЭА, а также низкий уровень СФМ. Вероятно, у субстратных моллюсков включаются неспецифические компенсаторные реакции, способствующие их выживанию при действии неблагоприятных факторов среды. Однако при влиянии краткосрочной аноксии на субстратных мидий было заметно выше содержание $n-3$ ПНЖК, которые, как известно, являются кислотами фитопланктонного происхождения. Возможно, субстратные моллюски используют дополнительные пути синтеза данных жирных кислот в условиях недостаточного их поступления из окружающей среды.

Обращает на себя внимание колебание уровня арахидоновой 20:4 $n-6$ кислоты у литоральных и субстратных мидий в ответ на действие различной солености и краткосрочной аноксии. Как уже отмечалось выше, 20:4 $n-6$ кислота является источником для синтеза биологически активных веществ (т.н. эйкозаноидов), которые играют важную роль в регуляции различных физиологических процессов, таких как иммунный ответ, секреция и др. Показано, что у акклимированных к различной солености литоральных и субстратных мидий повышается уровень арахидоновой кислоты. Подобный эффект был также отмечен и у моллюсков, находившихся в условиях краткосрочной аноксии. Известно, что в процессе акклимации моллюсков к различной солености морской воды усиливается синтез эйкозаноидов (в частности, простагландинов), что предполагает участие иммунной системы в компенсаторном ответе на смену солености морской воды (Freas, Grollman, 1980). Таким образом, повышенный уровень 20:4 $n-6$ кислоты, отмеченный у акклимированных к различной солености беломорских ми-

дий, может стимулировать синтез эйкозаноидов у них. Необходимо подчеркнуть, что при воздействии солёности модификации в уровне арахидоновой кислоты наиболее выражены у субстратных мидий, которые обитают в относительно стабильных условиях окружающей среды, по сравнению с прибрежными моллюсками. При действии краткосрочной аноксии увеличение концентрации 20:4n-6 кислоты наблюдалось у обеих групп исследованных мидий (прибрежные и субстратные моллюски). Вероятно, повышенный уровень данной кислоты, являющейся основным предшественником для синтеза эйкозаноидов, способствует выживанию моллюсков в неблагоприятных условиях среды обитания (колебания солёности и недостаточное количество кислорода) и служит примером эволюционной биохимической адаптации.

ГЛАВА 3

Нефть – один из основных загрязняющих факторов морской среды обитания

Воздействие различных видов загрязнений на водные и наземные экосистемы, а также на здоровье человека является важной международной проблемой современной биологии и токсикологии. Основными загрязняющими факторами служат токсические промышленные отходы и повышенная УФ-радиация, которые способствуют появлению пищевой недостаточности и гипоксии, повреждению местообитания и возникновению патоген – индуцированных заболеваний. Однако наибольшее разрушение окружающей среды происходит в результате долгосрочного и комплексного воздействия этих факторов (Moore, 1998).

Методы, используемые в биомониторинге загрязнений окружающей среды, весьма разнообразны (Capuzzo, 1981; Wedderburn et al., 2000). Физиолого-биохимические методы позволяют выявить не только токсическое действие загрязнителей, но и дают возможность объяснить механизмы ответной реакции организма на такие воздействия. Известно, что первичный ответ организма при влиянии токсических веществ происходит на молекулярном и клеточном уровне, т.е. наступает до появления физиологических и морфологических нарушений (Bertoli et al., 2001; Немова, Высоцкая, 2004). Изменения биохимических показателей отражают состояние обмена веществ и зачастую свидетельствуют о развитии компенсаторного ответа организма на воздействие загрязняющих веществ. Возможным решением проблемы изучения и прогнозирования последствий различного вида загрязнений служит эффективное определение так называемых «сигналов бедствия» на молекулярном и клеточном уровнях, а также в сопоставлении их с

возможными последствиями на более высоких уровнях организации (например, популяции, сообщества, экосистемы) (Рис.45). Исключительно на низших уровнях биологической организации возможно объяснить изменения в различных функциях организмов в ответ на действие факторов окружающей среды. Следовательно, «сигналы бедствия», обнаруженные на молекулярном, клеточном и физиологическом уровнях организации являются "ранними предостерегающими биомаркерами (молекулярными, клеточными, физиологическими и поведенческими)" сниженных функций организма, вызванных различными нарушениями, в том числе патологиями (Moore, 1998).

В основе клеточных и физиологических процессов лежат механизмы поступления загрязняющих веществ, их биотрансформации и радикального преобразования, молекулярного и последующего повреждения клеток, а также антиоксидантной защиты и восстановления. Данные механизмы связаны с клеточными и физиологическими процессами везикулярного транспорта белков, их метаболизма, а также взаимодействий нервной и эндокринной систем с защитной иммунной функцией организма. На более высоких уровнях организации различная чувствительность к загрязнениям может быть определена с учетом индивидуального генотипа, стадии жизненного цикла, естественных сезонных изменений в физиологическом и/или репродуктивном статусе. Клеточные реакции на химические загрязнители могут служить ранними «сигналами бедствия» в ответ на повреждающие изменения в организме растений и животных. В случае если такие реакции являются предшественниками патологии, они будут иметь специфическое применение при определении степени потенциального риска. Клеточные изменения используются как индикаторы вредного воздействия в тестировании новых химических продуктов на лабораторных животных (Moore, 1998).

В настоящее время достаточно остро стоит проблема нефтяных загрязнений акваторий в связи с интенсивным освоением новых нефтяных месторождений в прибрежной и шельфовых морских зонах (Choiseul et al., 1998; Ikavalko, 2005). Нефть – чрезвычайно

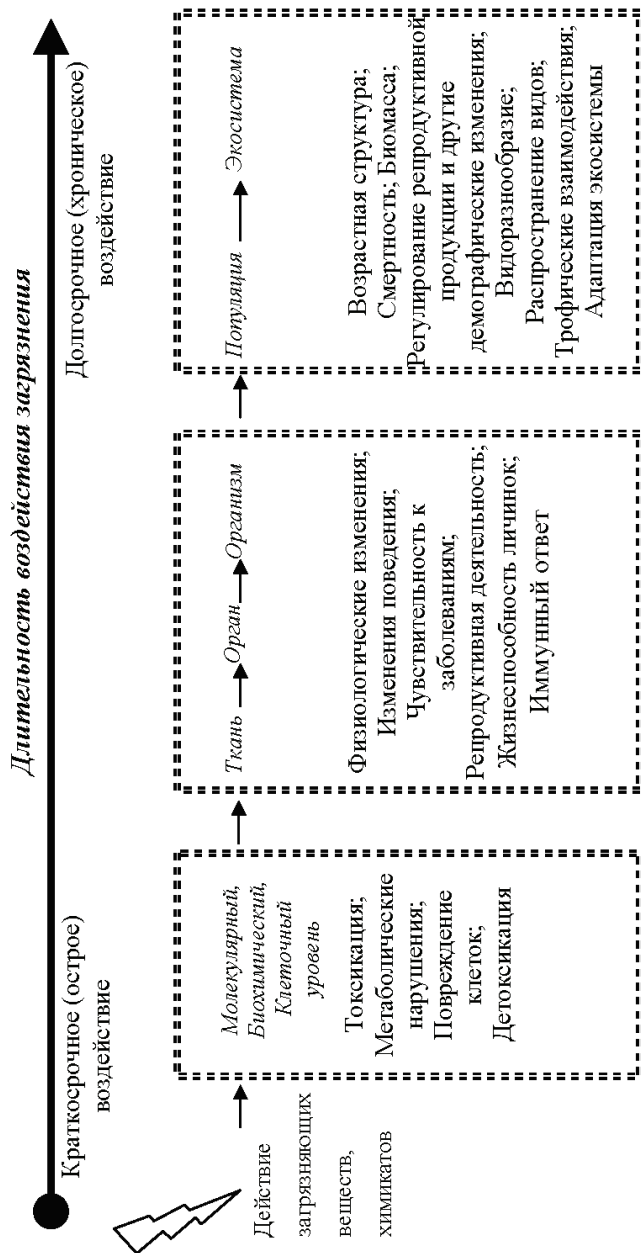


Рис. 45. Схематическое изображение ответной реакции морских моллюсков на химические загрязнения (адаптировано из Capuzzo (1981) и Moore (1998))

важный природный ресурс для производства энергии и химического пищевого сырья. Однако, очистка, транспортировка и использование нефти привели к случайному и хроническому попаданию ее в окружающую среду. Основные источники поступления нефти в морскую среду обитания представлены на рисунке 46. Несмотря на то, что наиболее значительные изменения окружающей среды вызваются разливами нефти при ее добыче (буровые работы) и/или при транспортировке, на их долю приходится около 13% от всех источников загрязнений (NAS, 1985; Choiseul et al., 1998; Ikavalko, 2005). С другой стороны, буровые работы способствуют долгосрочному (хроническому) воздействию нефтепродуктов на морскую экосистему, по сравнению с острым и повреждающим влиянием разливов нефти (Ikavalko, 2005). Биогеохимические пути превращения, которые способствуют глобальному распространению нефти, представлены на рисунке 47. Нефть в морской среде воздействует на организмы всех систематических уровней: от микроскопического планктона (фито- и зоопланктона), беспозвоночных (ракообразные, моллюски, кольчатые черви) до позвоночных животных (рыбы, птицы, млекопитающие).

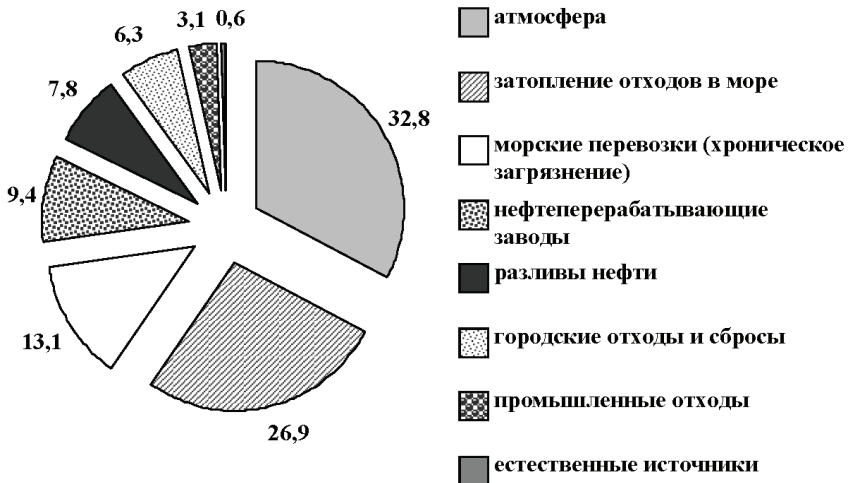


Рис. 46. Основные источники попадания нефтяных углеводородов в морскую среду обитания (адаптировано из NAS, 1985)

Необходимо отметить, что данные организмы могут не вступать в прямой контакт с нефтью, а пострадать от ее негативного воздействия посредством перемещения и постепенного повышения концентрации нефтепродуктов по пищевой цепи от более низкого уровня до последующего. Накопление нефтепродуктов в организме (так называемая биоаккумуляция нефти) приводит к более значительным изменениям, чем тогда, когда организм находится в непосредственном контакте с нефтью короткий промежуток времени. Нефтяное воздействие на данный организм может изменяться от простого физического повреждения (такого как прилипание нефти к телу) до патологического. Нефтепродукты могут оказывать влияние на различные органы и физиологические функции, и таким образом приводить к изменениям в поведении (например, питании, активности и подвижности, реакции избегания и т.д.), росте и способности к размножению (Ikavalko, 2005). Кроме того, важно отметить, что воздействие нефти в значительной степени зависит от стадии развития организма, поскольку известно, что личиночные и ювенильные стадии более уязвимы к неблагоприятному воздействию различных факторов, в том числе нефтяному загрязнению, чем взрослые организмы (Соколова, 1963; Бергер, Луканин, 1979; Луканин, Лангуев, 1982; Бергер, 1986; Ikavalko, 2005).

Нефть состоит из более чем 1000 токсичных для живых организмов компонентов, включая полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Углеводороды, которые составляют от 50 до 98% всех компонентов нефти, – это класс органических соединений, содержащих только водород (10–15 %) и углерод (80–87 %). Кроме того, в состав углеводородов нефти, в качестве минорных составляющих, входит сера (0–10%), кислород (0–5%) и азот (0–1%) (NAS, 1985). Нефть также содержит переменные концентрации никеля, ванадия, железа, алюминия, натрия, кальция, меди, и урана (Posthuma, 1977). Основные компоненты нефти представлены на рисунке 48.

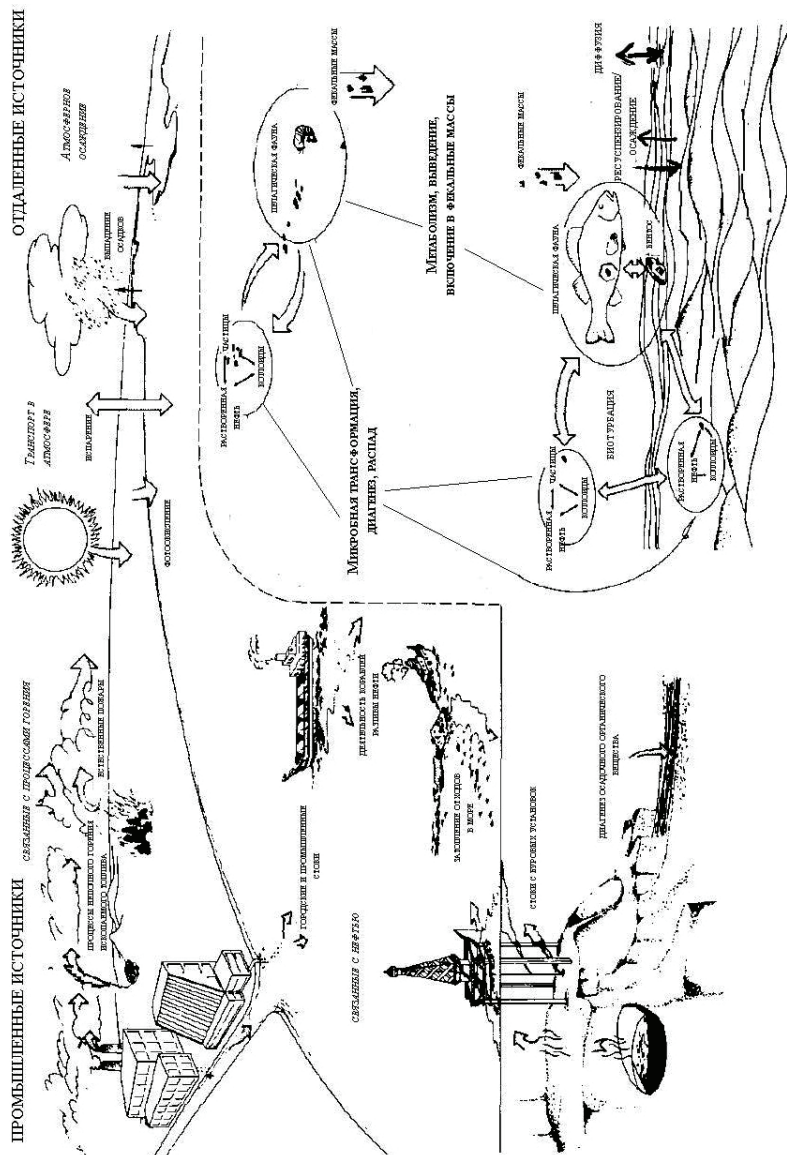


Рис. 47. Биогеохимические пути превращения нефти в окружающей среде (адаптировано из Farrington, 1991; McElroy et al., 1994; UNEP, 1995)

Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов

АЛИФАТИЧЕСКИЕ УГЛЕВОДОРОДЫ

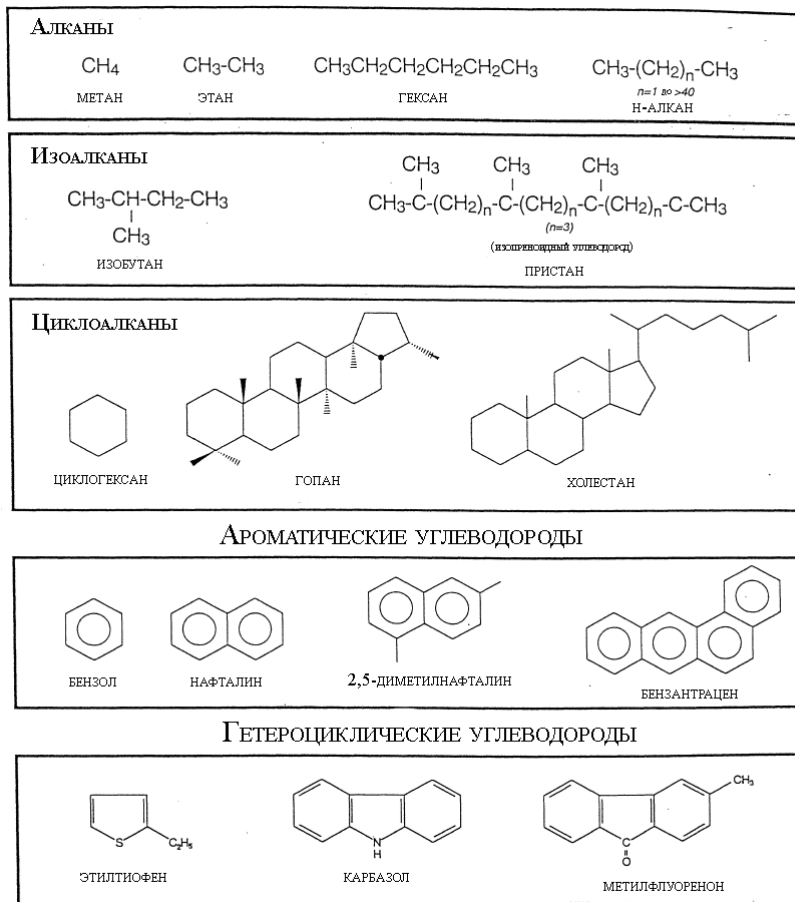


Рис. 48. Основные компоненты нефти
(адаптировано из Posthuma, 1977; UNEP, 1995)

ПАУ являются наиболее токсичными веществами, которые обладают мутагенными и канцерогенными свойствами (Choiseul et al., 1998; Dyrynda et al., 2000). Биохимические процессы, касающиеся перемещения нефтяных углеводородов, в том числе ПАУ, в

морских экосистемах и накопления данных нефтепродуктов в водных организмах представлены на рисунке 47. Нефть преобразуется и транспортируется внутри морской экосистемы посредством включения в метаболизм, выделения с фекальными массами, микробной трансформации и деградации, а также биотурбации (перемешивания донных осадков организмами). Многочисленные лабораторные исследования показали, что водные организмы могут накапливать ПАУ из морской воды, из донных отложений, а также из пищи, но такие способы бионакопления ПАУ из этих источников не равноценны между собой (Farrington, 1991; McElroy et al., 1994; UNEP, 1995; Ikavalko, 2005). Прямое поступление растворенных ПАУ из воды является основным способом их биоаккумуляции. Перенос нефтяных углеводородов по пищевой цепи (так называемая биомагнификация, т.е. повышающаяся концентрация токсических веществ) возможен у водных организмов, которые способны накапливать ПАУ из пищи. Причем данный путь поступления ПАУ в организм более эффективный, по сравнению с их поступлением из морских донных отложений (Ikavalko, 2005).

