

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Мурзиной Светланы Александровны «Роль липидов и их жирнокислотных компонентов в эколого-биохимических адаптациях рыб северных морей», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.06 – ихтиология и 03.01.04 – биохимия

Актуальность проведенного исследования. Диссертационная работа С.А.Мурзиной посвящена актуальному вопросу биологии и биохимии, - изучению биохимических механизмов адаптации организмов к воздействию отдельных факторов среды и комплекса этих факторов, роли компенсаторных изменений состава липидов и их жирнокислотного компонента в приспособлении эктотермных животных к изменяющимся условиям обитания. Роли липидов в биохимических механизмах адаптации эктотермных животных посвящено большое количество работ. Исследование С.А.Мурзиной является своевременным и востребованным в связи с тем, что объектом исследования являются арктические и субарктические рыбы, которые изучены значительно хуже, чем виды рыб, населяющие водоемы более южных широт. В частности, сведения о липидах тех видов рыб, которые были изучены в исследовании С.А.Мурзиной, были до ее работы фрагментарны.

Липиды у позвоночных, в том числе у рыб, выполняют структурные, энергетические и регуляторные функции. Фосфолипиды и холестерин, наряду с белками, являются основными компонентами клеточных мембран. Важнейшая роль в качестве энергетических субстратов принадлежит триацилглицеринам и эфирам холестерина, которые накапливаются в организме как запасные питательные вещества и играют особенно важную роль у арктических и субарктических эктотермных животных, в том числе рыб, живущих в условиях низких температур, резких изменений светового режима, а зачастую и недостатков кормов. При этом липиды обладают также функциональной активностью, некоторые из них являются вторичными мессенджерами или протекторами, улучшающими функции клеток и состояние всего организма при неблагоприятных воздействиях. Липиды являются наряду с этим предшественниками таких соединений, как стероидные гормоны и эйказаноиды или биологически активные соединения, являющиеся продуктами превращений полиненасыщенных жирных кислот 20:5 (n-3) и 22:6 (n-3). Знания о липидном составе разных видов рыб позволяют оценить экономическую целесообразность выделения из их тканей биологически активных липидов, которые могут применяться как лекарства или БАДы. Молекулярные характеристики липидов разных органов могут быть индикаторами состояния организма рыб. Понимание роли липидов в приспособлении к условиям окружающей среды может позволить усилить эффективность разведения рыб в аква-

культурах. Все это показывает важность и актуальность проведенного исследования. Разные виды и популяции арктических и субарктических рыб, являются неотъемлемыми участниками существующих водных экосистем, а понимание того, как эти системы функционируют невозможно без глубоких знаний об отдельных видах, входящих в их состав. Изучение адаптаций, связанных с изменением спектра липидов у арктических рыб, подверженных в настоящее время влиянию быстрого изменения климата, может помочь пониманию адаптивных стратегий, способствующих расширению ареала у водных животных. Это также свидетельствует об актуальности диссертационного исследования С.А.Мурзиной.

Научная новизна исследований, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированных в диссертации. В диссертационной работе С.А.Мурзиной у ряда морских и пресноводных видов арктических и субарктических рыб впервые охарактеризован состав липидов и их жирных кислот, показана его зависимость от температуры и глубины обитания, фотопериода, сезона, стадии жизненного цикла, питания. Ранее сведения о липидах этих рыб были скучными и фрагментарными. К числу таких видов, у которых в работе С.А.Мурзиной были впервые детально охарактеризованы липидные и жирнокислотные спектры и их вариации, относятся пятнистый лептоклин *Leptoclinus maculatus*, люмпен Фабрициуса *Lumpenus fabricii*, беломорская сельдь *Clupea pallasii marisalbi*, трехглазая колюшка *Gasterosteus aculeatus*, атлантический лосось *Salmo salar* и кумжа *Salmo trutta*.

Впервые получены результаты, позволяющие выявить связь между особенностями состава липидов и их жирнокислотных компонентов у отдельных популяций рыб и формированием фенотипической разнокачественности у беломорской сельди и колюшки, а также в раннем развитии молоди лососевых рыб, обитающих в реках бассейна Белого моря. Впервые показаны ярко выраженные различия в содержании, составе и метаболизме полиненасыщенных жирных кислот, принадлежащих к (n-3) и (n-6) семействам у атлантического лосося и кумжи на разных стадиях онтогенетического развития, на основе которых формируется видовая специфичность адаптационных возможностей у лососевых рыб в естественной среде обитания. Впервые проведено изучение сезонной динамики изменения состава липидов и их жирных кислот в различных органах и тканях половозрелых особей и молоди пятнистого лептоклина, дополнены имеющиеся сведения о биологии и некоторых особенностях жизненного цикла этого вида.

