



Влияние размера тела на состав липидов и жирных кислот митохондрий у мидий *Mytilus edulis* Linnaeus

Н.Н. Фокина¹, И.В. Суховская¹ и А.А. Сухотин^{2*}

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, ул. Пушкинская, д. 11, 185910 Петрозаводск, Россия; e-mail: fokinann@gmail.com

² Зоологический институт Российской академии наук, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: alexey.sukhotin@zin.ru

Представлена 22 августа 2024; после доработки 26 ноября 2024; принята 27 ноября 2024.

РЕЗЮМЕ

Митохондрии играют решающую роль в энергетическом обмене, а зависимость скорости метаболизма от размеров тела (метаболическая аллометрия) может быть связана со свойствами мембран и их липидным составом. В настоящем исследовании изучалось влияние размера тела на состав липидов и жирных кислот митохондрий двустворчатых моллюсков мидий *Mytilus edulis* L. из Белого моря. Проанализированы мидии разных размеров, в диапазоне от 0.3 до 12.7 г сырой массы мягких тканей. Из тканей жабр были выделены митохондрии и определен их липидный и жирнокислотный состав. Показано, что, в отличие от фосфолипидов и триацилглицеринов, доля стерина в мембранах митохондрий варьирует в зависимости от размера мидий. В частности, более крупные моллюски имели низкую долю холестерина, но более высокую долю моновенасыщенных жирных кислот. В составе фосфолипидов митохондрий доминировали насыщенные жирные кислоты (НЖК), особенно пальмитиновая (16:0) и стеариновая (18:0) кислоты. Доля НЖК уменьшалась с увеличением массы тела мидий. И наоборот, моновенасыщенные жирные кислоты (МНЖК) показали положительную корреляцию с размером тела, значительно увеличиваясь у более крупных особей. Доля полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в митохондриях беломорских мидий была низкой (менее 25% от суммы всех ЖК) и не зависела от массы тела. Пониженные значения ПНЖК характерны для митохондрий двустворчатых моллюсков из арктических морей, а также для долгоживущих видов *Bivalvia*. Наши данные указывают на относительную стабильность липидного и ЖК состава митохондрий беломорских мидий. Вероятно, подобная черта жирнокислотного профиля фосфолипидов митохондрий является биохимической адаптацией, которая позволяет моллюскам поддерживать эффективный уровень активности мембранно-связанных белков независимо от размера особей.

Ключевые слова: аллометрия, жирные кислоты, липидный состав, митохондрии, размер тела, *Mytilus edulis*

Influence of body size on the composition of lipids and fatty acids in mitochondria of the mussel *Mytilus edulis* Linnaeus

N.N. Fokina¹, I.V. Sukhovskaya¹ and A.A. Sukhotin^{2*}

¹ Institute of Biology, Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Pushkinskaya str., 11, 185910 Petrozavodsk, Russia; e-mail: fokinann@gmail.com

* Автор-корреспондент / Corresponding author

² Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Emb. 1, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: alexey.sukhotin@zin.ru

Submitted August 22, 2024; revised November 26, 2024; accepted November 27, 2024.

ABSTRACT

Mitochondria play a crucial role in energy metabolism, and the relationship between metabolic rate and body size (metabolic allometry) may be linked to membrane properties and their lipid composition. We studied the influence of body size on the lipid and fatty acid composition of mitochondria in bivalve mollusks, specifically in mussels *Mytilus edulis* L. from the White Sea. This study analyzed mussels of varying sizes, ranging from 0.3 to 12.7 g of soft tissue wet mass. Mitochondria were isolated from gill tissues, and their lipid and fatty acid composition was determined. It was shown that, unlike phospholipids and triacylglycerols, the sterol proportion in mitochondrial membranes varied depending on mussel size. Larger mussels had lower cholesterol proportion but higher levels of monounsaturated fatty acids. In the composition of mitochondrial phospholipids, saturated fatty acids (SFAs), especially palmitic (16:0) and stearic (18:0) acids, predominated. The proportion of SFAs decreased with increasing mussel size. Conversely, monounsaturated fatty acids (MUFAs) showed a positive correlation with body size, significantly increasing in larger individuals. The proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in White Sea mussel mitochondria was relatively low (less than 25% of the total fatty acids) and did not depend on body mass. The reduced proportion of PUFAs is characteristic of bivalve mitochondria from Arctic seas and long-lived bivalve species. Our data indicate the relative stability of the lipid and fatty acid composition of White Sea mussel mitochondria. Such fatty acid profile of mitochondrial phospholipids is likely a biochemical adaptation, enabling mussels to maintain effective activity of membrane-associated proteins regardless of their body size.

