

УДК 577.115:591.473.31:639.215.2:591.543.42

С.В. Сисолятин\*, С.В. Мідик, С.В. Хижняк

## Вплив гіпоксії-гіперкапнії на жирнокислотну складову ліпідів білих м'язів коропа *Cyprinus carpio*

UDC 577.115:591.473.31:639.215.2:591.543.42

S.V. Sysoliatin\*, S.V. Midyk, S.V. Khyzhnyak

## Influence of Hypoxia and Hypercapnia on Fatty Acid Composition of Lipids in White Muscles of Common Carp *Cyprinus carpio*

**Реферат:** Дослідження участі жирних кислот тканин риб у процесах реактивності організму за дії екзогенних чинників є необхідною ланкою у вивченні клітинних механізмів гіпобіотичного впливу. Методом газової хроматографії визначено склад та кількісний вміст жирних кислот загальних ліпідів білих м'язів коропа української лускатої породи. Ідентифіковано 28 жирних кислот та виявлено перерозподіл їх кількісного вмісту за гіпокси-гіперкапнічного впливу зі зниженням температури середовища (штучний гіпобіоз). Встановлено зниження сумарного вмісту насичених та збільшення вмісту ненасичених жирних кислот переважно за рахунок поліненасичених кислот родин  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6. Припускається, що підтримання оптимального співвідношення  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 в умовах експерименту відбувається шляхом участі ацил-ліпідних  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-десатураз. Виявлені модифікації вмісту жирних кислот ліпідів білих м'язів коропа, ймовірно, залучені до клітинного механізму дії гіпобіотичних чинників (гіпоксія, гіперкапнія, гіпотермія) на організм риб.

**Ключові слова:** жирні кислоти, білі м'язи, короп, штучний гіпобіоз, гіперкапнія, гіпоксія.

**Реферат:** Исследование участия жирных кислот тканей рыб в процессах реактивности организма при действии экзогенных факторов – важное звено в изучении клеточных механизмов гипобиотического воздействия. Методом газовой хроматографии определены состав и количественное содержание жирных кислот общих липидов белых мышц карпа украинской чешуйчатой породы. Идентифицировано 28 жирных кислот и установлено перераспределение их количественного содержания при гипоксии-гиперкапническом воздействии со снижением температуры среды (искусственный гипобиоз). Установлено снижение суммарного содержания насыщенных и рост содержания ненасыщенных жирных кислот преимущественно за счет полиненасыщенных кислот семей  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6. Предполагается, что поддержание оптимального соотношения  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 в условиях исследования осуществляется при участии ацил-липидных  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-десатураз. Установленные модификации содержания жирных кислот липидов белых мышц карпа, возможно, вовлечены в клеточный механизм действия гипобиотических факторов на организм рыб.

**Ключевые слова:** жирные кислоты, белые мышцы, карп, искусственный гипобиоз, гипоксия, гиперкапния.

**Abstract:** Study of the involvement of fish tissue fatty acids into the organism reactivity caused by an influence of exogenous factors is crucial for investigation of cell mechanisms underlying hypobiotic effect. Gas chromatography was used to estimate the composition and quantities of fatty acids of total lipids in white muscles of the Ukrainian scaly carp species. Twenty eight fatty acids were identified and their quantitative redistribution was revealed under hypoxic-hypercapnic action following a decrease in the environmental temperature (artificial hibernation). The decrease in total content of saturated and an increase in the one of unsaturated fatty acids was mainly due to the  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyunsaturated acids family. The optimum  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 ratio under the studied conditions was supposedly maintained due to acyl-lipid  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6-desaturase activity. Modified content of total lipids fatty acids in carp white muscles was likely a part of the cell mechanism of hypobiosis factors action in the fish organism.

**Key words:** fatty acids, white muscles, carp, artificial hibernation, hypercapnia, hypoxia.

Дослідження адаптації тваринних організмів до умов довкілля (зниження температури, гіпоксія тощо) залишається актуальною проблемою теоретичних та прикладних біологічних досліджень. У риб у процесі еволюції виробилися механізми пристосування до впливу стрес-факторів водного середовища на молекулярному, клітинному, біохімічному, фізіологічному, поведінковому та інших рівнях організації [2, 7]. Одним із таких адаптаційних механізмів є перехід тваринних організмів у стан

The investigation of adaptation of animal organisms to environmental conditions (low temperature, hypoxia, etc.) has remained an actual problem of theoretical and applied biological studies. During the evolution the fishes acquired the mechanisms of adaptation to the influence of stress factors existing in an aquatic environment at molecular, cell, biochemical, physiological, behavioral and other levels of organization [6, 16]. One of these adaptation mechanisms is the transition of animal organism to a state of a reduced activity

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

\*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна 03041;  
тел.: (+38 097) 309-19-28  
електронна пошта: sergiy\_sv@ukr.net

Надійшла 03.05.2017

Прийнята до друку 24.07.2017

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

\*To whom correspondence should be addressed:

15, Heroiv Oborony str., Kyiv, Ukraine 03041;  
tel.:+380 97 309 1928  
e-mail: sergiy\_sv@ukr.net

Received May, 03, 2017

Accepted July, 24, 2017

© 2017 S.V. Sysoliatin et al., Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

зниженої життєдіяльності (гіпобіотичний стан, або гіпобіоз), який відрізняється перебудовою фізіологічних функцій і біохімічних процесів [9]. При формуванні гіпобіотичного стану як у гоміотермних, так і пойкилотермних тварин відбуваються структурно-функціональні модифікації білків та ліпідів [11, 13].