Организмы не используют нефтяные углеводороды в качестве источника углерода, но образуют с ними окисленные и конъюгированные продукты. Поступление нефтяных углеводородов в организм животного, происходит непосредственно из воды или с пищей; осуществляется через покровы тела, через дыхательные поверхности (жабры, легкие, или другие газо-обменные поверхности); а также из их пищеварительной системы. Двустворчатые моллюски, которые фильтруют большие объемы воды, поглощают углеводороды нефти в растворенном виде или в виде суспензированных частиц и диспергированных нефтяных капель. Они способны накапливать углеводороды в высоких концентрациях. Максимальное содержание нефтяных углеводородов в двустворчатых моллюсках, подвергнутых воздействию нефти в лабораторных или полевых условиях, было приблизительно 300-400 мкг/г (NAS 1985). Разные виды моллюсков, например устрицы и мидии, отличаются между собой по скорости потребления углеводородов, возможно, из-за различной скорости фильтрации и концентрации ли-

пидов в них (Clark, Finley, 1974; Neff et al., 1976). Например, на загрязненных нефтью территориях, прячущиеся двустворчатые моллюски, такие как *Mya arenaria* или *Modiolus demissus*, содержат более высокие концентрации углеводов, чем прикрепленные эпибентические двустворчатые моллюски, такие как *Mytilus edulis* или *Crassostrea virginica* (Lee et al 1981; Vandermeulen, Gordon 1976). Двустворчатые моллюски, питающиеся детритом, накапливают больше углеводов, чем те, которые поглощают органические вещества, растворенные в морской воде. (Roesijadi et al., 1978). Бионакопление нефти организмами зависит от гидрофобности углеводов, а также от того, растворены они или связаны с частицами (в том числе с пищевыми частицами). (Dunn, 1980). Нефтяные углеводороды, накопленные двустворчатыми моллюсками в условиях лабораторного эксперимента, имеют период полураспада нескольких дней; однако, мидиям, обитающим на сильно загрязненных территориях, требуется более длительный период для очищения (Sericano et al., 1996).

Беспозвоночные, как известно, включают нефтяные углеводороды в свой обмен веществ, однако система ферментов цитохром P450 у них слабо развита, в результате чего метаболизм нефтяных соединений у них снижен (McElroy et al., 1989; Ikavalko, 2005; McDowell, 2005). Предполагается, что метаболизм ПАУ у двустворчатых моллюсков осуществляется посредством нескольких каталитических механизмов, включающих механизмы перекисного окисления, в дополнение к цитохром P-450 монооксигеназному пути (Anderson, 1978; Livingstone, Farrar, 1984; Stegeman, 1985; McDowell, 2005). Показано, что у рыб биоаккумуляция нефти тесно связана с физическими и химическими свойствами углеводов нефти, такими как, молекулярная масса и коэффициент октанол/вода. Следовательно, зная физические и/или химические свойства разлитой нефти, можно предсказать степень накопления ПАУ организмом. В частности для рыб фактор биоаккумуляции имеет тенденцию увеличиваться с повышением молекулярной массы нефтепродуктов (McElroy et al., 1989; Ikavalko, 2005). Углеводороды могут транспортироваться кровью у позвоночных животных

и откладываться в различных тканях. У лосося было показано накопление углеводов в клеточных мембранах (Roubal, 1974). Причем, концентрация углеводов у рыб, подвергнутых воздействию нефти, выше в печени и нервной ткани по сравнению с другими органами (Neff et al., 1976; Roubal et al., 1977; Collier et al., 1980). Это объясняется высоким содержанием липидов и вакуолизацией этих тканей. Наблюдаемое распределение углеводов также может быть связано с их молекулярным весом. Кроме того, показана корреляция между накоплением некоторых липофильных загрязняющих веществ у рыб и их октанол/водным коэффициентом (Veith et al., 1979), что подтверждает поступление углеводов через жабры (Hunn, Allen, 1974). Экспериментальные исследования показали, что после поступления нефтяных углеводов в организм, процесс их выведения начинается в течение нескольких часов (NAS, 1985), поскольку рыбы обладают системой ферментов, необходимых для включения нефтяных углеводов в обмен веществ. В результате чего они могут быстро выводить углеводороды из организма (Yu et al., 1995).

Таким образом, нефть и ее продукты (в основном ароматические углеводороды с низкой молекулярной массой) оказывают на организм негативное химическое воздействие. При этом животные могут подвергаться и ее механическому влиянию – обволакиванию поверхности их тела нефтяной пленкой (Wells, Percy, 1985; Robertson, 1998). Животные подвергаются воздействию нефти посредством фильтрации и/или потребления ее вместе с пищей, в результате проникновения ее через мембраны клетки. Чувствительность организма к нефтяному влиянию в значительной степени зависит от уровня загрязнения, от физиологического состояния организма и его жизненного цикла. Известно, что метаболизм ПАУ развит сильнее у животных на более высоком систематическом уровне, и, следовательно, они более устойчивы к воздействию нефти, чем организмы на более низких уровнях (Rice et al., 1977). Например, беспозвоночные обладают более медленным метаболизмом углеводов нефти, чем позвоночные животные (McElroy et al., 1989; Ikavalko, 2005; McDowell, 2005).

Помимо острой токсичности, вызывающей смерть организмов, нефтяные углеводороды, в частности ПАУ, могут стимулировать множество сублетальных изменений, которые выражаются в нарушении питания, поведения, роста, способности к размножению, а также возникают аномалии у развивающихся эмбрионов. На клеточном уровне ПАУ могут связываться с липофильными участками в клетке, или изменять ДНК, создавая ковалентно-связанные продукты, так называемые аддукты ДНК, которые, как известно, являются одной из первых причин в развитии опухоли (Robertson, 1998).

В Белом море нефтяное загрязнение изучалось в 80-90-х годах 20 века в Двинском заливе, причем в период с 1980 по 1994 годы концентрация углеводородов нефти в заливе падала. Исследования нефтяного загрязнения также проводились в Онежском заливе, где было показано снижение уровня нефтяных углеводородов от побережья к открытому морю. Показано, что нефть попадает в залив из загрязненных вод реки Северной Двины, а затем перемещается вдоль берега с помощью приливных течений. Кроме того, загрязнения нефтью были показаны в проливах Оленья салма и Западная Рязжова салма (Savinov et al., 2001). Содержание нефтепродуктов в морских организмах изучалось только на коммерческих видах, обитающих в Белом море, таких как водоросли *Laminaria saccharina*, *Laminaria digitata*, *Fucus vesiculosus* (Plotitsyna, 1999; Savinov et al., 2001), моллюски *Chlamys islandicus* (Плотицина, Киреева, 1996) и тюлени (Плотицина, Киреева, 1996; Savinov et al., 2001). Так, у морского гребешка *Chlamys islandicus* содержание общих ПАУ составляло 0,2-0,6 нг/г сырого веса. Подобные концентрации нефтепродуктов были отмечены у *Chlamys islandicus*, обитающих в Баренцевом море (Плотицина, Киреева, 1996; Savinov et al., 2001).

III.3.1. Влияние нефтепродуктов на морских моллюсков

Двустворчатые моллюски, в том числе мидии *Mytilus edulis* L., благодаря способности накапливать в больших количествах загрязняющие вещества, широко используются в биомониторинге природных вод (Farrington et al., 1983; Choiseul et al., 1998; Awad,

1979; NAS, 1980; Widdows, Donkin, 1992; Widdows et al. 1987; Shigenaka, Henry, 1993; Wedderburn et al., 2000). В литературе описывается множество примеров нефтяного воздействия не только на двустворчатых, но и на брюхоногих моллюсков. Последствиями таких воздействий служат, например, гибель организмов, неправильное личиночное развитие, атрофия эпителия, изменения в потреблении кислорода, питании, выделении, росте, а также различные молекулярные, клеточные, биохимические и физиологические ответы, такие как ферментативная детоксикация или выведение нефтяных углеводородов, изменения в общей ферментативной активности, и, наконец, экофизиологические последствия – общее снижение жизнеспособности популяции, приводящее к изменениям на уровне экосистемы (Bayne et al., 1982; Lewis, 1982; Strickle et al., 1985; Moore et al., 1987; Neff et al., 1987; Lowe et al., 1981; Moore, Clarke, 1982; Couch, 1984; Pipe, Moore, 1985; Lowe, Pipe, 1985, 1986, 1987; Moore et al., 1989; McDowell, 2005).

У двустворчатых моллюсков *Mya arenaria* и *Macoma calcaria* показаны следующие гистопатологические изменения, вызванные действием нефтепродуктов: некроз пищеварительного тракта, увеличение числа клеток слизи в эпителии пищеварительного тракта, гранулоцитомы, агрессивная неоплазия (возможно, рак), вакуолизация эпителия пищеварительной трубки, увеличенный паразитизм и проникновение в гемоциты. Показано, что содержание глюкозы, гликогена, трегалозы, общих липидов и свободных аминокислот снижено у животных подвергшихся действию нефтяного загрязнения (Neff et al., 1987). У брюхоногих моллюсков сублетальное влияние нефтепродуктов вызывало потерю чувствительности к химическому воздействию, симптомом данного явления, например, служит отделение от субстрата. У двустворчатых и брюхоногих моллюсков сниженная скорость фильтрации, вызванная, по-видимому, ингибированием ресничек нефтяными углеводородами, отражается на некоторых функциях, в том числе на скорости потребления пищи. Данные изменения были показаны у устрицы *Crassostrea virginica* (Stegeman, Teal, 1973), мидии *Mytilus edulis* (Phelps et al., 1981; Widdows et al., 1982), *Mercenaria mercenaria*

(Keck et al., 1978) и *Yoldiella arctica* (Percy, Mullin, 1975). Высокие концентрации нефти вызывают закрытие раковины и потерю чувствительности поверхностей ресничек у двустворчатых моллюсков и, следовательно, отрицательно отражаются на скорости дыхания и питания (Johnson, 1977; Bayne et al., 1982, Mageau et al., 1987). При низких концентрациях нефти скорость потребления кислорода увеличивается у двустворчатых моллюсков, таких как *Mya arenaria*, мидия *Mytilus edulis*, *Macoma balthica* и брюхоногого моллюска *Littorina littorea* (Bayne et al., 1982). Скорость метаболизма повышается за счет связывания нефтяных углеводородов в тканях организма, повышения секреции и выделения слизи. В результате увеличивается расход энергии, а для роста и размножения доступным становится меньше энергии, поскольку поток углерода снижен (Stainken, 1978, Widdows et al., 1982; Bayne et al., 1982). Другие изменения проявляются в структуре половых клеток и эмбрионов, например, у *Macoma balthica* показаны аномалии в гонадах (Stekoll et al., 1980). Для двустворчатых моллюсков характерно перераспределение запасов энергии между резорбированным ооцитами и запасными клетками, что, вероятно, служит стратегией сопротивления, чтобы пережить воздействие нефтяных углеводородов (Lowe, Pipe, 1987; McDowell, 2005). Более того, даже низкие концентрации углеводородов нефти могут отразиться на поведении моллюсков. Так, скорость образования биссусных нитей ювенильными и взрослыми мидиями снижена, что приводит к ослабленному прикреплению к субстрату (Ikavalko, 2005).

Другими индикаторами воздействия загрязнителя у двустворчатых моллюсков служат присутствие однопочечных разрывов в ДНК отдельных клеток (Shugart et al., 1989), а также наличие шоковых белков внутри клетки (Hightower, 1993). Шоковые белки - группа белков, которые обычно синтезируются внутри клетки в ответ на воздействие различных физических и химических факторов (Hightower, 1993). В настоящее время известно, что белок теплового шока 60 (Sanders et al., 1991) и белок теплового шока 70 (Steinert, Pickwell, 1993) являются биомаркерами экологических воздействий у морских двустворчатых моллюсков (McDowell, 2005).

Изменения в биоэнергетике и росте двустворчатых моллюсков в результате воздействия нефтяных углеводородов, по-видимому, связаны с накоплением определенных соединений ароматического ряда в тканях (Gilfillan et al., 1977; Widdows et al., 1982, 1987, 1997; Donkin et al., 1990). Пониженные способности к росту, изменения в функционировании лизосом и уменьшенные репродуктивные функции, вероятно, являются общими ответами на воздействие загрязнителей и могут быть показательными для определения сниженных физиологических функций (McDowell, 2005). У мидий, подвергшихся воздействию нефтяного загрязнения, наблюдались изменения в биохимическом составе, особенно в отношении нейтральных и полярных липидов, а также в содержании углеводов (Leavitt et al., 1990). Кроме того, значительные изменения происходили в содержании запасных липидов у мидий во время преднерестового периода, когда идет накопление и использование липидных запасов для репродуктивного развития.

На популяционном уровне *Macoma balthica*, *Mytilus edulis*, *Lymnea palustris* и *Gammarus spp.* также показаны изменения, вызванные повышенными концентрациями нефтяных углеводородов в тканях данных организмов, а именно в некоторых случаях отмечалось снижение численности в популяциях данных моллюсков (Ikavalko, 2005; McDowell, 2005).

Таким образом, нефтяные углеводороды воздействуют на организмы множеством способов, вызывая серьезные последствия от гибели организмов до биомолекулярных, клеточных и патологических модификаций, а также до физических повреждений. Воздействие на организмы, обратимое или нет, зависит от многочисленных физических и биологических факторов, которые также влияют на нефтяное распространение, биологическую деградацию, потребление и накопление токсических веществ организмами. Примерами таких факторов служат объем и тип разлитой нефти, температура воды и водных течений, соленость, присутствие ледового и снежного покрытия, сезон, местоположение разлива (открытая вода или береговая линия) нефти (Wilson et al., 1992). Кроме

того, популяционные изменения, не связанные со смертностью и которые наблюдаются в некоторых случаях влияния нефтяного загрязнения, могут быть вызваны популяционной динамикой (например, перемещение, возрастная структура и способность к размножению популяции), стратегией выживания видов и другими возможными нарушениями. Кроме того, отдельные организмы могут умереть, чтобы снизить эффекты на популяционном уровне (Ikavalko, 2005; McDowell, 2005).

II.3.2. Изменения в составе липидов и жирных кислот у беломорских мидий *Mytilus edulis* L. в ответ на действие нефтепродуктов

Известно, что процессы адаптации включают изменения на уровне клеточного метаболизма, и одной из важных сторон этого процесса является изменение состава липидов (Крепс, 1981; Немова, Высоцкая, 2004). В ответ на стрессовое воздействие внешних факторов, в организме изменяется метаболизм липидов, что может отразиться на его липидном составе. Важную роль в адаптациях организма к изменяющимся факторам среды обитания играют липиды клеточных мембран (Крепс, 1981). Стрессовые воздействия влияют на состав мембранных липидов, что вызывает изменения в физических свойствах мембран (главным образом микровязкости), направленные на поддержание их оптимальной структуры (Nechev et al., 2006).

Липофильные органические загрязняющие вещества, такие как нефтяные углеводороды (в том числе ПАУ), полихлорированные дифенилы (ПХД) и другие синтетические органические компоненты могут накапливаться в тканях морских животных богатых липидами (Capuzzo, Leavitt, 1988). Некоторые авторы наблюдали снижение синтеза триацилглицеринов и понижение мобилизации эссенциальных жирных кислот в фосфолипидный пул у личинок американского омара *Homarus americanus* под воздействием нефтяных углеводородов (Capuzzo et al., 1984). У морских амфипод рода *Gammarus* и *Marinogammarus*, обитающих на загрязненных

нефтепродуктами территориях, отмечалось повышенное содержание структурных липидных компонентов (а именно, ФЛ и ХС), а также низкие концентрации запасных липидов (в частности ЭХС). Причем уровень основных мембранных фосфолипидов – ФХ и ФЭА, а также концентрация физиологически активных жирных кислот (таких как 18:3n-3, 20:5n-3 и 18:2n-6) были значительно ниже у данных организмов из загрязненных биотопов, по сравнению с контрольными образцами (Ткач, 2007). У рыб воздействие ПХД отразилось на изменении жирнокислотного состава, как результат взаимодействий между системами оксигеназ со смешанными функциями и десатураз жирных кислот, а также наблюдалась высокая степень насыщенности жирных кислот фосфолипидов (Caldwell et al., 1979). Другие исследования показали, что воздействие липофильных загрязнителей может вызывать признаки недостатка эссенциальных жирных кислот (Darsie et al., 1976), изменения в синтезе фосфолипидов и триацилглицеринов (Dzogbefia et al., 1978), изменения в мембранной жидкости (Reich et al., 1981) и подавлении транспорта триацилглицеринов (Kato et al., 1982). У беспозвоночных, включая двусторчатых моллюсков и ракообразных, ответная реакция на липофильные загрязняющие вещества может также отразиться на изменениях в пуле нейтральных липидов и фосфолипидов, изменяя адаптивные и энергетические возможности (Capuzzo, Leavitt, 1988; Ткач, 2007). У мидий *Mytilus edulis*, обитающих на загрязненных участках, было показано увеличение уровня триацилглицеринов и повышение показателя ТАГ/ФЛ, что предполагает снижение мобилизации ТАГ в пул ФЛ со значительными последствиями влияния на структуру и функции мембран. У них также отмечалось значительное снижение содержания фосфолипидов, что, возможно, связано с мембранной деструкцией (Capuzzo, Leavitt, 1988). Данные результаты согласуются с гистологическими и гистохимическими исследованиями, которые показали накопление липидов и липофусцина, увеличение вакуолизации клеток в пищеварительной железе и дегенерацию канальцев в ней. Лизосомальная дисфункция и разрушение мембран могут отразиться на перекисном окислении липидов и

катаболизме цитозольных белков, подтверждая предположение о включении механизмов перекисного окисления в метаболизм ксенобиотиков у морских моллюсков (Lowe, 1988; Mooge, 1988). В то же время, у мидий, собранных с менее загрязненного участка, снижались показатели ТАГ/ФЛ и нейтральные/полярные липиды, отражая пищевой статус этих животных совместно с воздействием внешних условий (Capuzzo, Leavitt, 1988). У мидий *Arca zebra* показано повышение концентрации неполярных липидов - стеролов, три-, ди-, моноацилглицеринов, свободных жирных кислот по мере увеличения уровня загрязнения окружающей среды (Leavitt et al., 1990). У пресноводных мидий под действием аммиака отмечено снижение содержания общих липидов, свободных жирных кислот, фосфолипидов и повышение концентрации ТАГ. В более поздних работах показано, что соотношение неполярных к полярным липидам у водных организмов может изменяться с увеличением уровня загрязнения окружающей среды (Chetty, Indira, 1994; Bergen et al., 2001). Таким образом, у двустворчатых моллюсков отмечены изменения некоторых липидных показателей при влиянии нефтепродуктов, однако большинство таких работ выполнены на уровне целого организма (Leavitt et al., 1990; Chetty, Indira, 1994; Bergen et al., 2001). Необходимо отметить, что реакция целого организма на различные виды загрязнений является интегральной и состоит из совокупного ответа различных органов. При этом стратегии реакций на загрязнение клеток каждого отдельного органа могут отличаться между собой.