Key words: allometry, fatty acids, lipid composition, mitochondria, body size, *Mytilus edulis*

ВВЕДЕНИЕ

Снижение удельной скорости энергетического обмена с размером тела животных (аллометрия метаболизма) отмечено более века назад (Kleiber 1932; Schmidt-Nielsen 1984). При этом, удовлетворительного объяснения эта фундаментальная биологическая закономерность до сих пор не получила, и активная дискуссия на эту тему продолжается (см. обзоры White et al. 2019; Glazier 2022; Lindstedt and Noppeler 2023). Одним из подходов для анализа механизмов аллометрии метаболизма является изучение ее на разных уровнях биологической организации – тканевом, клеточном, субклеточном. Противоречивые сведения в литературе о наличии/отсутствии аллометрии метаболизма на клеточном уровне (Porter and Brand 1995; Burpee et al. 2010; Glazier 2015; Sukhotin et al. 2017; Boël et al. 2020) приводят к мнению о потенциальном влиянии митохондрий, как основных органелл, ответственных за аэробный метаболизм в клетках.

Митохондрии – важнейшие органеллы, определяющие клеточный бюджет энергии, метаболическую активность тканей, органов и всего

организма. Имеются предварительные данные о связи как функциональных, так и количественных характеристик митохондрий с массой тела (Porter et al. 1996; Porter 2001; Brand et al. 2003; Roussel et al. 2015; Sukhotin et al. 2024). У аэробных животных в условиях нормоксии более 90% АТФ синтезируется в митохондриях в процессе окислительного фосфорилирования, все этапы которого происходят вблизи или в пределах внутренней мембраны митохондрий. Поэтому, значительную роль в регуляции скорости энергетического метаболизма играет структура и состав мембран митохондрий, свойства которых влияют на активность компонентов цепи переноса электронов, транспорт ионов и молекул через мембрану, способность поддерживать трансмембранный потенциал, неспецифическую утечку протонов по градиенту их концентрации и другие процессы (Hochachka and Somero 2002).

Мембранные липиды и их жирные кислоты (ЖК) в значительной степени определяют физико-химические свойства мембран и обеспечивают их функционирование в различных условиях окружающей среды. Так, на количество и состав ЖК в фосфолипидах морских ор-

ганизмов влияют содержание и качество пищи (Narváez et al. 2008; Prato et al. 2010; Dudognon et al. 2014; Puccinelli et al. 2017), сезон года (Lin et al. 2003; Khan et al. 2006; Alkanani et al. 2007; Baptista et al. 2014), температура воды (Guderley et al. 1997; Crockett 2008; Fokina et al. 2015), глубина обитания животных (Araújo et al. 2020). У двустворчатых моллюсков состав ЖК связан также с полом и стадией зрелости гонад, т.е., с репродуктивным циклом (Pazos et al. 1997; Kraffe et al. 2008; Kapranova et al. 2019). Наряду со структурными особенностями фосфолипидов, которые имеют полярные группы разной молекулярной формы (Logue et al. 2000), соотношение ЖК, их длина, наличие, количество и положение двойных связей определяет физико-химические свойства мембран, их проницаемость для ионов, влияет на активность ферментов.

С жирнокислотным составом связана гомеовязкостная адаптация (homeoviscous adaptation) у эктотермных животных – возможность обеспечивать вязкость и оптимальную функциональность мембран при низких температурах (Sinensky 1974; Hochachka and Somero 2002; Ernst et al. 2016). Аллометрия метаболизма также может быть связана с физико-химическими свойствами мембран и их липидным составом. Согласно теории мембранных пейсмекеров метаболизма (Membrane Pacemaker Theory of Metabolism) (Hulbert and Else 1999), состав жирных кислот в мембранах и свойства мембран закономерно меняются в зависимости от размера организма в таксономических группах. При этом, все процессы, происходящие внутри или вблизи мембран клеток и органелл, зависят от степени интегрированности и вязкости мембраны, а значит, и от состава липидов и жирных кислот.

Предыдущие работы показали, что, если у млекопитающих и птиц наблюдается снижение активности митохондрий с увеличением размеров тела (Porter and Brand 1995; Porter et al. 1996; Porter 2001), то у рыб и амфибий подобной связи не обнаружено (Burpee et al. 2010; Roussel et al. 2015), а у двустворчатых моллюсков (*Mytilus edulis*) скорость функционирования митохондрий, наоборот, увеличивается с размером тела (Sukhotin et al. 2020). С чем связан и за счет чего обеспечивается этот феномен пока неясно.