З урахуванням умов існування риб особливу роль у їх біохімічній адаптації виконують ліпіди [5–8], зокрема це стосується жирних кислот (ЖК) – найбільш лабільного компонента ліпідних молекул, які швидко реагують на екзогенні впливи середовища [7]. Варто зазначити, що залучення жирних кислот до адаптаційних процесів, які відбуваються в організмі риб за впливу зниженої температури (гіпотермії) [1, 5, 14], призводить, зокрема, до збільшення вмісту полієнових жирних кислот (особливо  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-кислот), що спрямовано на забезпечення необхідної в'язкості біологічних мембран клітин та підтримання теплового гомеостазу організму [3, 7]. Проте слід враховувати особливості впливу гіпоксії-гіперкапнії у поєднанні з гіпотермією на ліпідну компоненту клітин різних органів тварин, зокрема й риб [12].

Оскільки жирні кислоти у якості структурних компонентів біологічних мембран та енергетичних субстратів [18] беруть участь у процесах реактивності організму за дії чинників навколишнього середовища [17, 19], то дослідження жирнокислотного профілю тканин риб, які знаходяться в гіпобіотичному стані, є перспективним та актуальним.

Метою роботи було дослідження якісного та кількісного складу жирних кислот загальних ліпідів білих м'язів коропа української лускатої породи за гіпоксії-гіперкапнічного впливу при зниженні температури середовища.

### Матеріали та методи

Експерименти проводили на коропах української лускатої породи (*Cyprinus caprio* L.) масою 250–270 г, яких отримували з Іванівського рибкомбінату Київської області. Рибу відловлювали в осінній період і для адаптації протягом трьох діб утримували в басейні об'ємом 2 000 дм<sup>3</sup>. Тварин розділили на дві групи ( $n = 5$  у кожній): 1 (контрольна) – риба знаходилася в активному стані життєдіяльності; 2 (дослідна) – риба перебувала у стані штучного гіпобіозу (вплив гіпоксії, гіперкапнії при зниженні температури довкілля) [13]. Для проведення експерименту риб поміщували у закритий скляний акваріум із температурою води 8...10°C, до якого подавали газову суміш діоксиду вуглецю та кисню у співвідношенні 1:1 протягом півтори години при швидкості продування 150–200 см<sup>3</sup>/хв (на 50–100 дм<sup>3</sup> води). В умовах зниженої температури та наростаючої гіпоксії-гіперкапнії риби

(hypobiosis), which specificity is a re-arrangement of physiological functions and biochemical processes [18]. Development of hypobiotic state is associated with structural and functional modifications of proteins and lipids both in homoiotherms and poikilotherms [9, 12].

Taking into account the habitat conditions in fish, the lipids play a significant role in biochemical adaptation [14–17], in particular, this concerns fatty acids (FAs), the most labile component of lipid molecules rapidly responding to exogenous environmental influences [16]. It should be noted that the involvement of fatty acids into adaptation, occurring in fish organism due to the effect of lowered temperature (hypothermia) [20, 14, 1], leads notably to an increased content of polyene fatty acids (especially  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 acids), providing thereby the required viscosity of biological cell membranes and maintaining the thermal homeostasis of the body [8, 16]. However, it is necessary to consider the peculiarities of hypoxic-hypercapnic influence jointly with hypothermia on the lipid component of cells of various organs of animals, including fish [10].

Since fatty acids as structural components of biological membranes and energy substrates [7] are involved into the organism reactivity due to the effects of environmental factors [5, 11], the study of the fatty acid profile of fish tissues being in hypobiosis, is perspective and relevant.

The research aim was to study the qualitative and quantitative composition of fatty acids of total lipids of Ukrainian scaly white carp under hypoxic-hypercapnic influences when the environmental temperature was reduced.

### Materials and methods

Experiments were carried out in the Ukrainian scaly carps (*Cyprinus caprio* L.) weighing 250–270 g, which were obtained from Ivanivka Fish Processing Plant of the Kyiv region. The fish were caught in autumn and were kept in a 2,000 dm<sup>3</sup> pool for three days to adapt. The animals were divided into two groups ( $n = 5$  each): 1 (control) – active fish; 2 (experimental) – fish under an artificial hypobiotic state (the influence of hypoxia, hypercapnia, with the decrease of environmental temperature) [12]. For the experiment the fish were placed into a closed glass aquarium with a water temperature of 8...10°C, supplied with the gas mixture of carbon dioxide and oxygen in 1:1 ratio for half an hour at a blowing rate of 150–200 cm<sup>3</sup>/min (at 50–100 dm<sup>3</sup> water). Under conditions of lowered temperature and increasing hypoxia-hypercapnia fish gradually switched to a hypobiotic state (suspended animation).

Fish of groups 1 (control) and 2 (at the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hour of exposure to artificial hypobiosis) were dissected and the white muscle tissues were extracted. Homogenization and extraction of lipids were performed



поступово переходили у гіпобіотичний стан (знижена життєдіяльність).

Риб груп 1 (контроль) і 2 (на 6- і 24-у години експозиції штучного гіпобіозу) препарували та вилучали тканини білих м'язів. Проводили гомогенізацію та екстракцію ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю за методом Фолча [16]. Отримували метилові етери жирних кислот за методом W.W. Christi [15] та аналізували їх на газовому хроматографі «Trace GC Ultra» («Thermo Scientific», США). Розділення проводили на високополярній капілярній хроматографічній колонці «SPTM - 2560» («Supelco», США). Для ідентифікації кислот використовували стандартну суміш метилових етерів жирних кислот «37 Compone FAME Mix» («Supelco») [10] (3). Для кількісної оцінки індивідуальних ЖК застосовували метод нормування площі піка та представляли відносний вміст ЖК у відсотках до їх загальної кількості.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента та за допомогою комп'ютерної програми «Excel» («Microsoft», США). Зміни вважалися статистично значущими за  $p < 0,05$ .