Проведены исследования по влиянию дизельного топлива – одной из фракций нефти, состоящей из парафиновых (10-40%), нафтеновых (20-60%) и ароматических (14-30%) углеводородов, на липидный состав некоторых органов (дистальная и сагиттальная части мантии, нога) беломорских мидий *Mytilus edulis*. Аквариальный эксперимент был поставлен на базе ББС «Картеш» ЗИН РАН (губа Чупа, Кандалакшский залив Белого моря), в ходе которого субстратные мидии содержались в аквариумах с различной концентрацией дизельного топлива в морской воде (табл.14). В контрольный аквариум дизельное топливо не вносилось.

После 6-ти суточного экспериментального воздействия нефтяного загрязнения наблюдали, что влияние концентрации нефтепродуктов равной 1,9 мг/л не отразилось на составе общих липидов и фракций фосфолипидов отдельных органов беломорских мидий (табл.15). Необходимо отметить, что эти данные коррелируют с фиксированными значениями частоты сердечных сокращений беломорских мидий при влиянии концентраций нефтепродуктов 0,4 и 1,9 мг/л (Bakhmet et al., 2008).

Таблица 14

Концентрации дизельного топлива, используемые в эксперименте

Номер аквариума	1	2	3	4 (контроль)
Вносимые концентрации (мг/л)	1,0	0,3	0,1	0,0
Вносимые концентрации (мг/л)	700	210	70	0,0
Полученные концентрации	38,8	8,4	1,9	0,4

В дистальной части мантии – органе, наиболее подверженном внешнему воздействию, в результате влияния высоких концентраций нефтепродуктов (8,4 мг/л и 38,8 мг/л) наблюдалось снижение примерно в 3 раза соотношения мембранных липидов ХС/ФЛ. Это происходило в результате снижения уровня холестерина и повышения концентраций фосфолипидов, в частности его отдельных фракций – ФЭА, ФХ, ФС, ФИ и НЛ Х2 (табл.15). Показатель ХС/ФЛ является одним из основных параметров, характеризующий микровязкость биомембран (Bell et al., 1986; Еляков, Стоник, 1988; Hall et al., 2002). Снижение данного коэффициента в дистальной части мантии свидетельствует, по-видимому, о понижении микровязкости мембран, а также об изменении активности мембранно-связанных ферментов (Еляков, Стоник, 1988; Коломийцева и др., 2003).

В результате воздействия высокой концентрации нефтепродуктов (38,8 мг/л) значительно увеличился уровень ФИ – минорный компонент клеточных мембран, участвующий в таких важных физиологических процессах, как сигнальная трансдукция на поверхности клетки, регуляция мембранного транспорта, проницаемость

Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов

мембран (Кучеренко, Блюм, 1986; Di Paolo, de Camilli, 2006). Повышение количества ФИ в дистальной части мантии, вероятно, свидетельствует об участии данного фосфолипидов в компенсаторной реакции мидий на действие высоких концентраций нефтепродуктов.

Таблица 15

Липидный состав некоторых органов субстратных мидий Белого моря при влиянии нефтяного загрязнения

Липиды (% сухой массы)	Дистальная часть мантии				Сагиттальная часть мантии				Нога			
	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л
ОЛ	9,9	10,1	9,7	9,3	10,1	9,0	11,1	8,5	11,9	12,9	9,7*	9,2*
ФЛ	2,9	2,9	5,3*	5,2*	4,0	3,9	4,3	4,8	6,2	6,4	4,9*	5,9
ТАГ	0,03	0,4	0,0	0,0	2,1	1,8	2,8	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ЭХС	0,07	0,0	0,0	0,0	0,03	0,02	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
ХС	6,9	6,8	4,4*	4,1*	4,1	3,2	3,8	1,6*	5,7	6,3	4,8	3,3*
ХС/ФЛ	2,5	2,8	0,9*	0,8*	1,1	0,9	0,9	0,4*	0,9	1,1	0,9	0,6
ФИ	0,03	0,05	0,03	0,3*	0,03	0,02	0,07	0,04	0,02	0,08*	0,04*	0,08*
ФС	0,2	0,2	0,3*	0,3*	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4
ФЭА	0,3	0,3	0,5*	0,4*	0,5	0,3	0,5	0,5	0,7	0,7	0,4*	0,6
ФХ	1,8	1,9	3,5*	3,1*	2,5	2,6	2,7	2,9	4,4	4,9	3,5*	3,8*
НЛХ2	0,6	0,5	0,9*	1,0*	0,7	0,7	0,7	0,9	0,7	0,6*	0,6	0,9
ЛФХ	0,1	0,1	0,15	0,15	0,1	0,2	0,1	0,1	0,07	0,07	0,1	0,1
СМ	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
ФХ/ФЭА	6,0	6,3	7,0	7,8	5,0	8,7	5,4	5,8	6,3	7,0	8,8	6,3

Примечание к табл. 15: 0,4 мг/л – относительный контроль; * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем.

В сагиттальной части мантии (внутренняя часть мантии) ответная реакция на воздействие нефтяных загрязнений была отмечена только при влиянии самой высокой концентрации нефтепродуктов (38,8 мг/л). В этом случае наблюдалось снижение показателя ХС/ФЛ в 2,7 раза, в результате уменьшения содержания ХС. По-видимому, при воздействии высоких доз нефтепродуктов на

мидий, ХС играет важную роль в регуляции адаптационных процессов, влияя на изменение вязкости биологических мембран в обеих частях мантии. В сагиттальной части мантии, по сравнению с остальными исследуемыми органами, было обнаружено повышенное содержание нейтральных липидов (ТАГ и ЭХС). При влиянии нефтепродуктов уровень ТАГ в сагиттальной части мантии не изменялся, хотя в некоторых работах было показано накопление ТАГ и увеличение показателя соотношения нейтральные/полярные липиды у мидий *Mytilus edulis* под действием нефтяного загрязнения (Capuzzo, Leavitt, 1988). Предполагается, что при действии поллютантов может замедляться процесс превращения ТАГ в ФЛ, что в свою очередь отражается на структуре и функциях мембран (Kato et al., 1982; Capuzzo, Leavitt, 1988).

В ноге – основном мышечном органе мидий, при воздействии концентраций нефтепродуктов равных 8,4 мг/л и 38,8 мг/л наблюдалось снижение уровня общих липидов за счет их структурных фракций – ФЛ и ХС. Уменьшение общей концентрации фосфолипидов обусловлено снижением его основных мембранных фракций – ФЭА и ФХ. Кроме того, в результате влияния данных концентраций нефтепродуктов (8,4 мг/л и 38,8 мг/л) в ноге увеличился уровень ФИ, что также было отмечено и в дистальной части мантии.

Жирные кислоты являются важным биомаркерами состояния организма при влиянии различных факторов среды обитания, в том числе действия химических загрязнений. В жирнокислотном спектре мидий, подверженных влиянию нефтяного загрязнения, были отмечены некоторые модификации, характеризующие состояние организма под действием данного неблагоприятного фактора.

Край мантии (дистальная часть мантии) характеризуется повышенным уровнем насыщенных жирных кислот (главным образом, миристиновой 14:0 и пальмитиновой 16:0 кислот) при воздействии на мидий высоких концентраций нефтепродуктов (8,4 и 38,8 мг/л) в морской воде. При этом, наблюдался рост концентрации n-3 ПНЖК (20:5 и 22:6 кислот), что указывает на относительно благоприятные кормовые условия для мидий в данном эксперименте, так как источником этих кислот является фитопланктон (табл.16).

Интересно отметить, что при влиянии повышенной концентрации нефтепродуктов (38,8 мг/л) заметно снизилось содержание арахидоновой 20:4n-6 кислоты, при этом уровень ее метаболического предшественника 18:2n-6 кислоты повысился. Отмеченные колебания в составе данных n-6 ПНЖК отразились на показателе 18:2n-6/20:4n-6 (рис.49), повышение которого указывает на снижение синтеза арахидоновой кислоты у беломорских мидий при действии высоких концентраций нефтепродуктов. Однако, при влиянии пониженной концентрации нефтепродуктов (1,9 мг/л) в дистальной части мантии наблюдался рост концентрации данной кислоты.

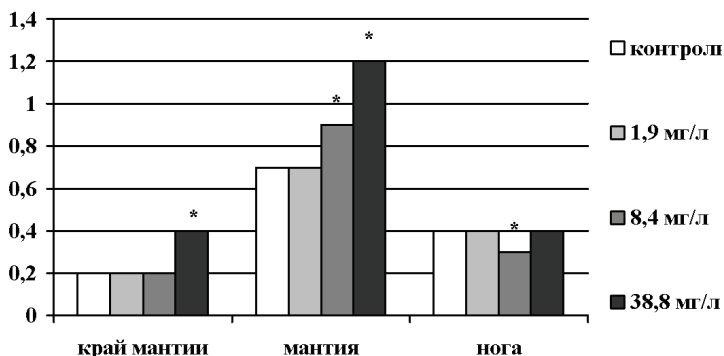


Рис. 49. Изменение показателя 18:2n-6/20:4n-6 у беломорских мидий в ответ на воздействие нефтяного загрязнения.

Примечание к рис. 49. * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем (0,4 мг/л).

На фоне пониженного уровня арахидоновой кислоты при действии 38,8 мг/л концентрации нефтепродуктов необходимо обратить внимание на низкое содержание n-9 ПНЖК, которые, как известно, восполняют недостаток ПНЖК n-3 и n-6 ряда. Кроме того, падение концентрации n-9 МНЖК, главным образом за счет 16:1n-9 и 20:1n-9, может быть связано со сменой пищевого рациона мидий в экспериментальных условиях. Известно, что n-9 кислоты имеют детритное происхождение, а n-3 кислоты, уровень которых значительно повысился в экспериментальных условиях, являются фитопланктонны-

ми. Таким образом, можно заключить, что в условиях эксперимента мидии использовали в качестве источника пищи – фитопланктон, богатый содержанием $n-3$ ПНЖК, а не детритный материал.

В мантии (сагиттальной части мантии) при воздействии высоких концентраций нефтепродуктов (8,4 и 38,8 мг/л) наблюдался значительный рост показателя $18:2n-6/20:4n-6$ в результате падения уровня арахидоновой $20:4n-6$ кислоты (рис.49). Сопоставив данные изменения с теми, которые были отмечены в дистальной части мантии, можно заключить, что повышенные концентрации нефтепродуктов в морской воде подавляют синтез $20:4n-6$ кислоты в мантийной ткани мидий. Вероятно, угнетение данного синтеза является компенсаторным ответом мидий на действие повышенных концентраций нефтепродуктов в морской воде. Важно указать, что при влиянии всех исследованных концентраций нефтепродуктов наблюдался пониженный уровень олеиновой $18:1n-9$ кислоты, а также $n-3$ полиеновых кислот (в основном, $20:5n-3$ и $22:6n-3$, за исключением концентрации нефтепродуктов 38,8 мг/л), что указывает на недостаточное поступление данных кислот извне (табл.16). Возможно, $n-3$ кислоты, накопленные в дистальной части мантии (см. выше), не включаются в общий метаболизм жирных кислот, и поэтому не поступают в сагиттальную часть мантии. По-видимому, в составе клеточных мембран краевой части мантии, которые находятся в непосредственном контакте с загрязненной морской водой, они обеспечивают нормальное их функционирование.

В ноге мидии также были отмечены изменения в составе жирных кислот. Так, заметно снизилась концентрация $n-3$ ПНЖК, главным образом кислот фитопланктонного происхождения – $16:4$ и $22:6$, что указывает на снижение метаболизма $n-3$ кислот в организме мидий, подверженных воздействию нефтепродуктов (табл.16). В результате действия всех указанных концентраций нефтепродуктов, в ноге, как и в мантийной ткани, наблюдалось снижение уровня арахидоновой кислоты на фоне пониженной концентрации линолевой кислоты. Необходимо отметить, что уровень $n-9$ ПНЖК был заметно снижен при влиянии нефтепродуктов с концентрациями равными 8,4 и 1,9 мг/л. Вероятно, данные кислоты

Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов

восполняют недостаток обычных ПНЖК n-3 и n-6 семейств. При влиянии нефтепродуктов (38,8 и 1,9 мг/л) обращают на себя внимание вариации в количестве НЖК, уровень которых заметно повысился (в основном за счет стеариновой 18:0 кислоты), в тоже время наблюдалось падение концентрации ПНЖК. Данные модификации в жирнокислотном составе мидий могут оказывать влияние на стабилизацию клеточных мембран ноги в ответ на действие нефтепродуктов, препятствуя тем самым проникновению их в клетки.

Таблица 16

Жирнокислотный состав некоторых органов субстратных мидий Белого моря при влиянии нефтяного загрязнения

Жирные кислоты (% суммы жирных кислот)	Дистальная часть мантии				Сагиттальная часть мантии				Нога			
	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л	0,4 мг/л (контроль)	1,9 мг/л	8,4 мг/л	38,8 мг/л
14:0	1,0	1,0	1,3	1,2	1,5	1,8*	2,1*	1,7*	1,3	1,2	1,2	1,3
16:0	14,0	13,8	14,3*	14,7*	16,6	15,8*	16,6	16,4	15,0	15,8	14,3*	14,7
18:0	0,7	0,5*	0,8	1,0*	2,3	2,5*	1,8	2,0*	0,8	3,4*	1,0	4,9*
Σ НЖК	16,6	16,1	17,3*	18,6*	21,0	21,1	21,5	21,7	17,9	21,6*	17,4*	22,1*
16:1n-9	0,4	0,2*	0,2*	0,2*	0,3	0,3	0,2*	0,3	0,2	0,6*	0,5*	0,4*
18:1n-9	3,9	4,0	4,2	3,8	3,9	2,3*	3,0*	3,1*	3,5	3,9*	4,2*	3,7
20:1n-9	4,3	3,7*	4,2	3,7*	3,7	3,4	3,6	3,5	4,7	4,1	4,4	4,5
Σ МНЖК	18,8	17,7*	18,6*	17,9*	20,9	19,9*	20,8	19,2*	19,0	19,6	19,4	19,2
16:4	8,6	8,4	7,4	7,5	2,8	2,1*	2,6	3,1*	7,8	5,5*	7,5	4,3*
20:5	11,5	13,1*	12,5*	12,7*	16,4	15,5*	15,5*	16,1	10,7	12,1*	11,5*	11,4*
22:6	17,6	18,0*	16,3	19,3*	19,9	18,4*	17,9*	20,8	17,9	17,1*	16,4*	18,8
Σ n-3 ПНЖК	41,9	43,6*	41,3*	43,6*	44,9	42,8*	43,7*	46,2*	41,8	39,9*	42,8*	39,3*
18:2	1,2	1,3	1,2	1,4*	1,7	2,1*	2,1*	2,2*	1,9	1,7	1,5*	1,6*
20:4	4,9	5,7*	5,1	3,8*	2,5	2,8*	2,2*	1,9*	4,9	4,6*	4,8	4,1*
Σ n-6 ПНЖК	14,1	14,7*	15,6*	13,2	9,5	10,9*	10,0*	9,4	14,4	13,2*	14,6	12,7*
Σ n-9 ПНЖК	7,4	6,9*	6,1	5,3*	2,4	4,1*	2,9	2,3	5,3	5,0*	4,8*	5,7
Σ НМРЖК	1,3	0,9*	1,1	1,4*	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4	0,8*	1,1	1,0*
Σ ПНЖК	64,6	66,1*	64,1*	63,6*	58,0	59,1*	57,7*	59,1*	62,9	58,8*	63,2*	58,7*

Примечание к таблице №15: 0,4 мг/л – относительный контроль; * – различия достоверны (p<0.05) при сравнении с контролем).