Целью настоящего исследования был анализ состава липидов и ЖК в митохондриях морских двустворчатых моллюсков мидий *Mytilus edulis* в зависимости от массы тела особей. Мы предполагаем, что отмеченное ранее аллометрическое увеличение активности митохондрий в жабрах мидий может быть связано с повышенным содержанием ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов у более крупных и быстрорастущих моллюсков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал

Мидии *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 для анализа состава липидов и жирных кислот были собраны 31.07.2023 с мидиевого хозяйства (66°20.24'N, 033°38.21'E), расположенного в губе Чупа Кандалакшского залива Белого моря. Моллюски были перенесены в лабораторию на Беломорской биостанции Зоологического института РАН «Картеш», где был определен их возраст по кольцам зимней остановки роста на раковине. Для дальнейшего анализа были отобраны особи возраста 2 и 3 года в диапазоне размеров от 0.269 до 4.064 г сырой массы мягких тканей (*W*). Здесь и далее под «размером мидий» понимается сырая масса их мягких тканей. Кроме того, для увеличения размерного ряда, из того же биотопа были взяты более старые мидии, возраста 6–11 лет, размером 5.669–12.686 г сырой массы мягких тканей. Таким образом, исследуемые моллюски представляли четыре размерных группы (среднее ± SE): мелкие (Small, $W=0.421\pm0.044$ г, $N=7$), средние (Medium, $W=1.033\pm0.063$ г, $N=12$), крупные (Large, $W=2.806\pm0.227$ г, $N=10$) и очень крупные (ExtraLarge, $W=8.083\pm0.660$ г, $N=10$). Состав липидов и ЖК определяли в жаберной ткани моллюсков. Пробы тканей (жабры), 50–100 мг сырой массы, были зафиксированы в среде для заморозки и хранения биологического материала (0.25 М сахара, 20% диметилсульфоксид (ДМСО), 0.01 М Tris-HCl, pH 7.4). Пробы хранили и транспортировали до места проведения биохимического анализа в жидком азоте. В лаборатории пробы хранили при температуре –80°C. Оставшиеся мягкие ткани мидий были извлечены из раковины, и, после удаления воды фильтровальной бумагой, взвешены с точностью до 0.001 г.

Выделение митохондрий

Выделение митохондрий из тканей моллюсков осуществляли по методике Егоровой и Афанасьева [Egorova and Afanasyev] (2011). Все этапы выделения митохондрий проводились на льду. Используемые в процессе выделения среды и оборудование были охлаждены. Для анализа замороженные образцы тканей оттаивали в растворе: 0.25 М сахароза, 0.01 М Tris-HCl, pH 7.4. После этого ткань отмывали в среде для выделения (0.07 М сахароза, 0.22 М маннитол, 0.01 М Tris-HCl (pH 7.4), 1 мМ ЭДТА, 0.4% раствор бычьего сывороточного альбумина). Далее ткань измельчали в гомогенизаторе TissueLyser LT (Qiagen, Германия) в течение 3 мин. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 2 мин. при 4°C на центрифуге Allegra 64R (Beckman Coulter Inc., США) при 3000 g. Супернатант отбирали и сохраняли. Осадок вновь ресуспендировали в среде для выделения и центрифугировали в течение 2 мин. при 4°C при 3000 g. Супернатанты объединяли и центрифугировали в течение 3 мин. при 4°C при 17500 g. Осадок ресуспендировали в среде для выделения и центрифугировали в течение 5 мин. при 4°C при 17500 g. Затем осадок ресуспендировали в среде: 0.07 М сахароза, 0.22 М маннитол, 0.01 М Tris-HCl (pH 7.4), 1 мМ ЭДТА, и центрифугировали в течение 5 мин. при 4°C при 17500 g, получали осадок митохондриальной фракции. Осадок митохондриальной фракции фиксировали в 96% этаноле для проведения дальнейшего анализа на содержание липидов и жирных кислот.