### Результати та обговорення

Методом високочутливої газорідної хроматографії в білих м'язах коропа у стані активної життєдіяльності (група 1) ідентифіковано 28 жирних кислот. Виявлено коротко-, середньо- та довголанцюгові ЖК. Серед насичених жирних кислот (НЖК) домінували пальмітинова ( $C_{16:0}$ ) та стеаринова ( $C_{18:0}$ ) кислоти (22,5 та 5,6% відповідно). Ненасичені жирні кислоти (ННЖК) були неоднорідними: мононенасичені жирні кислоти (МНЖК) найбільш представлені пальмітолеїною ( $C_{16:1\omega9}$ ) та олеїною ( $C_{18:1\omega9}$ ) кислотами (4,7 та 19,3% відповідно), серед поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) переважали лінолева ( $C_{18:2\omega6}$ ), ейкозатрієнова ( $C_{20:3\omega6}$ ), арахідонова ( $C_{20:4\omega6}$ ), ейкозапентаєнова ( $C_{20:5\omega3}$ ), докозагексаєнова ( $C_{22:6\omega3}$ ) кислоти (14,1; 3,70; 3,8; 7,6 та 8,1% відповідно). Інші жирні кислоти містилися у невеликій кількості (табл. 1). Коефіцієнт ненасиченості (НЖК/ННЖК) дорівнював 0,47.

Під час дослідження ЖК-спектра загальних ліпідів білих м'язів коропа за гіпоксигіперкапічного впливу (ГГВ) не встановлено якісних змін щодо контролю, пула ЖК ліпідів, однак відмічено перерозподіл їх вмісту щодо контролю (табл. 1). Відбувалося зменшення сумарної кількості НЖК, зокрема за рахунок зниження вмісту  $C_{14:0}$ ,  $C_{15:0}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{17:0}$ ,  $C_{18:0}$ ,  $C_{20:0}$ ,  $C_{21:0}$ ,  $C_{22:0}$ ,  $C_{23:0}$ ,  $C_{24:0}$  кислот, на 6- та 24-у години гіпоксигіперкапічного впливу у середньому на 41,7 та 65,9% відповідно порівняно з контролем (рис. 1). Можливо, це пов'язано з їх використанням у якості енергетичного субстрату [9, 17].

with chloroform methanol mixture according to the Folch method [4]. The fatty acid methyl esters were prepared according W.W. Christi [2] and analyzed by means of Trace GC Ultra gas chromatograph (Thermo Scientific, USA). The separation was carried out with a high-polar capillary chromatographic column SPTM-2560 (Supelco, USA). Acids were identified using the standard mixture of methyl esters of fatty acids 37 Compone FAME Mix (Supelco) [3]. For quantification of individual FAs, the method of area normalization was used and the relative content of FAs was represented as the percentage to their total amount.

The obtained results were processed by the method of variation statistics using Student's t-criterion and Excel software (Microsoft, USA). Changes were considered as statistically significant at  $p < 0.05$ .

### Results and discussion

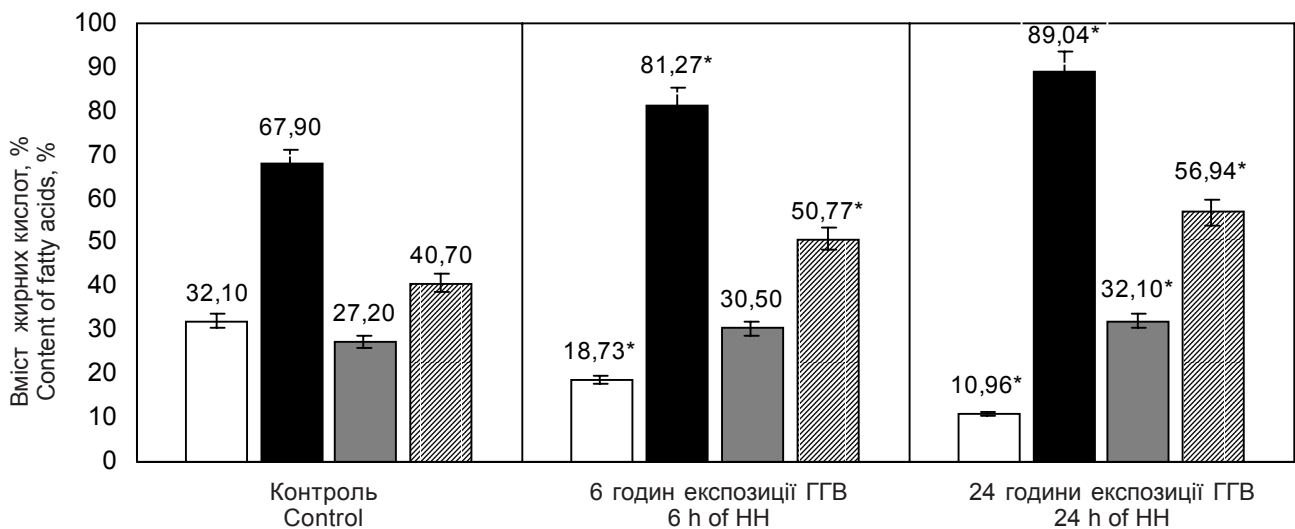
By means of highly sensitive method of gas-liquid chromatography we identified 28 fatty acids in carp white muscles during active vital state (group 1). Short, medium and long chain FAs were found. Among the saturated fatty acids (SFA) palmitic ( $C_{16:0}$ ) and stearic ( $C_{18:0}$ ) acids (22.5 and 5.6%, respectively) dominated. Unsaturated fatty acids (UFAs) were heterogenous, e. g. monounsaturated fatty acids (MUFAs) were mostly represented by palmitoleic ( $C_{16:1\omega9}$ ) and oleic ( $C_{18:1\omega9}$ ) acids (4.7 and 19.3%, respectively), among the polyunsaturated fatty acids (PUFAs) the following acids dominated: linoleic ( $C_{18:2\omega6}$ ), eicosatrienoic ( $C_{20:3\omega6}$ ), arachidonic ( $C_{20:4\omega6}$ ), eicosapentaenoic ( $C_{20:5\omega3}$ ), docosahexaenoic (C $\omega$ ) (14.1, 3.70, 3.8, 7, 6 and 8.1%, respectively). Other fatty acids were found in small quantities (Table 1). Unsaturation ratio (FAs/UFAs) was 0.47.