Таким образом, при влиянии высоких концентраций нефтепродуктов (8,4 и 38,8 мг/л) установлена ответная реакция на уровне структурных липидов (ФЭА, ФХ, ФИ и ХС) и показателя ХС/ФЛ. Тенденция изменений в содержании фосфолипидов (в основном ФХ и ФЭА) была разнонаправленной в дистальной части мантии и ноге, тогда как альтерации в количестве холестерина были сходными во всех органах. При действии различных концентраций нефтепродуктов на мидий не было обнаружено изменений в составе запасных липидов (ТАГ и ЭХС). Суммарный эффект изменений структурных липидов в отдельных органах свидетельствует об ответной реакции липидного состава мидий, направленной, скорее всего, на компенсацию изменений физико-химического состояния мембран (главным образом, микровязкости), вызванных влиянием высоких концентраций нефтепродуктов. При воздействии низкой концентрации нефтепродуктов (1,9 мг/л) отсутствуют изменения в составе общих липидов и отдельных фракций фосфолипидов всех изученных органов беломорских мидий. Жирнокислотный спектр *Mytilus edulis* при влиянии нефтепродуктов характеризовался пониженными концентрациями арахидоновой кислоты, что, по-видимому, является компенсаторным ответом моллюсков на загрязнение морской воды. Кроме того, колебания в содержании n-3 ПНЖК у мидий, подвергнутых воздействию нефтяного загрязнения, свидетельствуют о перераспределении метаболизма данных полиеновых кислот между исследуемыми органами, а именно дистальной и сагиттальной частями мантии.

Изменения в количественном составе структурных липидов и жирных кислот у мидий может оказывать влияние на активность мембранно-связанных ферментов, а также в метаболизме всей клетки, что позволяет им адаптироваться к высоким концентрациям нефтепродуктов в морской воде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из центральных проблем современной биологии является выяснение молекулярных механизмов функционирования клетки и ее реакций на изменение внешних условий. Особое значение в этих процессах принадлежит липидным молекулам, которые помимо структурной роли, выполняют энергетические и регуляторные функции в клетке и организме в целом. При изменении состава мембранных липидов затрагиваются многие клеточные функции. Рецепторы, белки-переносчики и ферменты, встроенные в мембраны, чувствительны к физико-химическим свойствам липидов, поэтому изменения в активности мембранных белков могут отразиться на многих внутри- и внеклеточных процессах. Более того, липидные молекулы могут выступать в роли вторичных мессенджеров в сигнальной трансдукции, оказывать воздействие на регуляторные белки, и, тем самым, влиять на многие процессы, происходящие в организме.

До настоящего времени липидный состав мидий *Mytilus edulis*, обитающих в Белом море, был практически не исследован. В представленной работе показано, что спектр липидов беломорских мидий определяется исходным местообитанием (литораль и искусственные субстраты марикультуры) и возрастом моллюсков, а также специфичен при распределении по органам. Литоральные моллюски отличаются высоким уровнем структурных липидов, для них не характерны возрастные различия в составе липидов. У субстратных *Mytilus edulis* заметно выше концентрация запасных липидов. Кроме того, у них показаны возрастные особенности липидного спектра, отражающие, по-видимому, разный уровень метаболизма мидий в исследуемом возрастном ряду. Значительные различия в составе липидов у беломорских мидий являются частью общей адаптивной стратегии каждой группы моллюсков (литоральной и субстратной) к исходным условиям окружающей сре-

ды. Органоспецифичность в распределении липидов у *Mytilus edulis* определяется, по-видимому, характерными функциями изученных органов у двустворчатых моллюсков.

Липиды, как уже указывалось выше, благодаря большому спектру функций, выполняемых в организме, играют важную роль в процессах адаптации животных к различным факторам среды обитания. Наряду с температурным воздействием, соленость является основным фактором среды обитания морских животных, который отражается на многих процессах жизнедеятельности организма. Водные обитатели обладают комплексом адаптаций к температурным и солёностным вариациям в окружающей среде, однако, воздействие солёности изучено в меньшей степени. Так, в литературе большое внимание уделено механизмам адаптаций, в том числе на уровне липидного состава, к различной солёности у осморегулирующих организмов. В тоже время, работ, посвященных изучению компенсаторных изменений в составе липидов у животных, не способных регулировать собственное осмотическое давление (т.н. осмоконформеров), сравнительно мало, а имеющиеся в них сведения противоречивы. Результаты проведенных аквариальных экспериментов по влиянию различной солёности свидетельствуют о значимых изменениях в составе липидов жабр, ноги, дистальной и сагиттальной частей мантии беломорских *Mytilus edulis*. Обнаружено, что компенсаторный ответ мидий на уровне липидного состава органоспецифичен. Он во многом отражает участие ряда органов, в особенности жабр и мантийной ткани, в процессе акклимации целого организма к различной солёности морской воды. Более того, ответная реакция на уровне липидного состава зависит от исходного местообитания (литораль и искусственные субстраты), стадии репродуктивного цикла моллюсков, а также от степени влияния фактора (критические или умеренные значения солёности). Альтерации в составе липидов у литоральных и субстратных мидий свидетельствуют о поддержании оптимальной жидкостности биологических мембран, возрастании энергетических затрат в организме, а также об участии физиологически активных липидных компонентов в процессе акклимации моллюсков к различной солёности морской воды.

Помимо температуры и солености, важным фактором, воздействующим на прибрежных обитателей, каковыми являются беломорские литоральные мидии, служат приливно-отливные циклы. Известно, что при отливе моллюски изолируются от негативного воздействия безводной среды с помощью закрытия створок. В это время мидии испытывают влияние краткосрочной аноксии. Многочисленные исследования показали, что двустворчатые моллюски выработали набор адаптаций на различных уровнях организации к данному фактору, однако, модификации липидного состава описаны в меньшей степени. В настоящей работе установлено, что компенсаторный ответ на уровне липидного состава, затрагивающий большинство исследуемых липидных компонентов, направлен на поддержание жизнеспособности организма мидий в анаэробных условиях. Выявлены схожие черты в модификациях на уровне липидного состава беломорских мидий в ответ на действие различной солености и краткосрочной аноксии.

Одним из основных загрязняющих факторов морской среды обитания являются нефтепродукты. В экспериментах показано, что двустворчатые моллюски обладают рядом адаптивных механизмов, способствующих их выживанию при различных токсических воздействиях. Показано, что накопление и воздействие липофильных органических загрязняющих веществ, в том числе и компонентов нефти, на моллюсков зависит от содержания липидов в организме. Несмотря на то, что воздействию химического загрязнения на липидный состав двустворчатых моллюсков посвящено достаточно много работ, они не позволяют всесторонне оценить воздействие данного фактора на организм животного. Хотя, известно, что первичный ответ на действие различных факторов среды происходит, главным образом, на уровне клеточных мембран, основное внимание уделяется роли запасных липидных компонентов. Результаты исследований реакции беломорских мидий на уровне липидного состава в ответ на действие различных концентраций нефтепродуктов свидетельствуют о развитии компенсаторных изменений в составе липидов моллюсков. Основные модификации отмечены в отношении мембранных липидов и жирных кислот.

Таким образом, модификации липидного состава (на уровне ОЛ, ТАГ, ХС, ФЛ и их отдельных фракций, жирнокислотного спектра) литоральных и субстратных мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при влиянии таких факторов среды обитания, как соленость, краткосрочная аноксия и загрязнение нефтепродуктами отражают развитие компенсаторных реакций липидного метаболизма у исследованных морских беспозвоночных. Необходимо отметить, что требуются дальнейшие исследования для установления механизмов развития компенсаторных реакций у беломорских мидий в ответ на действие выше указанных факторов окружающей среды. На следующем этапе исследований необходимо оценить не только изменения липидного состава, но и реакцию ферментов липидного, углеводного и белкового обменов, которые принимают непосредственное участие в адаптациях организма к стрессовым условиям окружающей среды. Кроме того, спектр факторов, оказывающих влияние на метаболизм водных организмов, в том числе на липидный обмен, не ограничивается описанными в настоящей работе. Известно, что содержание липидов у водных организмов зависит не только от воздействия абиотических факторов, но также может определяться биотическими взаимоотношениями (например, конкурентными отношениями в сообществах обрастаний, взаимоотношениями паразит-хозяин и др.). Немаловажную роль в загрязнении морских акваторий играют тяжелые металлы, которые представляют собой наиболее распространенные токсиканты для многих организмов, в том числе для двустворчатых моллюсков. Поэтому при дальнейших исследованиях беломорских моллюсков, в особенности мидий *Mytilus edulis*, необходимо обратить внимание на влияние биотических факторов среды, а также расширить круг антропогенных воздействий.

Литература

Алексеева Н.Н. Содержание липидов у мидий *Mytilus edulis* L. при разной солености среды // Вестник молодых ученых. Серия: «Науки о жизни». 2004. № 2. С. 77–82.

Алимова Е. К., Аствацатурьян А. Т., Жалов Л. В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. М. 1975. 112 с.

Алякринская И.О. Устойчивость к обсыханию водных моллюсков // Известия АН. Серия биологическая. 2004. № 3. С. 362–374.

Амелина В.С. Кислые нуклеазы и их роль в приспособительных реакциях водных организмов // Автореф...канд. дисс., Петрозаводск. 2006. 26 с.

Бабков А.И., Голиков А.Н. Гидробиокомплексы Белого моря. Л. 1984. 104 с.

Белое море. Биологические ресурсы и проблемы их рационального использования. В серии: исследование фауны морей. Вып. 42(50). СПб. 1995 (в 2-х частях).

Бергер В.Я., Луканин В.В. Адаптивные реакции мидий Белого моря на изменение солености среды // Исследование мидий Белого моря. Ленинград. 1985.

Бергер В.Я. Адаптации морских моллюсков к изменениям солености среды. Л.: Наука. 1986. 214 с.

Бергер В.Я. О минимальных сроках запуска процессов фенотипической адаптации // Доклады академии наук. 2005. Т. 400. № 4. С. 567–570.

Бергер В.Я., Луканин В.В. О механизме вертикального распределения беломорских моллюсков *Mytilus edulis* и *Littorina saxatilis* – В кн: Промысловые двустворчатые моллюски- мидии и их роль в экосистемах. Л. 1979. С. 16–18.

Болдырев А.А. Матриксная функция биологических мембран // Соровский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 7. С. 2–8.

Болдырев А.А. Na/K-АТФаза – свойства и биологическая роль // Соровский образовательный журнал. 1998. № 4. С. 2–9.

Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. 1985. М.: МГУ. 167 с.

Болдырев А.А., Кяйвярайнен Е.И., Илюха В.А. Биомембранология: Учебное пособие. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2006. 226 с.

Бондарева Л.А. Активность внутриклеточных протеолитических ферментов в мантии мидии *Mytilus edulis* при изменении солености среды // Вестник молодых ученых. Серия: Науки о жизни. 2004. № 2. С. 83–87.

Бондарева Л.А., Немова Н.Н., Кяйвяряйнен Е.И. Внутриклеточная Ca^{2+} – зависимая протеолитическая система животных. М.: Наука. 2006. 294 с.

Васильева О.Б., Мещерякова О.В. Некоторые особенности липидного и углеводного обменов мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря в условиях краткосрочной гипоксии // Актуальные проблемы биологии и экологии. Сыктывкар. 2003. С. 45–47.

Вестхайд В., Ригер Р. Зоология беспозвоночных. Том 1: от простейших до моллюсков и артропод. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2008. 512 с.

Вехова Е.Е. Функциональная морфология и физиология трех видов митилид (*Bivalvia*) из Японского моря в связи с особенностями их пространственного распределения // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 2007. 23 с.

Виноградова З. А. Биохимия морских организмов. Киев. 1967. С. 167.

Владимиров Ю.А. Кальциевые насосы живой клетки // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 3. С. 20–27.

Высоцкая Р.У., Ломаева Т.А., Тахшеев С.А., Амелина В.С., Бахмет И.Н. Активность лизосомальных и некоторых других ферментов в тканях мидий при разном уровне солености // Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря. Петрозаводск: Издательский дом ПИН. 2005. С. 72–75.

Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука. 2008. 284 с.

Гаузе Г.Ф. Экологическая приспособляемость // Усп. Совр. Биол. 1941. Т. 14. № 2. С. 227–242.

Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции: Пер. с англ. – М.: Мир, 1997. 624 с.

Гершанович А.Д., Лапин В.И., Шатуновский М.И. Особенности обмена липидов у рыб // Успехи совр. биологии. 1991. Вып. 2. Т. 111. С. 207–219.

Голиков А.Н., Смирнова Н.Ф. Устойчивость некоторых видов брюхоногих и двустворчатых моллюсков губы Чупа (Белое море) к экстремальным воздействиям в связи с проблемой эволюции резистентности. В кн: Сезонные явления в жизни Белого и Баренцева морей. Л. 1974. С. 307–319.

Грибанов Г.А. О метаболических взаимоотношениях липидов // Успехи современной биологии. 1979. т.87. вып.1. С. 16–33.

Громосова С.А., Шапиро А.З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1984. 120 с.

Гудимов А.В. Исследования мидий Баренцева моря: от теории к практике <http://www.kolasc.net.ru/russian/innovation/ksc75/3.3.5.pdf>

Гурин В.Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке. Минск. 1986. 192 с.

Дембицкий В.М. Плазмалогены в фосфолипидах морских беспозвоночных // Биология моря. 1979. 5. С. 86–90.

Дембицкий В.М., Васьковский В.Е. Распределение плазмалогенов в различных классах фосфолипидов морских беспозвоночных // Биология моря. 1976. 5. С. 68–72.

Добрынина В.И. Биологическая химия. Москва. 1976. 504 с.

Дятловицкая Э.В. Фосфолипиды опухолей // Липиды. Структура, биосинтез, превращения и функции. 1977. М. С. 53–57.

Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В. Липиды как биоэфффекторы. Введение // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 3–5.

Еляков Г.Б., Стоник В.А. Стероиды морских организмов. М.: Наука. 1988. 207 с.

Жукова Н.В. Жирные кислоты морских организмов: таксономические и трофические маркеры // Автореф. дисс....докт. биол. наук. 2009. Владивосток. 49 с.

Жукова Н.В. Неметиленразделенные жирные кислоты морских двустворчатых моллюсков: распределение по тканям и классам липидов // Ж. эволюц. биохим. и физиол. 1992. Т. 28. № 4. С. 434–440.

Захарцев М.В., Науменко Н.В., Челомин В.П. Неметиленразделенные жирные кислоты в фосфолипидах мембран мидии *Crenomytilus grayanus* // Биология моря, 1998. Т. 24. № 3. С. 183–186.

Золотарев В.Н. Склерохронология морских двустворчатных моллюсков. 1989. Киев.: Наукова думка. 112 с.

Иванов В.Н., Холодов В.И., Сеничева М.И., Пиркова А.В., Булатов К.В. Биология культивируемых мидий. Киев.: Наукова думка, 1989, 100 с.

Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного биосля. М. 1981. 211 с.

Кагава Я. Биомембраны 1985. Москва. 303 с.

Кандюк Р.П., Морозова Р.П., Канивец В.Н. Липидный состав мидий // Рыбное хозяйство. 1993. № 5. С. 31.

Кандюк Р.П. Содержание стеринов у массовых беспозвоночных // Биохимическая характеристика беспозвоночных северо-западного шельфа Черного моря. Киев.: Наукова думка. 1979. С. 77–102.

Кандюк Р.П. Стерины мидий, выросших на искусственных и естественных субстратах // Гидробиол. журн. 1987. Т. 23. № 1. С. 70–76.

Кандюк Р.П. Стерины моллюсков и их функциональная роль (Обзор) // Гидробиол. Журн. 2006. Т. 42. № 1. С. 62–74.

Карнаухов В.Н. Роль моллюсков с высоким содержанием каротиноидов в охране водной среды от загрязнения. Пушино, 1978 (препринт). 78 с.

Карнаухов В.Н. Функции каротиноидов в клетках животных. М.: Наука. 1973. 103 с.

Кашин А.Г. Влияние солености среды обитания на состав липидов некоторых водных беспозвоночных // Автореф. дисс... канд. биол. наук. Самара. 1997, 17 с.

Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы. Обзор // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 6–15.

Коломийцева И.К., Перепелкина Н.И., Патрушев И.В., Попов В.И. Роль липидов в сборке эндоплазматического ретикулума и диктиосом нейрональных клеток коры головного мозга якутского суслика *Citellus undulatus* при гибернации // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 7. С. 954–967.

Константинов А.С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа. 1989. С. 217–230.

Костецкий Э.Я. Фосфолипидные состав щетинкочелюстных как показатель уровня эволюционного развития // Биология моря. 1985. Т. 2. С. 77–78.

Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л. 1981. 339 с.

Крутецкая З.И., Лебедев О.Е. Арахидоновая кислота и её продукты: пути образования и метаболизма в клетках // Цитология. 1993. Т. 35. № 11/12. С. 3–27.

Кулаковский Э.Е. Биологические основы марикультуры мидий в Белом море. СПб. 2000. 168 с.

Кулачкова В.Г., Гроздилова Т.А. Паразиты съедобной мидии (*Mytilus edulis* L.) и их патогенное значение // Исслед. фауны морей, 27 (35). Экологические исследования перспективных объектов марикультуры фауны Белого моря. Л. 1982. С. 25–35.

Кучеренко Н.Е., Блюм Я.Б. Роль мембранных фосфоинозитидов в опосредовании гормональных эффектов // Украинский биохимический журнал. 1986. Т. 58. № 1. С. 86–101.

Кяйвярйянен Е.И., Нефедова З.А., Бондарева Л.А., Алексеева Н.Н., Немова Н.Н. Корреляция активности кальцийактивируемых протеиназ и содержания холестерина в мембранах мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солёности среды обитания // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2005. Т. 140. № 10. С. 457–460.

Лапин В.И., Шатуновский М.И. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб // Успехи совр. биологии. 1981. вып. 3(6). Т. 92. С. 380–394.

Латышев Н.А., Хардин А.С., Кияшко С.И. Жирные кислоты как маркеры пищевых источников морских звезд // Докл. Акад. Наук. 2001. Т. 380. № 5. С. 1–3.

Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Холестериноз. М.: Медицина. 1985. 151 с.

Лось Д.А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 163–198.

Луканин В.В., Гурина В.И. Адаптивные реакции мидий из Белого моря на изменение температуры и солёности внешней среды // Биология моря. 1977. № 2. С. 46–50.

Луканин В.В., Лангуев Н.К. Распределение и экология локального поселения мидий (*Mytilus edulis* L.) на беломорской литорали. – В кн: Экологические исследования перспективных объектов марикультуры фауны Белого моря. Л. 1982. С. 17–24.