С.А.Мурзиной в диссертационной работе сделаны интересные и важные обобщения. Для всех изученных рыб северных морей оказалась характерной высокая степень приспособленности к условиям существования. При этом можно выделить как общие черты,

так и специфические особенности биохимических адаптаций с участием липидов и их жирных кислот у разных видов рыб. Для всех изученных арктических и субарктических рыб оказалось характерным накопление высокого уровня общих липидов, происходящее в значительной мере за счет накопления триацилглицеринов и эфиров холестерина, и их обязательное депонирование, как правило, в мышцах, печени или гонадах (а в виде исключения в уникальном «липидном мешке», как у молоди пятнистого лептоклина). При этом происходит также накопление фосфолипидов и холестерина. Другой чертой, характерной для всех изученных видов арктических и субарктических рыб, является высокая степень ненасыщенности жирных кислот липидов. Она достигается за счет доминирования по содержанию моноеновых жирных кислот в составе липидов у большинства видов этих рыб (среди которых особенно высокое содержание характерно для олеиновой кислоты). Большой вклад в низкую степень насыщенности жирных кислот липидов у рыб северных морей вносит также присутствие высоких концентраций полиеновых жирных кислот (у рыб, обитающих в море, это прежде всего жирные кислоты 20:5 n-3, 22:5 n-3 и 22:6 n-3). Это обеспечивает достаточную для нормального функционирования ферментов степень жидкости клеточных мембран разных органов. Характерной чертой адаптивной изменчивости можно, по-видимому, считать и увеличение содержания холестерина при понижении температуры обитания и повышении количества кислорода, растворенного в воде, что, очевидно, направлено на повышение стабильности клеточных мембран и на снижение повреждающего действия свободных радикалов. Наряду с этим выявлены особенности эколого-биохимических адаптаций у отдельных видов рыб северных морей.

Очень интересны полученные в работе данные о трофических взаимодействиях арктических и субарктических рыб и других гидробионтов, которые можно проследить по накоплению в их тканях незаменимых жирных кислот. У видов, входящих в морские экосистемы, эти жирные кислоты представлены 22:5 (n-3), 22:6 (n-3) и 20:4 (n-6), а у видов входящих в пресноводные экосистемы, это такие жирные кислоты, как 18:2 (n-6) и 18:3 (n-3).

Богатейший экспериментальный материал, полученный при изучении липидов арктических и субарктических рыб, имеет большую ценность. Кроме его применения для тех интересных обобщений и выводов, которые были сделаны в диссертации С.А.Мурзиной и которые важны для решения ряда проблем ихтиологии и адаптационной биохимии, он может быть использован в дальнейшем и другими авторами для сопоставления с полученными ими результатами при изучении природных адаптаций рыб. Это может обеспечить возможность выдвижения новых гипотез, создания новых теорий.

Полученные в диссертационной работе данные о содержании отдельных липидов и жирных кислот в тканях разных видов арктических рыб могут быть важны для того, чтобы

организовать выделение биологически активных липидов или жирных кислот из тканей тех видов рыб северных морей, у которых их содержание относительно высоко. Автор приводит один пример такого рода. Согласно данным последних лет, докозапентаеновая кислота - 22:5 (n-3) обладает целебными свойствами и может успешно применяться для заживления ран, кроме того ее поступление в организм человека, по-видимому, оказывает благоприятное влияние на его нервно-психическое состояние (эти исследования еще не закончены). В работе С.А.Мурзиной было выявлено относительно высокое содержание этой кислоты в липидах гонад и печени трехиглой колюшки, пока не имеющей промыслового значения. Не исключено, что гонады и печень этого вида рыб могут быть использованы для получения препаратов жирной кислоты 22:5 (n-3), которые смогут быть применены в медицинской практике. В связи с тем, что в процессе исследований все новым липидам и жирным кислотам (либо продуктам их метаболизма) оказывается свойственна биологическая активность, нельзя исключать, что практическая ценность полученных С.А.Мурзиной данных может быть еще большей, чем это представляется сейчас.

Апробация работы и публикация материалов исследования. Диссертационная работа С.А.Мурзиной была изложена в виде устных и стеновых докладов на большом числе различных съездов, конференций и симпозиумов, в том числе и международных, посвященных проблемам современной ихтиологии и биохимии. Впечатляет список публикаций не только и не столько большим их числом (по теме диссертации опубликовано 52 научные работы, из них 38 публикаций в журналах из списка ВАК), а уровнем зарубежных журналов, в которых эти статьи были опубликованы (импакт-фактор некоторых из них превышает в настоящее время 4.0).

Структура работы. Диссертационная работа С.А.Мурзиной насчитывает 376 страниц текста. Она состоит из введения и 6 глав (обзора литературы, материалов и методов исследования и четырех глав, посвященных описанию полученных результатов и их обсуждению), заключения, выводов и списка использованной в обзоре и при обсуждении результатов литературы. Иллюстративный материал представлен 48 рисунками и 52 таблицами. Список литературы включает 662 источника, из них 249 на русском и 413 на английском языках.