Investigation of the FA spectrum of total lipids of carp white muscles under hypoxic-hypercapnic effect found no qualitative changes in respect of the control of a pool of FA lipids, however, there was a redistribution of their content versus the control (Table 1). There was a decrease in total amount of UFAs, in particular due to a reduced content of  $C_{14:0}$ ,  $C_{15:0}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{17:0}$ ,  $C_{18:0}$ ,  $C_{20:0}$ ,  $C_{21:0}$ ,  $C_{22:0}$ ,  $C_{23:0}$ ,  $C_{24:0}$  acids to the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hour of hypoxic-hypercapnic effect in average by 41.7 and 65.9%, respectively, relative to the control (Fig. 1). This may be due to their expenditure as an energy substrate [18, 5].

Total content of UFAs was increased due to a rise in the level of MUFAs and PUFAs if compared with the control (Fig. 1). Under hypoxic-hypercapnic effect the unsaturation ratio (FAs/UFAs ratio) decreased to the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hour if compared to the control and was 0.23 and 0.12, respectively.

It has been established (Fig. 1) that total content of MUFAs at the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of hypobiotic exposure was increased due to a rise in the content of  $C_{14:1}$ ,  $C_{15:1}$ ,  $C_{16:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:1\omega9}$ ,  $C_{20:1\omega9}$ ,  $C_{22:1\omega9}$ ,  $C_{24:1}$  acids



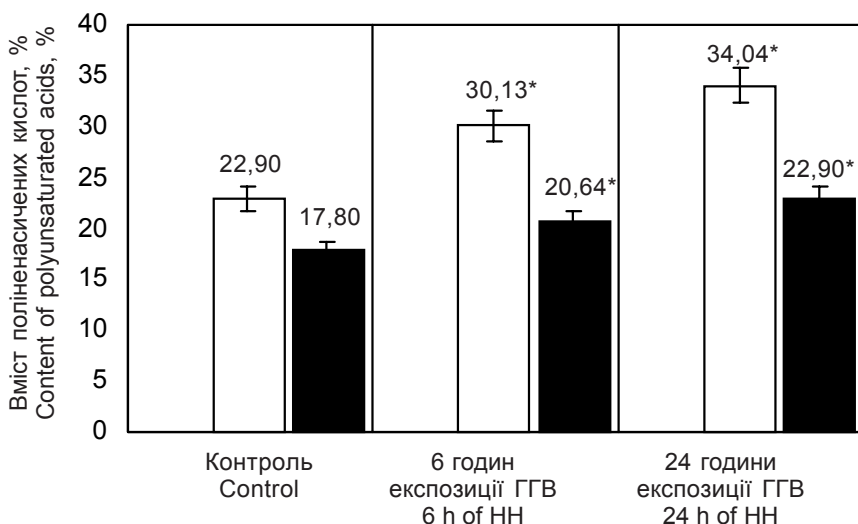


**Рис. 1.** Вміст насичених та ненасичених жирних кислот загальних ліпідів білих м'язів коропа в нормі (контроль) та за гіпокси-гіперкапічного впливу (ГГВ), відсоток від загального вмісту жирних кислот ( $n = 5$ ): □ –  $\sum$  НЖК, ■ –  $\sum$  ННЖК, ▒ –  $\sum$  МНЖК, ▨ –  $\sum$  ПНЖК; \* – різниця статистично значуща відносно контролю,  $p < 0,05$ .

**Fig. 1.** Content of saturated and unsaturated fatty acids in carp white muscle lipids in norm (control) and after hypoxia and hypercapnia (HH), % of total fatty acid content ( $n = 5$ ): □ –  $\sum$  SFAs, ■ –  $\sum$  UFAs, ▒ –  $\sum$  MUFAs, ▨ –  $\sum$  PUFAs; \* –  $p < 0.05$  vs. control.