Максимович Н.В. Репродуктивный цикл *Mytilus edulis* L. в губе Чупа // Исследование мидий Белого моря. Сб. научных трудов. Ленинград. 1985. С. 22–34.

Маслов Ю.И. Фитопланктон в питании мидий при ее культивировании в Белом море // Вестн. СПб. университета. Сер 3. 1999. №1. С. 57–60.

Мещерякова О.В., Груздев А.И., Немова Н.Н. Влияние гипоксии и солёности на активность ферментов углеводного обмена мидий *Mytilus edulis* Белого моря // Тез. докл. Междунар. Конф. «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов европейского севера» Сыктывкар: УрО Коми НЦ РАН, 2003. С. 43.

Наточин Ю.В. Водно-солевой гомеостаз: эволюция и экология. Сыктывкар: Коми филиал АН СССР. 1982. 48 с.

Наточин Ю.В. Транспорт воды и натрия в осморегулирующих организмах: Автореф. дис. ... доктора биол. наук. Л.. 1967. 35 с.

Наумов А.Д. Двустворчатые моллюски Белого моря. СПб. 2006. 367 с.

- Наумов А.Д., Федяков В.В. Вечно живое Белое море. СПб. 1993. 336 с.
- Немова Н.Н., Болотников И.А. Введение в экологическую биохимию. Петрозаводск.: Изд-во ПетрГУ. 1994. 76с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 2004. 215 с.
- Озернюк Н.Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов. М.: Изд-во МГУ. 2003. 215 с.
- Плотицина Н.Ф., Киреева Л.И. Содержание загрязняющих веществ в гидробионтах Баренцева моря // Доклады о результатах научной работы ПИНРО в 1995. Мурманск.: ПИНРО. 1996. С. 168–191.
- Покровский А.А., Крыстев Л.П. Печень, лизосомы и питание. София, 1977. 207 с.
- Полякова Э.Д. Регуляция содержания холестерина в клетке / Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М. 1981. С. 120–127.
- Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаева А.А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 38–46.
- Проссер Л. Сравнительная физиология животных. М.: Мир. 1977. Т. 1. 608 с.
- Рабинович А.Л. Температурная зависимость конформационных свойств олигомерных цепей природных липидов: компьютерное моделирование // Биофизика. 2008. Т. 53. Вып. 3. С. 426–433.
- Рабинович А.Л., Рипатти П.О. Полиненасыщенные углеводородные цепи липидов: структура, свойства, функции // Усп. Совр. Биол. 1994. Т. 114. Вып. 5. С. 581–594.
- Ромашина Н.А. Морские беспозвоночные как источник эйкозапентаеновой и других полиеновых кислот // Биология моря. 1983. № 3. С. 66–68.
- Ромашина Н.А., Жукова Н.В., Шеина В.П. Липиды и жирные кислоты съедобной мидии, выращиваемой в заливе Восток Японского моря // Биол. моря. 1987. № 3. С. 14–17.
- Сергеева М.Г., Варфоломеева А.Т. Каскад арахидоновой кислоты. М.: Народное образование. 2006. 256 с.
- Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб: Липиды. Л.: Наука. 1983. 240 с.
- Скулачев В.П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. М.: Высшая школа. 1989. 271 с.
- Смирнов Л.П., Богдан В.В. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. М.: Наука. 2007. 182 с.

Соколова М.Н. Условия существования и биоценотические связи массовых видов беспозвоночных эпифауны литорали Кандалакшского залива // Тр. Кандалакшск. Гос. Запов., 1963, т. IV, с. 69–113.

Степанов А.Е., Краснопольский Ю.М., Швец В.И. Физиологически активные липиды. М. 1991. С. 63–65.

Сухотин А.А., Кулаковский Э.Е., Максимович Н.В. Линейный рост беломорских мидий при изменении условий обитания // Экология. 1992. № 5. С. 71–77.

Ткач Н.П. Роль липидов в эколого-биохимических адаптациях литоральных гаммарид Белого моря // Автореф. ...канд. биол. наук. Петрозаводск. 2007. 23 с.

Ткачук В.А. Фосфоинозитидный обмен и осцилляция ионов Ca^{2+} (обзор) // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 47–56.

Тойвонен Л.В., Нефедова З.А., Сидоров В.С., Шарова Ю.Н. Адаптационные изменения в спектрах жирных кислот тканевых липидов сига *Coregonus lavaretus* L. при влиянии антропогенных нагрузок // Прикладная биохимия и микробиология. 2001. Т. 37. № 3. С. 364–368.

Ушева Л.Н., Ващенко М.А., Дуркина В.Б. Гистопатология пищеварительной железы двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) из юго-западной части залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2006. Т. 32. № 3. С. 197–203.

Федяков В.В. Закономерности распределения моллюсков Белого моря. 1986. Л.: ЗИН. 127 с.

Фокина Н.Н. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Дисс.... канд. биол. наук. 2007, 157 с.

Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н., Халаман В.В. Модулирующая роль липидов и их жирных кислот в адаптациях мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солёности // Журнал эволюционной физиологии и биохимии. 2007. Т. 43. № 4. С. 317–323.

Халаман В.В. Развитие сообществ обрастания и взаимоотношения между организмами – обрастателями в Белом море // Автореф. дисс... докт. биол. наук. 2008, СПб, 48 с.

Харазова А.Д., Бергер В.Я. Изменения синтеза РНК в тканях моллюска *Littorina littorea* при понижении солёности среды // Цитология. 1974. Т. 16. № 2. С. 241–243.

Харазова А.Д., Бергер В.Я. Роль пластического обмена в солёностных адаптациях осмоконформеров // В кн: I Всесоюз. Конф. По морской биологии. Владивосток. 1977. С. 146–147.

Харазова А.Д., Бергер В.Я., Фатеева В.И., Ярославцева Л.М., Ярославцев П.В. Влияние солености среды на динамику синтеза белка в изолированных жабрах мидии Грея // Биология моря. 1981. № 6. С. 55–60.

Хардин А.С., Айздайчер Н.А., Латышев Н.А. Изменения в составе жирных кислот моллюска *Mytilus edulis* связанные с питанием микродорослями // В сб. тез. докл. «V региональная конференция по актуальным проблемам экологии, морской биологии и биотехнологии». 2002. Владивосток: ДГУ. С. 119–121.

Хлебович В.В. Адаптации особи и клона: механизмы и роли в эволюции // Успехи современной биологии. 2002. Т. 122. № 1. С. 16–25.

Хлебович В.В. Акклимация животных организмов. Л. 1981. 135 с.

Хлебович В.В. Критическая соленость биологических процессов. Л. 1974. 203 с.

Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир. 1988. 586 с.

Цюпко А.Н., Дудник Л.Б., Евстигнеева Р.П., Алесенко А.В. Влияние восстановленной и окисленной форм глутатиона на активность сфингомиелиназы и содержание сфингомиелина и продуктов пероксидного окисления липидов в печени мышей // Биохимия. 2001. Т. 66. Вып. 9. С. 1263–1270.

Шарова И.Х. Зоология беспозвоночных. М.: Владос. 2002. 592 с.

Шахматова Е.И., Бергер В.Я., Наточин Ю.В. Катионы в тканях моллюсков при резких отличиях осмоляльности гемолимфы // Известия РАН, серия биологическая. 2006. № 3. С. 337–344.

Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи совр. Биологии. 1993. Вып. 5. Т. 113. С. 576–586.

Шульман Г.Е., Юнева Т.В. Роль докозагексаеновой кислоты в адаптациях рыб (Обзор) // Гидробиологический журнал. 1990. 26. С. 43–51.

Щербань С.А., Вялова О.Ю. Влияние краткосрочной гипоксии на некоторые ростовые показатели черноморской мидии в условиях дефицита пищи // Экология моря. 2001. Вып. 58. С. 57–59.

Ярославцева Л.М., Жирмунский А.В. Приспособления морских беспозвоночных к изменениям солености // Биология моря. 1978. № 2. С. 3–21.

Ackman R.G., Epstein S., Kelleher M. A composition of lipids and fatty acids of the ocean quahaug, *Arctica islandica*, from Nova Scotia and New Brunswick // J. fish. res. board Can. 1974. Vol. 31(11), p. 1803–1811.

Ackman R.G., Hooper S.N. Non-methylene-interrupted fatty acids in lipids of shallow-water marine invertebrates: a comparison of two molluscs (*Littorina littorea* and *Lunatia triseriata*) with the sand shrimp (*Crangon septemspinosus*) // *Comp biochem Physiol.* 1973. V. 46B. P. 153–165.

Anderson R.S. Benzo(a)pyrene metabolism in the American oyster *Crassostrea virginica* // *EPA Ecol. Res. Ser. Monogr.* 1978. EPA-600/3-78-009.

Anwar N.A., Richardson C.A., Seed R. Age determination, growth rate and population structure of the horse mussel *Modiolus modiolus* // *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 1990. vol. 70. P. 441–457.

Arts M.T., Wainman B.C. *Lipids in Freshwater Ecosystems.* 1998. Springer. New York. 319 p.

Awad H. Determination of rate of hydrocarbon accumulation by mussels in chronic pollution conditions // *Science et Peche.* 1979. Vol. 291. P. 9–15.

Babili M., Brichon G., Zwingelstein G. Sphingomyeline metabolism is linked to salt transport in the gills of euryhaline fish // *Lipids.* 1996. 31(4). P. 385–392.

Bacchiocchi S., Principato G. Mitochondrial contribution to metabolic changes in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* during anaerobiosis // *J. Exp. Zool.* 2000. Vol. 286. P. 107–113.

Bakhmet I.N., Fokina N.N., Nefedova Z.A., Nemova N.N. Physiological-biochemical properties of blue mussel *Mytilus edulis* adaptation to oil contamination // *Environmental Monitoring and Assessment.* 2008 (статья в печати; первичная он-лайн публикация на сайте журнала <http://www.springerlink.com/content/qgx53837714932v5/fulltext.pdf>).

Bayne B.L. *Marine mussels: their ecology and physiology.* Cambridge University Press, New York. 1976. 506 p.

Bayne B.L., Widdows J., Moore M.N., Salkeld P., Worrall C.M., Donkin P. Some ecological consequences of the physiological and biochemical effects of petroleum compounds on marine mollusks // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1982. Vol. 297. P. 219–239.

Bell M.V., Henderson R.J., Sargent J.R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish // *Comp Biochem Physiol B.* 1986. 83(4), p. 711–719.

Bergen B.J., Nelson W.G., Quinn J.G., Jayaraman S. Relationships among total lipid, lipid classes, and polychlorinated biphenyl concentrations in two indigenous populations of ribbed mussels (*Geukensia demissa*) over an annual cycle // *Environmental toxicology and chemistry.* 2001. Vol. 20. № 3. P. 575–581.

Berger V. Cultivation and introduction of commercial species // *Berger V., Dahle S., Galaktionov K., Kosobokova X., Naumov A., Rat'kova T., Savinov V., Savinova T.* White sea. Ecology and environment. 2001. Derzavets Publisher. St. Petersburg-Tromso. 157 p.

Bergmann W. Sterols: their structure and distribution // *Comp. Biochem. Ed. M. Florkin, H.S. Mason.* 1962. №3. N.Y.: Acad. Press. P. 103–162.

Bertoli E., Ambrosini A., Zolese G., Gabbianelli R., Fedeli D., Falcioni G. Biomembrane perturbation induced by xenobiotics in model and living system // *Cell biol mol lett.* 2001. Vol. 6. issue 2A. P. 334–339.

Besnard J-Y., Lubet P., Nouvelot A. Seasonal variations of the fatty acid content of the neutral lipids and phospholipids in the female gonad of *Pecten maximus* L // *Comp. Biochem. Physiol. B.* 1989. Vol. 93. P. 21–26.

Bloomfield D.K., Bloch K. The formation of Δ^9 -unsaturated fatty acids // *J. Biol. Chem.* 1960. Vol. 235. P. 337–338.

Bloomfield D.K., Bloch K. The role of oxygen in the biosynthesis of unsaturated fatty acids // *J. Biochim et Biophys. acta.* 1958. Vol. 30. P. 220–223.

Borgatti A.R., Pagliarani A., Ventrella V., Manuzzi M.P., Trombetti F., Pirini M. Na,K-ATPase and other parameters in bivalve molluscs from the Adriatic sea under different environmental conditions // *Vet.Res.Com.* 2003. 27 (1), p. 207–210.

Brett M.T., Muller-Navarra D.C. The role of fatty acids in aquatic foodweb processes // *Freshwater Biology.* 1997. Vol. 38. P. 483–499.

Brinkhoff W., Stockmann K., Grieshaber M. Natural occurrence of anaerobiosis in molluscs from intertidal habitats // *Oecologia.* 1983. 57. P. 151–155.

Brockerhoff H. Stereospecific analysis of triglycerides. // *Lipids.* 1971. 6. P. 942–956.

Brockerhoff H., Hoyle R.J., Hwang P.C., Litchfeld C. Positional distribution of fatty acids in depot triglycerides of aquatic animals // *Lipids.* 1968. 3. P. 24–29.

Brockerhoff H., Hoyle R.J., Wolmark N. Positional distribution of fatty acids in triglycerides of animal depot fats // *Biochim. Biophys. Acta.* 1966. 116. P. 67–72.

Brooks S.P.J., Storey K.B. Glycolytic controls in estivation and anoxia: a comparison of metabolic arrest in land and marine mollusks // *Comp. Biochem. Physiol. A.* 1997. Vol. 118. P. 1103–1114.

Burnett L.E., Stickle W.B. Physiological Responses to Hypoxia // *Coastal Hypoxia: Consequences for Living Resources and Ecosystems. Coastal and Estuarine Studies.* 2001. P. 101–114.

Busa W., Nuccitelli R. Metabolic regulation via intracellular pH // *Am. J. Physiol.* 1984. Vol. 246. P. R409-R438.

Byrne R.A., Dietz T.H. Ionic and acid-base consequences of exposure to increased salinity in the Zebra mussel, *Dreissena polymorpha* // *Biol. Bull.* 2006. 211. P. 66–75.

Caldwell R.S., Rosene B.A., Calderone E.M. Fatty acid composition of phospholipids in thermally acclimating sculpins *Leptocottus armatus* treated with polychlorinated biphenyls Aroclor 1254. In: Vernberg W.B., Thurberg F., Calabrese A., Vernberg F.J. (eds) *Marine pollution: functional responses*. 1979. Academic Press. New York. P. 271–290.

Cancio I., Ibabe A., Cajaraville M.P. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxysomal structure in mussela *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content // *Comp Biochem C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 1999. 123(2), p. 135–144.

Capuzzo J.M. Predicting pollution effects in the marine environment // *Oceanus.* 1981. vol. 24. issue1. P. 25–33.

Capuzzo J.M., Lancaster B.A., Sasaki G.C. The effects of petroleum hydrocarbons on lipid metabolism and energetics of larval development and metamorphosis in American lobster *Homarus americanu* Milne Edwards // *Mar. Environ. Res.* 1984. Vol. 14. P. 201–228.

Capuzzo J.M., Leavitt D.F. Lipid composition of the digestive glands of *Mytilus edulis* and *Carcinus maenas* in response to pollutant gradients // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1988, vol. 46, p. 139–145.

Caramujo M-J., Boschker H.T.S., Admiraal W. Fatty acid profiles of algae mark the development and composition of harpacticoid copepods // *Freshwater Biology.* 2008. Vol. 53. P. 77–90.

Chapelle S. Influence of salinity on the lipid composition and fatty-acid pattern of muscle and hepatopancreas of yhe Chinese crab *Eriocheir sinensis* // *Arch Int Physiol Biochim.* 1978 May. 86(2). P. 393–401.

Chapelle S. Plasmalogens and O-alkylglycerolphospholipids in aquatic animals // *Comp. Biochem Physiol B.* 1987. 88(1), p. 1–6.

Chetty A.N., Indira K. Alterations in the tissue lipid profiles of *Lamellidens marginalis* under ambient ammonia stress // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1994. Vol. 53. P. 693–698.

Chihib N.E., Tierney Y., Mary P., Hornez J.P. Adaptational changes in cellular fatty acid branching and unsaturation of *Aeromonas* species as a response to growth temperature and salinity // *Int J Food Microbiol.* 2005. 102(1). P. 113–119.

Choiseul V., Wilson J.G., Nixon E. The distribution of hydrocarbons on the east and south-west Irish coasts and in the Liffe estuary // *Biol. and Environ. Proceed. of the RIA.* 1998. Vol. 98B. issue 2. P. 75–86.

Christ E.J., Van Dorp D.A. Comparative aspects of prostaglandin biosynthesis in animal tissues // *Biochim.Biophys.Acta.* 1972. Vol. 270. P. 537–545.

Christie W.W., www.lipidlibrary.co.uk.

Chu F.L., Webb K.L., Chen J. Seasonal changes of lipids and fatty acids in oyster tissues (*Crassostrea virginica*) and estuarine particulate matter // *Comp. Biochem. Physiol. A.* Vol. 95. P. 385–391.

Clark R.C., Finley J.S. Acute effects of outboard motor effluent on two marine shellfish // *Environ. Sci. Technol.* 1974. Vol. 8. P. 1009–1014.

Collier T.K., Krahn M.K., Malins D.C. The disposition of naphthalene and its metabolites in the brain of rainbow trout (*salmo gairdneri*) // *Environ. Res.* 1980. Vol. 23. P. 35–41.

Cooper R.A., Shattil S.J. Membrane cholesterol: is enough too much? // *New Engl. J. Med.* 1980. Vol. 302. P. 49–51.

Copeman L.A., Parrish C.C. Lipid (corrected) classes, fatty acids, and sterols in seafood from Gilbert Bay, southern Labrador // *J Agric Food Chem.* 2000 Jul 28. 52(15). P. 4872–4881.

Cordier M., Brichon G., Weber J.M., Zwingelstein G. Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sae bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Role of environmental temperature and salinity // *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2002. 133(3). P. 281–288.

Couch J.A. Atrophy of diverticular epithelium as an indicator of environmental irritants in the oyster, *Crassostrea Virginica* // *Mar. Environ. Res.* 1984. Vol. 14. P. 525–526.