Глава 1 «Обзор литературы» представляет собой анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Первая часть этой главы посвящена структуре, функциям и биологической роли липидов, которые являются основными компонентами биологических мембран и источниками энергии в организме эктотермных гидробионтов северных широт. В обзоре приведены сведения о различных классах липидов, которые были изучены в настоящей работе, а также представлены последние данные об изменении физико-

химических свойств биомембран при действии различных факторов среды (температуры, давления, фотопериода и др.). Особое внимание уделено жирнокислотным компонентам липидов и их роли в обеспечении компенсаторных механизмов адаптации у рыб морских и пресноводных экосистем. Интересны разделы обзора, посвященные трофическим биомаркерам. Приведены данные изучения переноса «пищевых» жирных кислот по взаимосвязанным звеньям пищевой цепи от бактерий до консументов высокого порядка. В ряде разделов первой главы последовательно приводятся сведения о биологии, экологии, таксономии и эволюции исследованных в работе видов рыб. Анализ литературы позволил автору выявить нерешенные вопросы и обосновать цель и задачи исследования.

Глава 2 «Материал и методы исследования» содержит сведения об объектах исследования, отборе биологического материала, характеристике исследованных биотопов, в которых производился отбор проб. Автором приведены необходимые фотоматериалы. Для решения поставленных задач в работе использованы современные методы анализа липидов и жирных кислот: тонкослойная, высокоэффективная жидкостная и газожидкостная хроматографии. Эти методы достаточно подробно описаны этой главе. Охарактеризованы гистологические и некоторые биологические методы исследования, также примененные в работе. Использование современных методов исследования и адекватная цели исследования и поставленным задачам статистическая обработка данных обеспечили получение достоверных результатов.

В последующих четырех главах (главы 3-6) автором изложены результаты исследований и их обсуждение, каждая из этих глав имеет подглавы.

Глава 3 диссертационной работы С.А.Мурзиной посвящена изучению экологобиохимических адаптаций и стратегий жизненного цикла пятнистого лептоклина *Leptoclinus maculatus* в акватории архипелага Шпицберген. Автором впервые проведен сравнительный анализ липидного состава тканей и органов половозрелых самок лептоклина в разные сезоны (в июле – летом, в октябре – осенью, в январе – зимой и частично в апреле – в зимне-весенний период). Обсуждается связь сезонной динамики липидных показателей в разных тканях и органах рыб с общим ходом их репродукции, на который влияют экологические факторы среды. Впервые проведено сравнение липидных спектров у двух видов рыб семейства стихеевых – *L. maculatus* и *Lumpenus Fabricii*, обитающих в арктической и субарктической акватории (о. Западный Шпицберген и Белое море). Впервые приведены данные паразитологического анализа половозрелых особей лептоклина пятнистого в акватории Западного Шпицбергена. Получены данные о трофических отношениях в морских сообществах акватории архипелага Шпицберген. Представлены результаты изучения адаптивных изменений состава липидов и их жирнокислотного компонента у молоди

лептоклина, направленных на приспособление к сезонным вариациям температуры и фотопериода, а также особенностей питания. Особый интерес представляют сведения о динамике изменений липидов «липидного мешка» - особого образования тела у молоди лептоклина в разные сезоны года. Впервые проведено сравнительное исследование суточной динамики изменений липидного и жирнокислотного состава у молоди лептоклина в условиях полярной ночи.

В главе 4 обсуждаются результаты исследования особенностей накопления, расходования и трансформации липидов в гонадогенезе и онтогенезе трехиглой колюшки, что имеет значение для понимания их функциональной роли в развитии колюшки и ее адаптации к условиям среды. Проведена оценка жирнокислотного профиля тканей и органов половозрелых особей трехиглой колюшки для оценки возможности использования этого вида рыб как объекта биотехнологии.

В главе 5 приведены результаты анализа липидного статуса беломорской сельди (половозрелых особей и молоди) из разных мест обитания в Белом море (заливов). Эти данные важны для понимания популяционной структуры беломорской сельди, а также для оценки адаптивных возможностей вида в сложившихся условиях обитания.

И, наконец, глава 6 включает результаты исследований липидов и их жирнокислотных компонентов в процессах формирования фенотипических группировок молоди лососевых рыб - кумжи (*Salmo trutta*) и атлантического лосося (*Salmo salar*) на ранних этапах онтогенеза в пресноводных водотоках Европейского севера. Исследована роль липидов и их жирнокислотных компонентов в адаптации к действию комплекса факторов среды в процессе роста и развития. Особое внимание удалено формированию у молоди фенотипической разнокачественности, способствующей образованию группировок мальков с различной стратегией развития, наступления миграционного состояния, с различиями в подготовке молоди к смолтификации и последующему скату в море.