Сумарний вміст ННЖК збільшувався за рахунок підвищення рівня МНЖК та ПНЖК порівняно з контролем (рис.1). За гіпокси-гіперкапічного впливу коефіцієнт ненасиченості (величина НЖК/ННЖК) на 6- та 24-у години зменшився порівняно з контролем і становив 0,23 та 0,12 відповідно.

as compared to the control by 12.0 and 18.0%, respectively, and the level of PUFA increased at the expense of FA families of  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 by 24.7 and 39.9%, respectively. Total content of PUFAs of the  $\omega$ -6 family at the expense of  $C_{18:2\omega6}$ ,  $C_{18:3\omega6}$ ,  $C_{20:2\omega6}$ ,  $C_{22:2\omega6}$ ,  $C_{20:4\omega6}$



**Рис. 2.** Вміст  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6 поліненасичених жирних кислот загальних ліпідів білих м'язів коропа в нормі (контроль) та за гіпокси-гіперкапічного впливу (ГГВ), відсоток від загального вмісту жирних кислот ( $n = 5$ ): □ –  $\sum$   $\omega$ -6 ( $\sum$  n-6), ■ –  $\sum$   $\omega$ -3 ( $\sum$  n-3); \* – різниця статистично значуща відносно контролю,  $p < 0,05$ .

**Fig. 2.** Content of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyunsaturated fatty acids in carp white muscle lipids in norm (control) and after hypoxia and hypercapnia (HH), % of total fatty acid content ( $n = 5$ ): □ –  $\sum$   $\omega$ -6 ( $\sum$  n-6), ■ –  $\sum$   $\omega$ -3 ( $\sum$  n-3); \* –  $p < 0.05$  vs. control.

increased by 31.6 and 48.6%, respectively, and total PUFA content of the  $\omega$ -3 family to the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of hypoxic-hypercapnic effect enhanced respectively by 16 and 27.8% due to  $C_{18:3\omega3}$ ,  $C_{20:3\omega3}$ ,  $C_{20:5\omega3}$ ,  $C_{22:6\omega3}$  acids (Fig. 2).

Among the main PUFAs of the  $\omega$ -3 family  $C_{20:5\omega3}$ ,  $C_{22:6\omega3}$  acids (Table 1) prevail, which have a high metabolic activity [13]. It has been established that their content increases under hypoxic-hypercapnic effect, and taking into account their importance in thermal stabilization of the lipid component of cell membranes, these changes can be directed to regulation of viscosity of biomembranes and, accordingly, functional activity of membrane-bound enzymes. Similar changes in the content of docosahexaenoic acid were observed under the influence of various factors (temperature lo-



Встановлено, що сумарний вміст МНЖК на 6- і 24-у години експозиції гіпобіозу збільшувався за рахунок підвищення вмісту  $C_{14:1}$ ,  $C_{15:1}$ ,  $C_{16:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:1\omega9}$ ,  $C_{20:1\omega9}$ ,  $C_{22:1\omega9}$ ,  $C_{24:1}$  кислот порівняно з контролем на 12,0 та 18,0% відповідно, а рівень ПНЖК збільшувався за рахунок ЖК родин  $\omega$ -6 та  $\omega$ -3 на 24,7 та 39,9% відповідно (рис. 1). Сумарний вміст ПНЖК родини  $\omega$ -6 за рахунок  $C_{18:2\omega6}$ ,  $C_{18:3\omega6}$ ,  $C_{20:2\omega6}$ ,  $C_{22:2\omega6}$ ,  $C_{20:4\omega6}$  кислот зростав на 31,6 та 48,6% відповідно, а сумарний вміст ПНЖК родини  $\omega$ -3 на 6- та 24-у години гіпоксигіперкапічного впливу за рахунок  $C_{18:3\omega3}$ ,  $C_{20:3\omega3}$ ,  $C_{20:5\omega3}$ ,  $C_{22:6\omega3}$  кислот збільшувався на 16 та 27,8% відповідно (рис. 2).

Серед основних ПНЖК родини  $\omega$ 3 переважають  $C_{20:5\omega3}$ ,  $C_{22:6\omega3}$  кислоти (таблиця), які мають високу метаболічну активність [4]. Встановлено зростання їх вмісту за гіпоксигіперкапічного впливу, а враховуючи їх значення в термостабілізації ліпідної компоненти клітинних мембран, ці зміни можуть бути направлені на регуляцію в'язкості біомембран та, відповідно, на функціональну активність мембранозв'язаних ферментів. Подібні зміни вмісту докозагексаєнової кислоти спостерігалися за впливу різних чинників (зниження температури, підвищення солоності або тиску тощо), що дозволило назвати цю кислоту «кислотою адаптації» [4]. Серед основних ПНЖК родини  $\omega$ -6 найбільших змін зазнала арахідонова ( $C_{20:4\omega6}$ ) кислота (таблиця), яка, входячи до складу клітинних мембран, взаємодіє з білковими комплексами та впливає на функціонування рецепторів, транспортних і сигнальних систем [5].

Відомо, що ПНЖК – попередники біологічно активних речовин [3, 14]. Похідними арахідонової  $\omega$ -6 ПНЖК є ряд тромбоксанів і лейкотриєнів, які посилюють проникність мембрани та викликають запальні явища, а метаболіти  $\omega$ -3 ПНЖК, які є антиагрегантами та протизапальними речовинами, сприяють стабілізації мембран. Тому важливо підтримувати фізіологічне співвідношення  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 ПНЖК.

Результати наших досліджень свідчать, що на 6- та 24-у години експо-

Жирнокислотний склад загальних ліпідів білих м'язів коропа за гіпоксигіперкапічного впливу, відсоток від загального вмісту жирних кислот,  $M \pm m$  ( $n = 5$ ).

Fatty acid composition of total lipids in carp white muscles under influence of hypoxia and hypercapnia, % of total fatty acid content,  $M \pm m$  ( $n = 5$ ).