Danevcic T., Rilfors L., Strancar J., Lindblom G., Stopar D. Effects of lipid composition on the membrane activity and lipid phase behaviour of *Vibrio* sp. DSM14379 cells grown at various NaCl concentrations // *Biochim Biophys Acta.* 2005 Jun 15. 1712(1). P. 1–8.

Darsie J., Gosha J.K., Holman R.T. Induction of abnormal fatty acid metabolism and essential fatty acid deficiency in rats by dietary DDT // *Arch. Biochem. Biophys.* 1976. Vol. 175. P. 262–269.

Davenport J. Osmotic control in marine animals // *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1985. 39. P. 207–244.

David E., Tanguy A., Pichavant K. and Moraga D. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions // *FEBS Journal.* 2005. 272. P. 5635–5652.

Davis J.P., Wilson J.G. Seasonal changes in tissue weight and biochemical composition of the bivalve *Nucula turgida* in Dublin Bay with reference to gametogenesis // *Neth. J. Sea Res.* 1983. 17. P. 84–95.

De La Parra A.M., Garcia O., San Juan F. Seasonal variations on the biochemical composition and lipid classes of the gonadal and storage tissues of *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle // *Journal of Shellfisheries Research.* 2005. Vol. 24 issue 2. P. 457–467.

De Moreno J.E., Moreno V.J., Brenner R.R. (a) Lipid methabolism of the yellow clam, *Mesodesma macroides*: I. Composition of the lipids // *Lipids.* 1976 № 4. P. 334–340.

De Moreno J.E., Moreno V.J., Brenner R.R. (6) Lipid methabolism of the yellow clam, *Mesodesma macroides*: II. Polyunsaturated fatty acid methabolism // *Lipids.* 1976 № 7. P. 561–566.

De Vooy C.G., Geenevasen J.A. Biosynthesis and role in osmoregulation of glycine-betaine in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk // *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2002 Jun. 132(2). P. 409–414.

De Zwaan A. Anaerobic energy metabolism in bivalve mollusks // *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 1977. Vol. 15. P. 103–187.

De Zwaan A., Khuytmans J.H., Zandee D.I. Facultative anaerobiosis in molluscs // *Biochem Soc Symp.* 1976. (41). P. 133–168.

De Zwaan A., Putzer V. Metabolic adaptations of intertidal invertebrates to environmental hypoxia (a comparison of environmental anoxia to exercise anoxia) // *Symp Soc Exp Biol.* 1985. 39. P. 33–62.

Dembitsky V.M., Kashin A.G., Stefanov K. Comparative investigation of phospholipids and fatty acids of freshwater molluscs from the Volga river basin // *Comp Biochem Physiol B.* 1992 May. 102(1). P. 193–198.

Demers A., Guderley H. Acclimatization to intertidal conditions modifies the physiological response to prolonged air exposure in *Mytilus edulis* // *Marine biology.* 1994. 118. P. 115–122.

Di Paolo G., de Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics // *Nature.* 2006 Oct 12. 443(7112). P. 651–657.

Diakoku T., Yana J., Mazui H. *Comp. Biochem. and Physiol. A.* 1982. Vol. 73. № 2. P. 167.

Donkin P., Widdows J., Evans S.V., Worral C.M., Carr M. Quantitative structure-activity relationships for the effect of hydrophobic chemicals on rate of feeding by mussels (*Mytilus edulis*) // *Aquat. Toxicol.* 1990. Vol. 14. P. 277–294.

Dunn B.P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments, bivalves, and seaweeds: analysis by high-pressure liquid chromatography. In:

A. Bjorseth, A.J. Dennis (eds) Proceedings of the fourth international symposium on polynuclear aromatic hydrocarbons. 1980. Battelle Press. Columbus. Ohio. P. 367–377.

Dyrynda E.A., Law R.J., Dyrynda P.E.J., Kelly C.A., Pipe R.K., Ratcliffe N.A. Changes in immune parameters of natural mussel *Mytilus edulis* populations following a major oil spill (“Sea Empress”, Wales, UK) // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2000. Vol. 206. P. 155–170.

Dzogbefia V.P., Kling D., Gamble W. Polychlorinated biphenyls in vitro and in vitro modifications of phospholipid and glyceride biosynthesis // J. Environ. Pathol. Toxicol. 1978. Vol. 1. P. 841–856.

Ellington W. The extent of intracellular acidification during anoxia in the catch muscles of two bivalve mollusks // J. Exp. Zool. 1983. Vol. 227. P. 313–317.

Fandrey J. Hypoxia-inducible gene expression // Respir Physiol. 1995 Jul. 101(1). P. 1–10.

Farrington J.W. Biogeochemical processes governing exposure and uptake of organic pollutant compounds in aquatic organisms // Environmental Health Perspectives. 1991. Vol. 90. P. 75–84.

Farrington J.W., Goldberg F.D., Risebrough R.W., Martin J.H., Bowen V.T. US Mussel watch, 1976–1978: An overview of the trace metal, DDT, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data // Environ. Sci. and Techn. 1983. Vol. 17. P. 490–496.

Florkin M., Schoffeniels E. Molecular approaches to ecology. New York. 1969. 203 p.

Flyachinskaya L.P., Naumov A.D. Distribution and larval development in the horse mussel *Modiolus modiolus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Mytilidae) from the White sea // Proc. Zool. Inst. Russ. Acad. Sci. 2003. Vol. 299. P. 39–50.

Fodor E., Jones R.H., Buda C., Kitajka K., Dey I., Farkas T. Molecular architecture and biophysical properties of phospholipids during thermal adaptation in fish: an experimental and model study // Lipids. 1995 Dec. 30(12). P. 1119–1126.

Fouad B-M., Marty J-C., Fiala-Medioni A. Fatty acid composition in deep hydrothermal vent symbiotic bivalves // J. Lip. Res. 1992. Vol. 33. P. 1797–1806.

Freas W., Grollman S. Ionic and osmotic influences on prostaglandin release from the gill tissue of a marine bivalve, *Modiolus demissus* // J. Exp. Biol. 1980. 84. P. 169–185.

Freites L., Fernandez-Reiriz M.J., Labarta U. (a) Lipid classes of mussel seeds *Mytilus galloprovincialis* of subtidal and rocky shore origin // Aquaculture. 2002. Vol. 207. P. 97–116.

Freites L., Fernandez-Reiriz M.J., Labarta U. (6) Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin // *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2002. 2. P. 453–461.

Gabbott P.A. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In: *Mollusca* vol. 2 Environmental biochemistry and physiology. Academic press Inc. 1983. P. 165–217.

Gade G. Energy metabolism of arthropods and mollusks during environmental and functional anaerobiosis // *J Exp Zool*. 1983. Vol. 228 (3). P. 415–429.

Galaktionov K. Parasites of common animals and animals of market value // *Berger V., Dahle S., Galaktionov K., Kosobokova X., Naumov A., Rat'kova T., Savinov V., Savinova T.* White sea. Ecology and environment. 2001. Derzavets Publisher. St. Petersburg-Tromso. 157 p.

Gatt S, Bierman EL. Sphingomyelin suppresses the binding and utilization of low density lipoproteins by skin fibroblasts // *J Biol Chem*. 1980. Vol. 255. issue 8. P. 3371–3376.

Gibbs A.G. The role of lipid physical properties in lipid barriers // *Amer. Zool*. 1998. 38. P. 268–279.

Gilfillan E.S., Mayo D.W., Page D.S., Donovan D., Hanson S. Effects of varying concentrations of petroleum hydrocarbons in sediments on carbon flux in *Mya arenaria*. In: *Physiological responses of marine biota to pollutants*. F.J. Vernberg, A. Calabrese, F.P. Thurberg, W.B. Vernberg (eds.). 1977. Academic Press, New York. P. 299–314.

Gillis T.E., Ballantyne J.S. (a) Mitochondrial membrane composition of two arctic marine Bivalve mollusks, *Serripes groenlandicus* and *Mya truncata* // *Lipids*. 1999. Vol. 34. № 1. P. 53–57.

Gillis T.E., Ballantyne J.S. (6) Influences of subzero thermal acclimation on mitochondrial membrane composition of temperate zone marine bivalve mollusks // *Lipids*. 1999. Vol. 34. № 1. P. 59–66.

Glemet H.C., Ballantyne J.S. Influences of environmental salinity on the structure and function of gill mitochondrial membranes of an osmoconforming invertebrate, *Crassostrea virginica* // *Marine Biology*. 1995. 121. P. 673–683.

Hall J.M., Parrish C.C., Thompson R.J. Eicosapentaenoic acid regulates scallop (*Placopecten magellanicus*) membrane fluidity in response to cold // *Biol. Bull*. 2002. 202. P. 201–203.

Hand S., Hardewig I. Down regulation of cellular metabolism during environmental stress: mechanisms and implications // *Annu. Rev. Physiol*. 1996. Vol. 58. P. 539–563.

Hansen H.J., Abraham S. Influence of temperature, environmental salinity and fasting on the patterns of fatty acids synthesized by gills and liver of the European eel (*Anguilla anguilla*) // *Comp Biochem Physiol B*. 1983. Vol. 75. № 4. P. 581–587.

Hansen H.J., Olsen A.G., Willumsen N.J. The influence of ambient salinity and temperature on lipid metabolism in toad (*Bufo bufo*) skin. Is phosphatidylethanolamine an endogenous regulator of ion channels // *Comp Biochem Physiol Comp Physiol*. 1994. Vol. 108. № 4. P. 599–608.

Harel M., Gavasso S., Leshin J., Gubernatis A., Place A.R. The effect of tissue docosahexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae // *Fish physiology and biochemistry*. 2001. 24. P. 113–123.

Hazel J.R., Carpenter R. Rapid changes in the phospholipid composition of gill membranes during thermal acclimation of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* // *J. Comp Physiol B*. 1985. 155(5). P. 597–602.

Hightower L.E. A brief perspective on the heat-shock response and stress proteins // *Mar. Environ. Res.* 1993. Vol. 35. P. 79–83.

Hines A., Yeung W.H., Craft J., Brown M., Kennedy J., Bignell J., Stentiford G.D., Viant M.R. Comparison of histological, genetic, metabolomics, and lipid-based methods for sex determination in marine mussels // *Anal Biochem*. 2007. Vol. 369(2). P. 175–86.

Hochachka P.W., Bick L.T., Doll C.J., Land S.C. Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93. P. 9493–9498.

Hochachka P.W., Somero G.N. *Biochemical Adaptation*. 1984. Princeton University Press, Princeton. 538 p.

Hochachka P.W., Somero G.N. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. 2002. Oxford University Press, Oxford. 478 p.

Hole L.M., Moore M.N., Bellamy D. Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels // *Mar Ecol Prog Ser*. 1995. vol. 122. P. 173–178.

Horst D. J. van der Investigation of the synthesis and distribution of fatty acids in the lipids of the snail *Cepaea nemoralis* (L.). I. The fatty acid composition of the total lipids // *Neth. J. Zool*. 1970. 20. P. 433–444.

Horst D. J. van der, Oudejans R. C. H. M., Meijers J.A., Testerink G.J. Fatty acid metabolism in hibernating *Cepaea nemoralis* (Mollusca: Pulmonata) // *J Comp Physiol*. 1974. 91. P. 247–256.

Hosoi M., Takeuchi K., Sawada H., Toyohara H. Expression and functional analysis of mussel taurine transporter, as a key molecule in cellular osmoconforming // J. Exp. Biol. 2005. 208. P. 4203–4211.

Hunn J.B., Allen J.L. Movement of drugs across the gill of fishes // Ann. Rev. Pharmacol. 1974. Vol. 14. P. 47–55.

Ikavalko J. Effects of oil spills on Arctic marine ecosystems 2005. www.arcop.fi/reports/D4232.pdf

Invertebrate Anatomy OnLine - <http://webs.lander.edu/rsfox/invertebrates/mytilus.html>

Isaia J., Hirano T. Effect of environmental salinity change on osmotic permeability of the isolated gill of the eel, *Anguilla anguilla* L. // J Physiol (Paris). 1976 Jan. 70(6). P. 737–747.

Ivan M., Kondo K., Yang H., Kim W., Valiando J., Ohh M., Salic A., Asara J., Lane W., Kaelin Jr.W. HIF- α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing // Science. 2001. Vol. 292. P. 464–468.

Jaakkola P., Mole D., Tian Y.M., Wilson M., Gielbert J., Gaskell S., von Kriegsheim A., Hebestreit H., Mukherji M., Schofield C., Maxwell P., Pugh C., Ratcliffe P. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂ –regulated prolyl hydroxylation // Science. 2001. Vol. 292. P. 468–472.

Jahnke L.L., Summons R.E., Dowling L.M., Zahiralis K.D. Identification of methanotrophic lipid biomarkers in cold-seep mussel gills: chemical and isotopic analysis // Applied and environmental microbiology. 1995. Vol. 61. № 2. P. 576–582.

Johnson F.G. Sublethal biological effects of petroleum hydrocarbon exposures: bacteria, algae, and invertebrates. In: Malins D.C. Effects of petroleum on arctic and subarctic marine environments and organisms. Vol. II. Biological effects. 1977. Academic Press. New York. London. P. 271–335.

Joseph J.D. Lipid composition of marine and estuarine invertebrates. Part II: Mollusca // Prog. Lipid Res. 1982. Vol. 21. P. 109–153.

Kanazawa A. Sterols in marine invertebrates // Fish. Sci. 2001. Vol. 67. P. 997–1007.

Kapper M.A., Stickle W.B. Metabolic responses of the estuarine gastropod *Thais haemastoma* to hypoxia // Physiol. Zool. 1987. Vol. 60. P. 159–173.

Kato N., Kawai K., Yoshida A. Effects of dietary polychlorinated biphenils and protein level on liver and serum lipid metabolism of rats // Agric. Boil. Chem. 1982. Vol. 46. P. 703–708.

Kawashima H., Ohnishi M. Fatty acid composition of various tissue lipids in the marine bivalves, *Megangulus venulosus* and *Megangulus zyonoensis*, from coastal water of Hokkaido, Northern Japan // *J. Oleo Sci.* 2003. Vol. 52. № 6. P. 309–315.

Kawashima H., Ohnishi M., Negishi Y., Amano M., Kinoshita M. Sterol composition in muscle and viscera of the marine bivalve *Megangulus zyonoensis* from coastal water of Hokkaido, Northern Japan // *J. Oleo Sci.* 2007. Vol. 56. № 5. P. 231–235.

Keck R.T., Heess R.C., Wehmiller J., Maurer D. Sublethal effects of the water soluble fraction of Nigerian crude oil on the juvenile hard clams, *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus) // *Environ. Pollut.* 1978. Vol. 15. P. 109–119.

Kharlamenko V.I., Zhukova N.V., Khotimchenko S.V., Svetashev V.I., Kamenev G.M. Fatty acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands) // *Mar. ecol. prog. ser.* 1995. Vol. 120. P. 231–241.

Khaware R.K., Koul A., Prasad R. High membrane fluidity is related to NaCl stress in *Candida membranefaciens* // *Biochem Mol Biol Int.* 1995 Apr. 35(4). P. 875–880.

Khomutov G., Fry I.V., Huflejt M.E., Packer L. Membrane lipid composition, fluidity, and surface charge changes in response to growth of the fresh water cyanobacterium *Synechococcus* 6311 under high salinity // *Arch Biochem Biophys.* 1990 Mar. 277(2). P. 263–267.

Kinne O. Adaptation, a primary mechanism of evolution. Phylogeny and evolution of Crustacea // *Special Publications of the Museum of Comparative Zoology.* 1963. P. 27–50.

Kinne O. Non-genetic adaptation to temperature and stability // *Helgoland. Wiss. Meeresuntersuch.* 1964. 9. P. 433–458.

Kinne O. Salinity – animals – invertebrates. – In: *Marine ecology.* London etc. 1971. Vol. 1. № 2. P. 820–995.

Klingensmith J.S. Distribution of methylene and nonmethylene-interrupted dienoic fatty acids in polar lipids and triacylglycerols of selected tissues of the hardshell clam (*Mercenaria mercenaria*) // *Lipids.* 1982. Vol. 17. P. 976–981.

Kluytmans J.H., Veenhof P.R., de Zwaan A. Anaerobic production of volatile fatty acids in the sea mussels *Mytilus edulis* L. // *J. Comp. Physiol.* 1975. 104. P. 71–78.

Kraffe E., Grall J., Le Duff M., Soudant P., Marty Y. A striking parallel between cardiolipin Fatty Acid composition and phylogenetic belonging in

marine bivalves: a possible adaptative evolution? // *Lipids*. 2008 v. 43(10). P. 961–970

Kraffe E., Soudant P., Marty Y. Fatty acids of serine, ethanolamine, and choline plasmalogens in some marine bivalves // *Lipids*. 2004 Jan. 39(1). P. 59–66.

Kraffe E., Soudant P., Marty Y., Kervarec N. Docosahexaenoic acid- and eicosapentaenoic acid-enriched cardiolipin in the manila clam *Ruditapes philippinarum* // *Lipids*. 2005. Vol. 40. issue. 6. P. 619–625.

Kraffe E., Soudant P., Marty Y., Kervarec N., Jehan P. Evidence of a tetradocosahexaenoic cardiolipin in some marine bivalves // *Lipids*. 2002. May. 37(5). P. 507–514.

Larade K., Nimigan A., Storey K. Transcription pattern of ribosomal protein L26 during anoxia exposure in *Littorina littorea* // *J. Exp. Zool.* 2001. Vol. 290. P. 759–768.

Larade K., Storey K.B. A profile of the metabolic responses to anoxia in marine invertebrates. In: *Cell and molecular responses to stress*. Vol. 3. Sensing, signaling and cell adaptation. 2002. 346 p.

Lavado R., Janer G., Porte C. Steroid levels and steroid metabolism in the mussel *Mytilus edulis*: the modulating effect of dispersed crude oil and alkylphenols // *Aquatic Toxicology*. 2006. Vol. 78S. P. S65–S72.

Leavitt D.F., Lancaster B.A., Lancaster A.S., McDowell Capuzzo J. Changes in the biochemical composition of a subtropical bivalve, Arca Zebra, in response to contaminant gradients in Bermuda // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1990. Vol. 138. P. 85–98.