Результаты работы хорошо документированы, иллюстративный материал обширен и свидетельствует о высоком качестве экспериментальных данных.

Завершают работу выводы, которые адекватны поставленной цели и задачам исследования. Выводы, как и научные положения диссертации, защищаемые автором, сформулированы на основе большого экспериментального материала, рекомендации по использованию результатов работы хорошо обоснованы и отличаются новизной. Достоверность научных положений и выводов не вызывает сомнений.

Замечания. Говоря о недостатках диссертационной работы, следует отметить, что стиль ее изложения нельзя назвать простым в пушкинском смысле этого слова. По мнению оппонента, некоторая витиеватость в изложении материала затрудняет восприятие и

понимание полученных автором результатов. Так, например, во введении «Научная новизна» начинается следующей фразой: «Впервые на основании комплексного анализа показателей липидного метаболизма охарактеризованы липидные и жирнокислотные спектры и их вариации у ряда морских и пресноводных рыб северных морей, различающихся ...». Тогда как, если бы фраза звучала так: «Впервые охарактеризованы липидные и жирнокислотные спектры и их вариации у ряда морских и пресноводных рыб северных морей, различающихся ...», то ее было бы значительно легче воспринять и понять. Не пришлось бы напрягаться, обдумывая, какие показатели липидного метаболизма были в работе изучены. А в другом месте можно было бы разъяснить, какие изменения состава липидов или жирных кислот могут помочь понять ту или иную направленность липидного метаболизма.

Работа в целом хорошо оформлена, неточности в иллюстративном материале единичны. Оппоненту запомнился один пример. В Таблице 19 в графе «Пятнистый лептоклин, Исландия» приведены одни и те же значения для суммарного содержания полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и для ПНЖК (n-3) – $26.21 \pm 3.01\%$ от суммы жирных кислот. А ПНЖК (n-6) составляют $4.65 \pm 0.51\%$ от суммы. Поэтому суммарное содержание ПНЖК в липидах лептоклина должно быть большим, чем содержание ПНЖК (n-3).

Представляется интересным вынести на обсуждение вопрос о видовой специфичности жирнокислотного состава липидов рыб. В работе получены очень интересные данные. Так, например, выявлены ярко выраженные различия в составе жирных кислот суммарных липидов лосося и кумжи на трех разных стадиях эмбрионального развития, прежде всего в соотношении (n-3)/(n-6) ПНЖК. Они сохраняются и на более поздних этапах онтогенетического развития, хотя становятся менее выраженными. Автор говорит о том, что оптимальный жирнокислотный состав характерен для липидов каждого вида или рода, что это так называемый генотипический состав. В этой связи хочется знать мнение автора о том, надежно ли судить о видовой специфичности жирнокислотного состава, определяя состав жирных кислот суммарных липидов, либо надежнее судить о нем, определяя состав жирных кислот какого-либо конкретного липида, например, фосфатидилхолина или фосфатидилэтаноламина. Можно ли считать генетически детерминированным состав триацилглицеринов, либо все-таки их состав у рыб зависит преимущественно от питания. Кроме того, если, например, в тканях одной рыбы выше содержание какого-либо липида, для которого характерно высокое содержание ПНЖК (n-6), а у другого вида, напротив, выше содержание другого липида с высоким содержанием ПНЖК (n-3), может ли это влиять на надежность выводов, если ведется определение состава жирных кислот в суммарных липидах? Наблюдается ли в большинстве случаев при

сравнении состава жирных кислот суммарных липидов двух разных, но близкородственных видов столь же достоверные и ярко выраженные различия, как при сравнении этих показателей у лосося и кумжи на разных стадиях эмбрионального развития?

Заключение. Диссертационная работа С.А.Мурзиной «Роль липидов и их жирнокислотных компонентов в эколого-биохимических адаптациях рыб северных морей» является законченным, большим по объему и интересным научным исследованием, в котором установлены принципиально новые факты и сформулированы теоретические представления, свидетельствующие о важных достижениях автора в области решения проблем ихтиологии и функциональной биохимии. Диссертация С.А.Мурзиной по актуальности темы, высокому научному и методическому уровню, объему выполненных полевых и экспериментальных работ, научной новизне и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 октября 2013 года за № 842 (с внесенными изменениями в постановлении Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.06 – ихтиология и 03.01.04 – биохимия.

Главный научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук. Санкт-Петербург, 194223, ул. Тореза, 44.

Доктор биологических наук, профессор Аврова Наталия Федоровна Н.Ф.Аврова
avrova@iephb.ru

7 октября 2019 г.

Подпись Авровой Н.Ф. заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук Гальперина Е.И. Е.И.Гальперин

7 октября 2019 г.