Жирні кислоти, % FAs, %	Контроль Control	Експеримент, година експозиції Experiments, exposure hour	
		6	24
14:0	0,60 ± 0,13	0,51 ± 0,13	0,48 ± 0,13
14:1	0,20 ± 0,04	0,29 ± 0,04	0,33 ± 0,03*
15:0	0,30 ± 0,04	0,22 ± 0,06	0,17 ± 0,05
15:1	0,30 ± 0,05	0,41 ± 0,05	0,46 ± 0,05*
16:0	22,50 ± 0,81	11,28 ± 1,25*	4,25 ± 0,48*
16:1	4,70 ± 0,46	5,70 ± 0,46	6,30 ± 0,42*
17:0	4,70 ± 0,46	5,70 ± 0,46	6,30 ± 0,42*
17:1	0,40 ± 0,03	0,49 ± 0,03	0,54 ± 0,02*
18:0	5,60 ± 0,59	4,60 ± 0,63	4,20 ± 0,63
18:1 $\omega$ 9	19,30 ± 0,84	20,10 ± 0,84	20,35 ± 0,86
18:2 $\omega$ 6	14,10 ± 0,67	15,76 ± 0,63*	16,3 ± 0,63*
20:0	0,40 ± 0,06	0,31 ± 0,07	0,25 ± 0,06
18:3 $\omega$ 6	0,70 ± 0,06	2,20 ± 0,38*	2,80 ± 0,42*
20:1 $\omega$ 9	1,30 ± 0,25	2,30 ± 0,33*	2,80 ± 0,29*
18:3 $\omega$ 3	1,70 ± 0,12	2,40 ± 0,19*	3,30 ± 0,33*
21:0	1,50 ± 0,25	0,93 ± 0,16	0,87 ± 0,16*
20:2 $\omega$ 6	0,30 ± 0,07	0,41 ± 0,09	0,48 ± 0,08*
22:0	0,20 ± 0,04	0,13 ± 0,03	0,10 ± 0,03
20:3 $\omega$ 6	3,70 ± 0,50	5,81 ± 0,63*	6,83 ± 0,68*
22:1 $\omega$ 9	0,50 ± 0,08	0,64 ± 0,09	0,70 ± 0,08
20:3 $\omega$ 3	0,40 ± 0,06	0,90 ± 0,20*	1,40 ± 0,34*
20:4 $\omega$ 6	3,90 ± 0,42	5,63 ± 0,35*	7,28 ± 0,70*
23:0	0,30 ± 0,05	0,21 ± 0,04	0,16 ± 0,04
22:2 $\omega$ 6	0,20 ± 0,04	0,32 ± 0,05	0,35 ± 0,05*
24:0	0,20 ± 0,02	0,13 ± 0,03*	0,11 ± 0,03*
20:5 $\omega$ 3	7,60 ± 0,59	8,30 ± 0,59	8,70 ± 0,50*
24:1	0,50 ± 0,13	0,57 ± 0,13	0,62 ± 0,13
22:6 $\omega$ 6	8,10 ± 0,41	9,04 ± 0,35*	9,50 ± 0,29*

**Примітка:** \* – різниця статистично значуща відносно контролю,  $p < 0,05$ .

**Note:** \* – the differences are statistically significant if compared with control,  $p < 0.05$

зиції гіпокси-гіперкапічного впливу на організм риби величина відношення ( $\omega$ -3/ $\omega$ -6) для ПНЖК ліпідів білих м'язів зменшувалася порівняно з контролем на 11,5 і 14,0% відповідно поряд із більш значним збільшенням вмісту  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 жирних кислот. Така динаміка може бути пов'язана з процесами десатурації та елонгації жирних кислот [1].

Відомо, що зміна ступеня ненасиченості жирних кислот (особливо за рахунок ПНЖК родин  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6) може відбуватися шляхом участі ацил-ліпідних  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-десатураз, які здійснюють реакцію десатурації жирних кислот у положеннях 3 і 6 відповідно [20]. Про їхню активність свідчить зміна величини індексів десатурації (відношення  $C_{22:6\omega3}/C_{18:3\omega3}$  та  $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$ ). Відношення  $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$  яке відображає рівень перетворення лінолевої кислоти в арахідонову, для білих м'язів коропа зросло та на 6- та 24-у години експозиції становило 0,36 та 0,42 відповідно, тоді як у контрольній групі цей показник дорівнював 0,28. Відношення  $C_{22:6\omega3}/C_{18:3\omega3}$ , яке відображає рівень метаболізму кислот родини  $\omega$ -3, знизилася та на 6- та 24-у години експозиції дорівнювало 3,77 й 2,88 відповідно, тоді як у контрольній групі становило 4,76.

Отже, за гіпокси-гіперкапічного впливу в ліпідах білих м'язів коропа спостерігаються зміни активності ацил-ліпідних  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-десатураз. Подібні зміни активності десатураз за дії штучного гіпобіозу спостерігаються і в інших органах риби [1, 4, 12]. Ймовірно, активність цих високо-специфічних ферментів за дії зовнішніх чинників спрямована на підтримання оптимального рівня відношення ( $\omega$ -3/ $\omega$ -6) за рахунок контролю вмісту ПНЖК.

Таким чином, оскільки ПНЖК безпосередньо беруть участь у регуляції більшості клітинних процесів, то виявлені зміни спектрів ПНЖК родин  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6 за гіпокси-гіперкапічного впливу (штучного гіпобіозу) можна розглядати як мобілізацію адаптивних реакцій організму.