Lee R.F., Stolzenbach J., Singer S., Tenore K.R Effects of crude oil on growth and mixed function oxygenase activity in polychaetes, *Nereis* sp. - In: Vernberg F.J., Calabrese A., Thurberg F.P., Vernberg W.B. (eds) *Biological monitoring of marine pollutants*. 1981. Academic Press. London. New York. San Francisco. P. 323–334.

Leray C., Chapelle S., Duportail G., Florantz A. *Biochim. Biophys. Acta*. 1984. Vol. 778. P. 233

Lewis J.R. The composition and functioning of benthic ecosystem in relation to the assessment of long-term effects of oil pollution // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1982. Vol. 297. P. 257–267.

Livingstone D.R., Farrar S.V. Tissue and subcellular distribution of enzyme activities of mixed-function oxygenase and benzo(a)pyrene metabolism in the common mussel *Mytilus edulis* L. // *Sci. Tot. Environ.* 1984. Vol. 39. P. 209–235.

Logue J.A., de Vries A.L., Fodor E., Cossins A.R. Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure // J. Exp. Biol. 2000. 203. P. 2105–2115.

Lopez C.S., Alice A.F., Heras H., Rivas E.A. Sanches-Rivas C. Role of anionic phospholipids in the adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity // Microbiology. 2006. 152. P. 605–616.

Los D.A., Murata N. Membrane fluidity and its role in the perception of environmental signals // Biochim Biophys Acta. 2004 Nov 3. 1666(1-2). P. 142–157.

Lowe D.M. Alterations in cellular structure of *Mytilus edulis* resulting from exposure to environmental contaminants under field and experimental conditions // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1988. Vol. 46. P. 91–100.

Lowe D.M., Moore M.N., Clarke K.R. Effects of oil on digestive cells in mussels: Quantitative alterations in cellular and lysosomal structure // Aquat. Toxicol. 1981. Vol. 1. P. 213–216.

Lowe D.M., Pipe R.K. Cellular responses in the mussel *Mytilus edulis* following exposure to diesel oil emulsions: Reproductive and nutrient storage cells // Mar. Environ. Res. 1985. Vol. 17. P. 234–237.

Lowe D.M., Pipe R.K. Hydrocarbon exposure in mussels: A quantitative study on the responses in the reproductive and nutrient storage cell systems // Aquat. Toxicol. 1986. Vol. 8. P. 265–272.

Lowe D.M., Pipe R.K. Mortality and quantitative aspects of storage cell utilization in mussels, *Mytilus edulis*, following exposure to diesel oil hydrocarbons // Mar. Environ. Res. 1987. Vol. 22. P. 243–251.

Luvizotto-Santos R., Lee J., Branco Z., Bianchini A., Nery L. Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab *Chasmagnathus granulata* dana, 1851 (crustacea-graspidae) // J Exp Zoolog A Comp Exp Biol. 2003 Feb 1. 295(2). P. 200–205.

Mageau C., Engelhardt F.R., Gilfillan E.S., Boehm P.D. Effects of short-term exposure to dispersed oil in arctic invertebrates // Arctic. 1987. Vol. 40. is. 1. P. 162–171.

Mahmoud T., Saux M.C., Jouzier E., Crockett R. Distribution of the fatty acids of the oyster *C.gigas* in different lipid fractions // Ann Nutr Aliment. 1980. 34(2). P. 451–457.

Martinez-Alvarez R.M., Sanz A., Garcia-Gallego M., Domezain A., Domezain J., Carmona R., del Valle Ostos-Garrido M., Morales A.E. Adaptive branchial mechanisms in the sturgeon *Acipenser naccarii* during acclimation to saltwater // Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2005 Jun. 141(2). P. 183–190.

McDowell J. Biological Effects of Contaminants on Marine Shellfish and Implications for Monitoring Population Impacts. In: Buchsbaum R., Pederson J., Robinson W.E. (eds) *The Decline of Fisheries Resources in New England. Evaluating the Impact of Overfishing, Contamination, and Habitat Degradation.* 2005. P. 119-130 (<http://massbay.mit.edu/publications/NEFishResources>)

McElroy A., Shiaris M., McDowell Capuzzo J., Howes B., Molongoski J. Bioavailability and biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in benthic environments of coastal Massachusetts // Report to the Massachusetts program. 1994 (http://www.mass.gov/envir/massbays/pdf/95_02.pdf).

McElroy A.E., Farrington W., Teal J.M. Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. In: Varanasi U. (ed) *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment.* 1989. CRC Press Inc., Boca Raton. Florida. P. 1–39.

Meireles L.A., Guedes A.C., Malcata F.X. Lipid class composition of the microalga *Pavlova lutheri*: eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids // *J Agric Food Chem.* 2003 Apr 9. 51(8). P. 2237–2241.

Michaelidis B., Pallidou A., Vakoufisi P. Effects of anoxia on the extra- and intracellular acid-base status in the land snail *Helix lucorum* (L.): lack of evidence for a relationship between pyruvate kinase down-regulation and acid-base status // *J Exp Biol.* 1999. 202. P. 1667–1675.

Mikhailov A.T., Torrado M., Mendez J. Sexual differentiation of reproductive tissue in bivalve molluscs: identification of male associated polypeptides in the mantle of *Mytilus galloprovincialis* Lmk // *Int. J. Dev. Biol.* 1995. Vol. 39. P. 545–548

Moore M.N. A methodology for impact and risk assessment in integrated environmental management. 1998 (www.unido.org/userfiles/Puffk/RiskAsses.pdf)

Moore M.N. Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1988. Vol. 46. P. 81–89.

Moore M.N., Clarke K.R. Use of microstereology and quantitative cytochemistry to determine the effects of crude oil-derived aromatic hydrocarbons on lysosomal structure and function in a marine bivalve mollusk, *Mytilus edulis* // *Histochem. J.* 1982. Vol. 14. P. 713–718.

Moore M.N., Livingstone D.R., Widdows J. Hydrocarbons in marine mollusks: Biological effects and ecological consequences. Pp. 291-328 In U. Varanasi, editor. *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment.* 1989. CRC Press, Boca Raton, FL.

Moore M.N., Livingstone D.R., Widdows J., Lowe D.M., Pipe R.K. Molecular, cellular and physiological effects of oil-derived hydrocarbons on mollusks and their use in impact assessment // Phil. Trans. R. Soc. Lond. 1987. Vol. 316. P. 603–623.

National Academy of Science (NAS). Oil in the Sea. 1985. National Academy Press. Washington. DC. 601 p. (www.nap.edu)

National Academy of Sciences (NAS): The International Mussel Watch. Publications office. National Research Council. Washington. D.C. U.S.A. 1980. 248 p.

Nechev J., Stefanov K., Popov S. Effect of cobalt ions on lipid and sterol metabolism in the marine invertebrates *Mytilus galloprovincialis* and *Actinia equina* // Comparative biochemistry and physiology. Part A. 2006. 144. P. 112–118.

Neff J.M., Cox B.A., Dixit D., Anderson J.W. Accumulation and release of petroleum-derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals // Mar. Biol. 1976. Vol. 38. P. 279–289.

Neff J.M., Hillman R.E., Carr R.S., Buhl R.L., Lahey J.I. Histopathologic and biochemical responses in arctic marine bivalve mollusks exposed to experimentally spilled oil // Arctic. 1987. Vol. 40. issue 1. P. 220–229.

Nestlerode J.A., Diaz R.J. Effects of periodic environmental hypoxia on predation of a tethered polychaete, *Glycera americana*: implications for trophic dynamics // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1998. Vol. 172. P. 185–195.

Neufeld D.S., Wright S.H. Salinity change and cell volume: the response of tissues from the estuarine mussel *Geukensia demissa* // The Journal of Experimental Biology. 1996. 199. P. 1619–1630.

Nevenzel J.C., Gibbs A., Benson A.A. Plasmalogens in the gill lipids of aquatic animals // Comp. Biochem Physiol B. 1985. 82(2). P. 293–297.

Newell R.I.E. Species profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (North and Mid-Atlantic). Blue mussel // Biological Report 82 (11.102) TR EL-82-4. 1989.

Nikinmaa M., Rees B.B. Oxygen-dependent gene expression in fishes // Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol. 2005. 288. P. 1079–1090.

Oishi K., Zheng B., Kuo J.F. Inhibition of Na,K-ATPase and sodium pump by protein kinase C regulators sphingosin, lisophosphatidylcholin, and oleic acid // J Biol Chem. 1990. Vol. 265 (5). P. 70–75.

Oliver L.T., Brand M. The influence of lack of oxygen on *Schistosoma mansoni* cercariae and on infected *Austrolorbis glabratus* // Exp. Parasitol. 1953. Vol. 12. P. 339–366.

Ortmann C., Grieshaber M.K. Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea* // J. Exp. Biol. 2003. 206. P. 4167–4178.

Pagliarani A., Bandiera P., Ventrella V., Trombetti F., Pirini M., Borgatti A.R. Response to alkyltins of two Na⁺-dependent ATPase activities in *Tapes philippinarum* and *Mytilus galloprovincialis* // Toxicology in vitro. 2006. 20. P. 1145–1153.

Paltauf F. Ether lipids in biomembranes // Chem Phys lipids. 1994. Vol. 74. № 2. P. 101–139.

Paradis M., Ackman R.G. Occurrence and chemical structure of nonmethylene-interrupted dienoic fatty acids in american oyster *Crassostrea virginica* // Lipids. 1975. V. 10. № 1. P. 12–16.

Paradis M., Ackman R.G. Potential for employing the distribution of anomalous non-methylene-interrupted dienoic fatty acids in several marine invertebrates as part of food web studies // Lipids. 1977. Vol. 12. № 2. P. 170–176.

Pavela J.S., Ross J.L., Chittenden M.E., Sharp reductions in abundance of fishes and benthic macro-invertebrates in the Gulf of Mexico off Texas associated with hypoxia // NE Gulf Sci. 1983. Vol. 6. P. 167–173.

Pazos A.J., Sanchez J.L., Roman G., Luz Perez-Paralle M., Abad M. Seasonal changes in lipid classes and fatty acid composition in the digestive gland of *Pecten maximus* // Comp Biochem Physiol Part B: Biochem Mol Biol. 2003 Feb. 134(2). P. 367–380.

Percy J.A., Mullin T.C. Effects of crude oils on arctic marine invertebrates // Beaufort Sea Project. Tech. report №11. Environment Canada. Victoria. 1975. 167 p.

Petes L.E., Menge B.A., Chan F., Webb M.A.H. Gonadal tissue color is not a reliable indicator of sex in rocky intertidal mussels // Aquatic biology. 2008. Vol. 3. P. 63–70.

Phelps D.K., Galloway W., Thurberg F.P., Gould E., Dawson M.A. Comparison of several physiological monitoring techniques as applied to the blue mussel, *Mytilus edulis*, along a gradient of pollutants stress in Narragansett bay, Rhode Island. In: Vernberg F.J., Calabrese A., Thurberg F.P., Vernberg W.B. (eds) Biological monitoring of marine pollutants. 1981. Academic Press. London. New York. San Francisco. P. 335–355.

Phleger C.F., Nelson M.M., Groce A.K., Cary S.C., Coyne K.J., Nichols P.D. Lipid composition of deep-sea hydrothermal vent tubeworm *Riftia pachyptila*, crabs *Munidopsis subsquamosa* and *Bythograea thermophilum*, mussels *Bathymodiolus* sp. and limpets *Lepetodrilus* spp. // Physiol B Biochem Mol Biol. 2005 Jun. 141(2). P. 196–210.

Pieters H., Kluytmans J.H., Zandee D.I., Cadée G.C. Tissue composition and reproduction of *Mytilus edulis* in relation to food availability // *Neth. J. Sea Res.* 1980. 14. P. 349–361.

Pihl L., Baden S.P., Diaz R.J. Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustacean // *Mar. Biol.* 1991. Vol. 108. P. 349–360.

Pipe R.K., Moore M.N. The ultrastructural localization of acid hydrolases in developing oocytes of *Mytilus edulis* // *Histochem. J.* 1985. Vol. 17. P. 939–949.

Plotitsyna N.F. The accumulation of the pollutants in the commercial macrophytes of the White Sea // *Optimisation of the usage of the marine bioresources and a complex management of the coastal zone of the Barents Sea. Proceedings of regional seminar. Murmansk. 1999. Murmansk.: MMBI.* P. 79–81.

Pollero R. J., R. R. Brenner, E. G. Gros. Seasonal changes in lipid and fatty acid composition of the freshwater mollusk, *Diplodom patagonicus* // *Lipids.* 1981. Vol. 16. № 2. P. 109–113.

Pollero R.T., Remaria E., Brenner R.R. Seasonal changes of the lipids of the mollusc *Chlamys tehuelcha* // *Comp. Biochem and Physiol.* 1979. A64. № 2. P. 257–263.

Poon R., Richards J.M., Clark W.H. The relationship between plasma membrane lipid composition and physical-chemical properties. II. Effects of phospholipids fatty acid modulation on plasma membrane physical properties and enzymatic activities // *Biochim Biophys Acta.* 1981 Nov 20. 649(1). P. 58–66.

Posthuma J. The composition of petroleum // *Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 1977. Vol. 171. P. 7–16.

Pucci G.N., Hartig C., Pucci O.H. Influence of salinity and temperature on fatty acid composition of *Pseudomonas fluorescens* GNP-OHP-3 membrane // *Rev Argent Microbiol.* 2004 Jan-Mar. 36(1). P. 6–15.

Quinn B., Gagne F., Costello M., McKenzie C., Wilson J., Mothersill C. The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) // *Aquatic Toxicology.* 2004. Vol. 66. P. 279–292.

Quinn P.J., Chapman D. The dynamics of membrane structure // *CRC Crit Rev Biochem.* 1980. 8(1). P. 1–117.

Ramos C.S., Parrish C.C., Quibuyen T.A.O., Abrajo T.A. Molecular and carbon isotopic variations in lipids in rapidly settling particles during a spring phytoplankton bloom // *Organic geochemistry.* 2003. 34. P. 195–207.

Raspor B., Dragun Z., Erk M. Examining the suitability of mussel digestive gland to serve as a biomonitoring target organ // *Arh Hig Rada Toksikol.* 2005. Vol. 56. P. 141–149.

Reich T., Depew M.C., Marks G.S., Singer M.A., Wan J.K.S. Effect of polychlorinated biphenyls on phospholipid membrane fluidity // J. Environ. Sci. Health. Part A. Environ. Sci. Eng. 1981. Vol. 16. P. 65–72.

Rice S.D., Short J.W., Karinen J.F. Comparative oil toxicity and comparative animal sensitivity. In: Wolf D. (ed) Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms. 1977. Pergamon Press. P. 78–94.

Robertson A. Petroleum hydrocarbons. In: AMAP Assessment Report: Arctic Pollution Issues. Arctic Monitoring and Assessment programme (AMAP). 1998. Oslo. Norway. P. 661–716.

Robertson J.C., Hazel J.R. Influence of temperature and membrane lipid composition on the osmotic water permeability of teleost gills // Physiol Biochem Zool. 1999 Sep-Oct. 72(5). P. 623–632.

Roche H., Jouanneteau J., Peres G. Effects of adaptation to different salinities on the lipids of various tissues in sea dace (*Dicentrarchus labrax* pisces) // Comp. Biochem. Physiol. 1983. V.74B. № 2. P. 325–330.

Roesijadi G., Anderson J.W., Blaylock J.W. Uptake of hydrocarbons from marine sediments contaminated with Prudhow Bay crude oil: influence of feeding type of test species and availability of polycyclic aromatic hydrocarbons // J. Fish. Res. Board Can. 1978. Vol. 35. P. 608–614.

Roubal G., Atlas R.M. Distribution of hydrocarbon-utilizing micro-organisms and hydrocarbon biodegradation potentials in Alaska continental shelf areas // Appl. Environ. Microbiol. 1974. Vol. 35. P. 897–905.

Saintsing D.G., Hwang D.H., Dietz T.H. Production of prostaglandins E₂ and F₂ in the freshwater mussel *Ligumia subrostrata*: relation to sodium transport // J. Pharmac. Exp. Therap. 1983. Vol. 226. P. 455–461.

Saito H. Lipid and FA composition of the pearl oyster *Pinctada fucata martensii*: influence of season and maturation // Lipids. 2004 Oct. 39(10). P. 997–1005.

Saito H. Unusual novel n-4 polyunsaturated fatty acids in cold-seep mussels (*Bathymodiolus japonicus* and *Bathymodiolus platifrons*), originating from symbiotic methanotrophic bacteria. // J Chromatogr A. 2008. Vol. 1200(2). P. 242–54.

Sanders B.M., Martin L.S., Nelson W.G., Phelps D.K., Welch W. Relationship between accumulation of a 60 kDa stress protein and scope-for-growth in *Mytilus edulis* exposed to a range of copper concentrations // Mar. Environ. Res. 1991. Vol. 31. P. 81–97.

Sangiao-Alvarellos S., Arjona F.J., Martin del Rio M.P., Miguez J.M., Mancera J.M., Soengas J.L. Time course of osmoregulatory and metabolic

changes during osmotic acclimation in *Sparus auratus* // J Exp. Biol. 2005. 208. P. 4291–4304.

Sangiao-Alvarellos S., Laiz-Carrión R., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Míguez J.M., Mancera J.M., Soengas J.L. Acclimation of *S. aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and nonosmoregulatory organs // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003. 285. P. R897-R907.

Savinov V., Savinova T., Dahle S. Contaminants // Berger V., Dahle S., Galaktionov K., Kosobokova X., Naumov A., Rat'kova T., Savinov V., Savinova T. White sea. Ecology and environment. 2001. Derzavets Publisher. St. Petersburg-Tromsø. 157 p.

Scheek S., Brown M.S., Goldstein J.L. Sphingomyelin depletion in cultured cells blocks proteolysis of sterol regulatory element binding proteins at site 1 // Proc. Natl.Acad.Sci.USA. 1997. V. 94. P. 11179–11183.

Schmidt H., Kamp G. The Pasteur effect in facultative anaerobic metazoan // Experientia. 1996. Vol. 52. P. 440–448.

Schoffeniels E. Adaptations with respect to salinity // Biochem. Soc. Symp. 1976. 41. P. 179–204.