## Висновки

Проведені дослідження ЖК-спектра загальних ліпідів білих м'язів коропа свідчать про перерозподіл вмісту жирних кислот в умовах гіпокси-гіперкапічного впливу при зниженні температури (штучний гіпобіоз), що призводить до зниження вмісту насичених та підвищення ненасичених жирних кислот. Найбільших змін зазнають ПНЖК родин  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6, а саме: докозагексаєнова, ейкозапентаєнова та арахідонова кислоти, які володіють високою метаболічною активністю. Передбачається, що підтримання оптимальної величини співвідношення  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 може відбуватися шляхом залучення ацил-ліпідних  $\omega$ -3- та  $\omega$ -6-десатураз, а це є одним із проявів біохімічної адаптації. Виявлені

wering, increasing salinity or pressure, *etc.*), which allowed this acid to be defined as an 'adaptation acid' [13]. Among the main PUFAs of the  $\omega$ -6 family, the largest changes occurred in arachidonic ( $C_{20:4\omega6}$ ) acid (Table 1), which, being a part of cell membranes, interacted with protein complexes, affecting the functioning of receptors, transport and signaling systems [14].

It is known that PUFAs are precursors of biologically active substances [8, 1]. Arachidone  $\omega$ -6 PUFA derivatives are a series of thromboxanes and leukotrienes that enhance the permeability of the membrane and cause inflammation, and the  $\omega$ -3 PUFA metabolites, which are anti-platelets and anti-inflammatory agents, contribute to the stabilization of membranes. Therefore it is important to maintain the physiological ratio of  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 PUFAs.

The results of our studies indicate that at the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of hypoxic-hypercapnic exposure on fish organism the ratio of ( $\omega$ -3/ $\omega$ -6) in case of white muscle lipid PUFAs decreased if compared with the control by 11.5 and 14.0%, respectively, along with a more significant rise in the content of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 fatty acids. This dynamics may be related to desaturation and fatty acid elongation [20].

It is known that a change in the unsaturation degree of fatty acids (especially at the expense of PUFAs of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 families) can occur due to the participation of acyl-lipid  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6-desaturases, which perform the desaturation of fatty acids at positions 3 and 6, respectively [19]. Their activity is evidenced by the change in the values of desaturation indices ( $C_{22:6\omega3}/C_{18:3\omega3}$  and  $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$  ratio). The ratio  $C_{20:4\omega6}/C_{18:2\omega6}$  which shows the conversion rate of linoleic acid to arachidone one, for carp white muscles increased, and to the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of exposure was 0.36 and 0.42 respectively, whereas in the control group this index was 0.28. The ratio  $C_{22:6\omega3}/C_{18:3\omega3}$  which reflects the level of metabolism of the family  $\omega$ -3 acids, decreased, and at the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of exposure was 3.77 and 2.88 respectively, while in the control group that was 4.76.

Consequently, the changes in activity of acyl-lipid  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6-desaturase are observed in lipids of white carp muscles after hypoxic-hypercapnic effects. Similar changes in the activity of desaturases under artificial hypobiosis are found in other organs of fish [20, 13, 10]. The activity of these highly specific enzymes under the influence of external factors is likely aimed at maintaining an optimal ( $\omega$ -3 /  $\omega$ -6) ratio by control of PUFAs content.

Thus, since PUFAs are directly involved into regulation of the majority of cellular processes, the observed changes in the  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 families PUFA spectra under hypoxic-hypercapnic effect (artificial hypobiosis) can be considered as mobilization of body adaptive responses.



модифікації вмісту ЖК ліпідів білих м'язів коропа можна пояснити залученням ЖК до систем реактивності організму за дії гіпобіотичних чинників, що забезпечує оптимальну роботу всіх метаболічних процесів.

## Література

1. Веланский П.В., Костецкий Э.Я. Липиды морских холодно-водных рыб // Биология моря. – 2008. – Т. 34, №1. – С. 53–57.
2. Гулевский А.К., Щенявский И.И., Релина Л.И. и др. Холодовая адаптация пойкилотермных и гетеротермных животных // Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины / Под ред. ак. НАНУ А.Н. Гольцева. – Харьков, 2012. – С. 127–164.
3. Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы. Обзор // Биохимия. – 1998. – Т. 63, Вып. 1. – С. 6–15.
4. Мурзина С.М., Неведова З.А., Немова Н.Н. Влияние жирных кислот на механизмы адаптации в условиях высоких широт // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. – №2. – С. 18–25.
5. Назаров П.Е., Гроза Н.В. Полиненасыщенные жирные кислоты как универсальные биогенные эндорегуляторы // Вестник МИТХТ. – 2009. – Т. 4, №5. – С. 3–19.
6. Попова Е.М., Кошій І.В. Ліпідні як компонент адаптації риб до екологічного стресу // Риборосподарська наука України. – 2007. – №1. – С. 49–56.
7. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. – Ленинград: Наука, 1983. – 240 с.
8. Сисолятин С.В. Ліпідний склад тканин лускатого коропа (*Syringus carpio* L.) за умов штучного вуглекислотного гіпобіозу // Риборосподарська наука України. – 2016. – №3(37). – С. 111–122.
9. Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее. – М.: Информ-Знание, 2005. – 256 с.
10. Федорченко С.В., Курта С.А. Хроматографічні методи аналізу: навч. посіб. – Івано-Франківськ: Прикарпат. нац. ун-т ім. В. Стефаника, 2012. – 146 с.
11. Хижняк С.В., Войціцький В.М., Мельничук С.Д. Енергетична функція мітохондрій за гіпобіозу: Монографія – К., 2016. – 192 с.
12. Хижняк С.В., Мідик С.В., Сисолятин С.В., Войціцький В.М. Вміст жирних кислот ліпідів різних органів щурів за гіпоксигіперкапічного впливу // Біологія тварин. – 2016. – Т. 18, №2. – С. 125–132.
13. Пат. №37303А, Україна, МПК А01К63/02. Спосіб переведення та зберігання риби в стані штучного гіпобіозу і установка для його здійснення / С.Д. Мельничук, Д.О. Мельничук, С.В. Терещенко; заявл. 04.11.99; опуб. 15.05.2001; Бюл. №4.
14. Bell M.V., Dick J.R., Porter A.E. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Lipids. – 2001. – Vol. 36, №10. – P. 1153–1159.
15. Christie W.W. Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids. – 2<sup>nd</sup> edn. – Oxford: Pergamon Press, 1982. – 207 p.
16. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.
17. Guschina L.A., Harwood J.L. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms // FEBS Lett. – 2006. – Vol. 580, №23, – P. 5477–5483.
18. Hong H., Zhou Y., Wu H. et al. Lipid content and fatty acid profile of muscle, brain and eyes of seven fresh water fish: a

## Conclusions

The performed studies of the FA spectrum of carp white muscles total lipids indicated a redistribution of the content of fatty acids under hypoxic-hypercapnic effect following a decrease in temperature (artificial hypobiosis), which led to a reduction of the saturated and an increase of unsaturated fatty acids content. The  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 PUFAs underwent the most prominent changes, in particular docosahexaenoic, eicosapentaenoic and arachidonic acids, characterized by a high metabolic activity. It is assumed that the optimal  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 ratio could be maintained by acyl-lipid  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6-desaturases, and this is a manifestation of biochemical adaptation. The revealed modifications of the content of FA lipids of white carp could be explained by the involvement of FAs into systems of reactivity of an organism under the effect of hypobiosis factors, that provided an optimal performance of all metabolic processes.

## References

1. Bell M.V., Dick J.R., Porter A.E. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Lipids 2001; 36 (10): 1153–1159.
2. Christie W.W. Lipid analysis: isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. 2<sup>nd</sup> edn – Oxford: Pergamon Press, 1982. – 207 p.
3. Fedorchenko C.V., Kurt S. Chromatographic analytic methods: Manual: Ivano-Frankivsk: 2012.
4. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem 1957; (226): 497–509.
5. Guschina L.A., Harwood J. L. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. FEBS Lett 2006; 580 (23): 5477–5483.
6. Gulevsky A.K., Shchenyavsky I.I., Relina L.I. et al. Cold adaptation of poikilothermal and heterothermal animals. In: Goltsev A.N., editor. Current Problems of Cryobiology and Cryomedicine. Khar-kiv; 2012. P. 127–164.
7. Hong H., Zhou Y., Wu H. et al. Lipid content and fatty acid profile of muscle, brain and eyes of seven fresh water fish: a comparative study. J Am Oil Chem Soc 2014; 91(5): 795–804.
8. Kogteva G.S., Bezuglov V.V. Unsaturated fatty acids as endogenous bioregulators. Review. Biokhimiya 1998; 63 (1): 6–15.
9. Khyzhnyak S.V., Voitsitsky V.M., Melnychuk S.D. Energy function of mitochondria at hypobiosis: Kiev, 2016.
10. Khyzhnyak S.V., Midik S.V., Sysolyatin S.V., Voitsitsky V.M. Content of fatty acids of lipids of different organs of rats after hypox-hypercapnic influence. Biol Tvarin 2016; 18 (2): 125–132.
11. Lovren J.A. The lipids of marine organisms. Oceanogr Mar Biol 1964; (2): 169–191.
12. Melnichuk S.D., Melnichuk D.O., Tereshchenko S.V. The method of transfer and storage of fish in a state of artificial hibernation and installation for its implementation. Patent of Ukraine №37303A, IPC A01K63/02. 2001 May 15.
13. Murzina S.A., Nefedova Z.A., Nemova N.N. Influence of fatty acids (markers of food sources of fish) on the mechanisms of adaptation in the conditions of high twins (review). Proceedings of the Karelian Research Center of Russian Academy of Sciences 2012; (2): 18–25.
14. Nazarov P.E., Groza N.V. Polyunsaturated fatty acids as universal biogenic endoregulators. Vestnik MITHT 2009; 4 (5): 3–19.



- comparative study // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2014. – Vol. 91, №5. – P. 795–804.
19. Lovern, J. A. The lipids of marine organisms // Oceanogr. Mar. Biol. – 1964. – Vol. 2. – P. 169–191
20. Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish // Rev. Fish. Sci. – 2003. – Vol. 11. – P. 107–184.
15. Popova E.M., Koschey I.V. Lipids as part of adaptation to environmental stress. Fisheries Science of Ukraine 2007; (1): 49–56.
16. Sidorov V.S. Ecological fish biochemistry. Lipids. Leningrad: Science; 1983.
17. Sysolyatin S.V. The lipid composition of tissue of scaly carp (*Cyprinus Carpio* L.) in the conditions of artificial carbon hibernation. Fisheries Science of Ukraine 2016; 3(37): 111–122.
18. Timofeev N.N. Hypobiosis and cryobiosis. Past, present, future. Moscow, 2005.
19. Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Rev Fish Sci 2003; (11): 107–184.
20. Velansky P.V., Kostetsky E.Ya. Lipids of sea cold-water fish. Biologia Morya 2008; 34(1): 53–57.