Seibel B.A., Walsh P.J. Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage // J. Exp. Biol. 2002. 205. P. 297–306.

Sericano J.L., Wade T.L., Brooks J.M. Accumulation and depuration of organic contaminant by the American oyster (*Crassostrea virginica*) // Science of the total environment. 1996. Vol. 179. P. 149–160.

Shigenaka G., Henry C.B. Use of mussels and semipermeable membrane devices to assess bioavailability of residual polynuclear aromatic hydrocarbons three years after the Exxon Valdez oil spill. - In: Wells P.G., Butler J.N., Hughes J.S. (eds) Exxon Valdez oil spill: fate and effects in Alaskan waters. 1993. American Society for Testing and Materials. Philadelphia. P. 239–260.

Shivkamat P., Roy R. Regulation of membrane lipid bilayer structure during salinity adaptation: a study with the gill epithelial cell membranes of *Oreochromis niloticus* // Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2005. Sep. 142(1). P. 28–36.

Shugart L.R., Gustin M.K., Laird D.M., Dean D.A. Susceptibility of DNA in aquatic organisms to strand breakage^ Effect of X-rays and gamma radiation // Mar. Environ. Res. 1989. Vol. 28. P. 339–343.

Silva A.L., Wright S.H. Integumental taurine transport in *Mytilus* gill: short-term adaptation to reduced salinity // J Exp Biol. 1992 Jan. 162. P. 265–279.

Sinensky M. Homeoviscouse adaptation – a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1974. Vol. 71. № 2. P. 522–525.

Slotte J.P., Bierman E.L. Depletion of plasma-membrane sphingomyelin rapidly alters the distribution of cholesterol between plasma membranes and intracellular cholesterol pools in cultured fibroblasts // *Biochem J.* 1988. Vol. 250. P. 653–658.

Slotte J.P., Härmälä A.S., Jansson C., Pörn M.I. Rapid turn-over of plasma membrane sphingomyelin and cholesterol in baby hamster kidney cells after exposure to sphingomyelinase // *Biochim Biophys Acta.* 1990. Vol. 1030. issue 2. P. 251–257.

Sokolova I., Bock C., Portner H.-O. Resistance to freshwater exposure in White Sea *Littorina* spp. II: Acid-base regulation // *J. Comp. Physiol. B.* 2000. Vol. 170. P. 105–115.

Spector A.A., Yorek M.A. Membrane lipid composition and cellular function // *J. Lipid Res.* 1985. Vol. 26. P. 1015–1035.

Stainken D.M. Effects of uptake and discharge of petroleum hydrocarbons on the respiration of the soft-shell clam, *Mya arenaria* // *J. Fish. Res. Board Can.* 1978. Vol. 35. P. 637–642.

Stanley-Samuelson D.W. Physiological roles of prostaglandins and other eicosanoids in invertebrates // *Biol. Bull.* 1987. Vol. 173. P. 92–109.

Stegeman J.J. Benzo(a)pyrene oxidation and microsomal enzyme activity in the mussel (*Mytilus edulis*) and other bivalve mollusk species from the Western North Atlantic // *Mar. Biol.* 1985. Vol. 89. P. 21–30.

Stegeman J.J., Teal J.M. Accumulation, release and retention of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica* // *Mar. Biol.* 1973. Vol. 22. P. 37–44.

Steinert S.A., Pickwell G.V. Introduction of HSP70 proteins in mussels by ingestion of tributyltin // *Mar. Environ. Res.* 1993. Vol. 35. P. 89–93.

Stekoll M.S., Clement L.E., Shaw D.G. Sublethal effects of chronic oil exposure on the intertidal clam *Macoma balthica* // *Mar. Biol.* 1980. Vol. 57. P. 51–60.

Storey K. Suspended animation: the molecular basis of metabolic depression // *Can. J. Zool.* 1988. Vol. 66. P. 124–131.

Storey K., Storey J. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation and estivation // *Quart. Rev. Biol.* 1990. Vol. 65. P. 145–174.

Storey K.B. Gene regulation in physiological stress // *International congress series.* 2004. Vol. 1275. P. 1–13.

Strange K. Cellular volume homeostasis // *Adv. Physiol. Educ.* 2004. Vol. 28. P. 155–159.

Strickle W.B., Rice S.D., Villars C., Metcalf W. Bioenergetics and survival of the marine mussels *Mytilus edulis* L. during long-term exposure to the water-soluble fraction of Cook Inlet crude oil. In: Vernberg F.J., Calabrese A., Thurberg F.P., Vernberg W.B. (eds). *Physiological responses of marine biota to pollutants*. 1985. Academic Press. London. New York. San Francisco.

Sukhotin A.A., Abele D., Portner H.-O. Growth, metabolism and lipid peroxidation in *Mytilus edulis*: age and size effects // *Marine ecology progress series*, 2002. Vol. 226. P. 223–234.

Sukhotin A.A., Portner H.-O. Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea // *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2001. 257. P. 53–72.

Sutton G.C., Russell N.J., Quinn P.J. The effect of salinity on the phase behaviour of total lipid extracts and binary mixtures of the major phospholipids isolated from a moderately halophilic eubacterium // *Biochim Biophys Acta*. 1991 Jan 3. 1061(2). P. 235–246.

Takenaka Toshifumi, Hidenori Horie, Hideaki Hori, Tadashi Kawakami. Effects of arachidonic acid and the other long-chain fatty acid on the membrane currents in the squid giant axon // *J. Membrane Biol.* 1988. 106. № 2. P. 141–147.

Thompson G.A.Jr. Metabolism and control of lipid structure modification // *Biochem Cell Biol.* 1986 Jan. 64(1). P. 66–69.

Tielens A., Van Hellemond J. The electron transport chain in anaerobically functioning eukaryotes // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. vol. 1365. pp. 71–78.

Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in Teleost fish // *Reviews in fisheries science*. 2005. 11(2). P. 107–184.

Turk M., Mejanelle L., Sentjurs M., Grimalt J.O., Gunde-Cimerman N., Plemenitas A. Salt-induced changes in lipid composition and membrane fluidity of halophilic yeast-like melanized fungi // *Extremophiles*. 2004 Feb. 8(1). P. 53–61.

UNEP/IOC/IAEA/FAO.: 1995. Determination of petroleum hydrocarbons in selected marine organisms. Reference method and technical bulletins for marine pollution studies. № 72. United Nations Environment Programm. (www.wiolab.org/toolboxes/waterandsedimentquality/No72_UNEP_IOC_IAEA_FAO.pdf)

Uno S., Hyun Y.J., Kaneniwa M., Koyama J., Yamada H., Ikeda K. Lipid class and fatty acid composition of mussel, *Mytilus trossulus*, in Vancouver

Harbour // Environmental assessment of Vancouver harbour data report for the PICES practical workshop. Report 16, august 2000 (http://pices.int/publications/scientific_reports/Report16/BiochemicalPhysiological.pdf)

Valentine R.C., Valentine D.L. Omega-3 fatty acids in cellular membranes: a unified concept // Prog. Lipid Res. 2004 Sep. 43(5). P. 383–402.

Vandermeulen J.H., Gordon D.C. Reentry of 5-year old stranded Bunker C fuel oil from a low-energy beach into the water, sediments and biota of Chedabucto Bay, Nova Scotia // J. Fish. Res. Board. Can. 1976. Vol. 33. P. 2002–2010.

Vargas C., Kallimanis A., Koukkou A.I., Calderon M.I., Canovas D., Iglesias-Guerra F., Drinas C., Ventosa A., Nieto J.J. Contribution of chemical changes in membrane lipids to the osmoadaptation of the halophilic bacterium *Chromohalobacter salexigens* // Syst Appl Microbiol. 2005 sep. 28(7). P. 571–581.

Veith D.C., Defoe D.L., Bergstedt B.V. Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish // J. Fish. Res. Board. Can. 1979. Vol. 36. P. 1040

Vernberg W.B., Vernberg F.J. Influence of parasitism on thermal resistance of the mud-flat snail, *Nassarius obsoleta* // Soc. Exp. Parasitol. 1963. Vol. 14. № 3. P. 330–332.

Vickers J.D., Rathbone M.P. The effect of membrane cholesterol depletion upon erythrocyte membrane-bound enzymes // Can. J. Biochem. 1979. Vol. 57. P. 1144–1152.

Viso A.C., Marty J.C. Fatty acids from 28 marine microalgae // Phytochemistry. 1993. Vol. 34. № 6. P. 1521–1533.

Voogt P.A. Lipids: their distribution and metabolism. In: Hochachka P.W. (Ed.) The Mollusca. Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics, vol.1. Academic Press. New York. P. 329–370.

Walsh P., McDonald D., Booth C. Acid-base balance in the sea mussel, *Mytilus edulis*. II. Effects of hypoxia and air-exposure on intracellular acid-base status // Mar. Biol. Lett. 1984. Vol. 5. P. 359–369.

Wedderburn J., McFadzen I., Sanger R.C., Beesley A., Heath C., Hornsby M., Lowe, D. The field application of cellular and physiological biomarkers, in the mussel *Mytilus edulis*, in conjunction with early life stage bioassays and adult histopathology // Mar. Pollut. Bull. 2000. Vol. 40. P. 257–267.

Wells P.G., Percy G.A. Effects of oil on Arctic invertebrates. In: Engelhardt F.R. (ed) Petroleum effects in the Arctic environment. 1985. Elsevier Applied Publishers. Essex. England. P. 101–156.

Wenne R., Styczynska-Jurewicz E. Gross biochemical composition of the bivalve *Macoma balthica* from the Gulf of Gdansk (Southern Baltic) // Marine biology. 1987. 96. P. 73–78.

Widdows J., Bakke T., Bayne B.L., Donkin P., Livingstone D.R., Lowe D.M., Moore M.N., Evans S.V., Moore S.L. Responses of *Mytilus edulis* on exposure to the water accommodated fraction of North Sea oil // Mar. Biol. 1982. Vol. 67. P. 15–31.

Widdows J., Donkin P. Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. - In: Gosling E (eds), The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and aquaculture. 1992. Elsevier. Amsterdam. P. 383–424.

Widdows J., Donkin P., Evans S.V. Physiological responses of *Mytilus edulis* during chronic oil exposure and recovery // Mar. Environ. Res. 1987. Vol. 23. P. 15–32.

Widdows J., Donkin P., Salkeld P.N., Evans S.V. Measurement of scope for growth and tissue hydrocarbon concentrations of mussels (*Mytilus edulis*) at sites in the vicinity of Sullom Voe: a case study. - In: Kuipers J, Van den Brink W.J. (eds) Fate and effects of oil in marine ecosystems. 1997. Nijhoff. Dordrecht. P. 269–277.

Wilson E.A., Powell E.N., Wade T.L., Taylor R.J., Presley B.J., Brooks J.M. Spatial and temporal distribution of contaminant boby burgen and disease in Gulf of Mexico oyster populations: the role of local and large-scale climatic controls // Helgolander Meeresunters. 1992. Vol. 46. P. 201–235.

Wright S.H., Moon D.A., Silva A.L. Intracellular Na⁺ and the control of amino acid fluxes in the integumental epithelium of a marine bivalve // J Exp Biol. 1989 Mar. 142. P. 293–310.

Wright S.H., Pajor A.M. Mechanisms of integumental amino acid transport in marine bivalves // Am J Physiol. 1989 Sep. 257(3 Pt 2). P. R473-R483.

Wright S.H., Wunz T.M., Silva A.L. Betaine transport in the gill of a marine mussel, *Mytilus californianus* // Am J Physiol. 1992 Aug. 263(2 Pt 2). P. R226-R232.

Wu R.S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses // Mar Pollut Bull. 2002. 45 (1-12). P. 35–45.

www.lipid.narod.ru

www.weichtiere.at/english/bivalvia/common_mussel.html

Yu J., Wade T.L., Fang J., Brooks J., McDonald S. Production of PAH metabolites in Antarctic Fish (*Notothenia gibberifrons*) closed with diesel fuel arctic (DFA) and its implications to environmental monitoring // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1995. Vol. 29. P. 241–246.

Zhukova N.V. Biosynthesis of non-methylene-interrupted dienoic fatty acids from [14C] acetate in molluscs // *Biochim et Biophys Acta*. 1986. 878. P. 131–133.

Zhukova N.V., Aizdaicher N.A. Fatty acid composition of 15 species of microalgae // *Phytochemistry*. 1995. Vol. 39. P. 351–356.

Zurburg W., de Zwaan A. The role of amino acids in anaerobiosis and osmoregulation in bivalves // *J Exp Zool*. 1981. Vol. 215 (3). P. 315–325.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

HIF-1 – hypoxia inducible factor – 1
MAP-39 – male associated polypeptide, 39 kDa
PG – простагландин
SRE – sterol regulatory element
SREBP – sterol regulatory element binding protein
АК – арахидоновая кислота
АТФ – аденозинтрифосфат
АХАТ – ацилКоАхолестерин-ацилтрансфераза
ГМГ-редуктаза – 3-гидрокси-3-метилглутарилКоА редуктаза
ДАГ – диацилглицерины
ДГК – докозагексаеновая кислота
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
Ж – жабы
ЖК – жирные кислоты
КЛ – кардиолипин
КМ – край мантии
КоQ – коэнзим Q (убихинон)
ЛФХ – лизофосфатидилхолин
М – мантия
МНЖК – мононенасыщенные жирные кислот
Н – нога
НАДН – никотинамиддинуклеотид восстановленный
НЖК – насыщенные жирные кислоты
НЛ – неидентифицированные липиды
НМРЖК – неметиленразделенные жирные кислоты
ОЛ – общие липиды
ПАУ – полициклические ароматические углеводороды
ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
ПХД – полихлорированные дифенилы
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
СФМ – сфингомиелин

ТАГ – триацилглицерины
ФЕП – фосфоенолпируват
ФИ – фосфатидилинозитол
ФЛ – фосфолипиды
ФС – фосфатидилсерин
ФХ – фосфатидилхолин
ФЭА – фосфатидилэтаноламин
ХС – холестерин
ц-АМФ – циклический аденозинмонофосфат
ц-ГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ЦО – целый организм
ЭПК – эйкозопентаеновая кислота
ЭХС – эфиры холестерина
ЯМР – ядерный магнитный резонанс

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Часть I. Липидный состав мидий <i>Mytilus edulis</i> L. Белого моря	9
Глава 1. Биология обыкновенной мидии <i>Mytilus edulis</i> L.	11
I.1.1 Особенности внешнего и внутреннего строения <i>Mytilus edulis</i> L.	12
I.1.2 Половая система и развитие <i>Mytilus edulis</i> L.	18
I.1.3 Паразиты мидий <i>Mytilus edulis</i> L.	22
I.1.4 Особенности среды обитания мидий <i>Mytilus edulis</i> L. Литораль и сублитораль	24
I.1.5 Марикультура <i>Mytilus edulis</i> L.	28
Глава 2. Состав липидов беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L. ...	31
I.2.1 Суммарные липиды и их основные классы	31
I.2.1.1 Фосфолипиды и холестерин – основные структурные компоненты мембран	32
I.2.1.2 Триацилглицерины и эфиры холестерина – основные запасные липиды	44
I.2.1.3 Жирные кислоты как структурные компоненты липидов	47
I.2.2 Липидный состав мидий <i>Mytilus edulis</i> L. из разных местобитаний в Белом море (литораль и марикультура)	56
I.2.3 Возрастные особенности липидного состава мидий <i>Mytilus edulis</i> L.	62
I.2.4 Распределение липидов по некоторым органам мидий <i>Mytilus edulis</i> L.	67
I.2.5 Сравнение липидного состава мидий <i>Mytilus edulis</i> с другими видами двустворчатых моллюсков Белого моря	71
Часть II. Роль липидов в адаптациях морских организмов к основным факторам среды обитания	83
Глава 1. Соленость – основной фактор морской среды обитания	94
II.1.1 Гомойосмотические организмы и их липидный состав при влиянии солености	95
II.1.2 Пойкилоосмотические организмы и их липидный состав при влиянии солености	98
II.1.3 Модификации липидного спектра беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L. в ответ на действие различной солености морской воды	109

П.1.3.1 Изменения липидных параметров, характеризующих физическое состояние мембран	110
П.1.3.2 Изменения содержания запасных липидов	119
П.1.3.3 Изменения физиологически активных липидов и жирных кислот	122
П.1.3.4 Действие умеренных и критических значений солёности на липидный состав беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i>	134
П.1.3.5 Ответная реакция на уровне изменения липидного состава на действие солёности в отдельных органах беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L.	139
П.1.3.6 Зависимость изменений липидного состава в ответ на действие различной солёности морской воды от стадии репродуктивного цикла беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i>	142
П.1.3.7 Зависимость колебаний липидного состава в ответ на действие различной солёности морской воды от местообитания мидий <i>Mytilus edulis</i> в Белом море	148
Глава 2. Краткосрочная аноксия – основной фактор приливо-отливной среды обитания	153
П.2.1 Адаптации морских моллюсков к действию низких концентраций кислорода в окружающей среде	153
П.2.2 Двустворчатые моллюски – факультативные анаэробы. Их липидный состав при влиянии гипоксии/аноксии	165
П.2.3 Модификации липидного состава у беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L. в ответ на краткосрочную аноксию	169
П.2.4 Некоторые схожие черты изменений липидного состава у беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L. в ответ на действие различной солёности и краткосрочной аноксии	176
Глава 3. Нефть – один из основных загрязняющих факторов морской среды обитания	180
П.3.1 Влияние нефтепродуктов на морских моллюсков	190
П.3.2 Изменения в составе липидов и жирных кислот у беломорских мидий <i>Mytilus edulis</i> L. в ответ на действие нефтепродуктов	194
Заключение	204
Список литературы	208
Список сокращений	239

Научное издание

Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова

**Липидный состав мидий
Mytilus edulis L. Белого моря
Влияние некоторых факторов
среды обитания**

*Печатается по решению
Института биологии КарНЦ РАН*

Издано в авторской редакции

На обложке использованы фотографии
И.Н. Бахмета

Сдано в печать 30.03.10. Формат 60х84¹/₁₆.
Гарнитура Times. Печать офсетная.
Уч.-изд. л. 13,00. Усл.-печ. л. 14,2. Изд. № 88.
Тираж 200. Заказ 864

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