Определение состава общих липидов

Экстракцию липидов из митохондрий мидий проводили по методу Folch et al. (1957) в смеси хлороформ/метанол (2:1 по объему). Концентрировали липиды с помощью роторно-вакуумной установки Hei-VAP Advantage HL/G3 (Heidolph, Германия). Общие липиды сушили до постоянного веса с оксидом фосфора (V) при 4°C. Состав отдельных липидных классов определяли при помощи высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Фракционирование общих липидов проводили на пластинах HPTLC Silicagel 60 F254 (Merck, Германия). В качестве элюента использовали смесь гексан/диэтиловый эфир/уксусная кислота (32:8:0.8 по

объему) (Olsen and Henderson 1989). Качественное и количественное определение липидных компонентов проводили в денситометре TLC Scanner 4 (CAMAG, Швейцария) на дейтериевой лампе при длине волны 350 нм в режиме адсорбции (Hellwig 2005). Идентификация липидных классов проводилась по стандартам соответствующих компонентов: смесь фосфолипидов, холестерин, глицерилтриолеат, пальмитат холестерина (Sigma-Aldrich, США).

Содержание липидов выражалось в % от суммы фракций липидов в митохондриях мидий.

Определение жирнокислотного состава фосфолипидов

Для получения фракции фосфолипидов общие липиды митохондрий разделяли на ТСХ пластинах Silicagel 60 F254 (Merck, Германия). В качестве элюента использовали смесь петролейный эфир/диэтиловый эфир/уксусная кислота (90:10:1, по объему).

Фракцию с фосфолипидами митохондрий снимали с пластины и подвергали прямому метанолизу (хлористый ацетил в качестве катализатора реакции) для получения метиловых эфиров жирных кислот. Разделение метиловых эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе Agilent 7890A (Agilent Technologies, США). Для разделения метиловых эфиров жирных кислот использовалась капиллярная колонка «DB-23» (Phenomenex, США). Подвижная фаза: азот особой чистоты (99.999%). Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот проводили путём сравнения времен удерживания с соответствующими пиками и значениями для растворов референтных метиловых эфиров жирных кислот (Supelco 37 Component FAME Mix, Sigma Aldrich, США).

Содержание жирных кислот выражалось в % от суммы ЖК в митохондриях мидий.

Статистическая обработка данных

Для анализа влияния размеров тела на ЖК состав митохондрий мидий были рассчитаны следующие индексы:

1. Индекс НЖК/Ненасыщенные ЖК = $\frac{\sum(\text{НЖК})}{(\sum(\text{МНЖК}) + \sum(\text{ПНЖК}))}$;
2. Индекс двойных связей ИДС = $\frac{\sum(\text{моноеновых ЖК}) + (2 * \sum(\text{диеновых ЖК})) + (3 * \sum(\text{триеновых ЖК}))}{\sum(\text{НЖК})}$;

ЖК)+(4* Σ тетраеновых ЖК)+(5* Σ пентаеновых ЖК)+(6* Σ гексаеновых ЖК))/100;

3. Индекс $n-3/n-6 = \Sigma(n-3 \text{ ПНЖК}) / \Sigma(n-6 \text{ ПНЖК})$,

где НЖК – насыщенные ЖК, МНЖК – мононенасыщенные ЖК, ПНЖК – полиненасыщенные ЖК.

Поскольку содержание липидов и ЖК выражены в процентах от суммы, перед анализом для нормализации распределения данные были трансформированы с помощью ϕ -преобразования. Нормальность распределения данных в изучаемых группах проверена по критерию Колмогорова-Смирнова, а однородность дисперсий – тестом Левена. Влияние фактора «Размерная группа» на содержание липидов и ЖК, а также на их соотношения (индексы) было изучено посредством однофакторного дисперсионного анализа. Различия содержания липидов и ЖК в разных размерных группах те-

стировали с помощью апостериорного теста Тьюки (Tukey's HSD test).

Связь содержания липидов и ЖК в митохондриях с размером тела мидий анализировали с помощью регрессий типа $Y = a \cdot W^b$, где Y – исследуемый параметр, W – масса тела (г сырых мягких тканей), a и b – константы.

Вертикальные штрихи на рисунках отмечают стандартные отклонения средних.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фракции общих липидов в митохондриях жабр мидий составляли следующие пропорции: фосфолипиды от 10.8 до 18.8%, стерины (холестерин) и их эфиры от 12.5 до 27.9%, моно-, ди- и триацилглицерины (МАГ+ДАГ+ТАГ) от 5.0 до 29.2%, свободные жирные кислоты от 0.02 до 3.9% (Рис. 1). Неидентифицированная фракция (R_f 0.80–0.82) составляла от 32.7 до 48.8%.

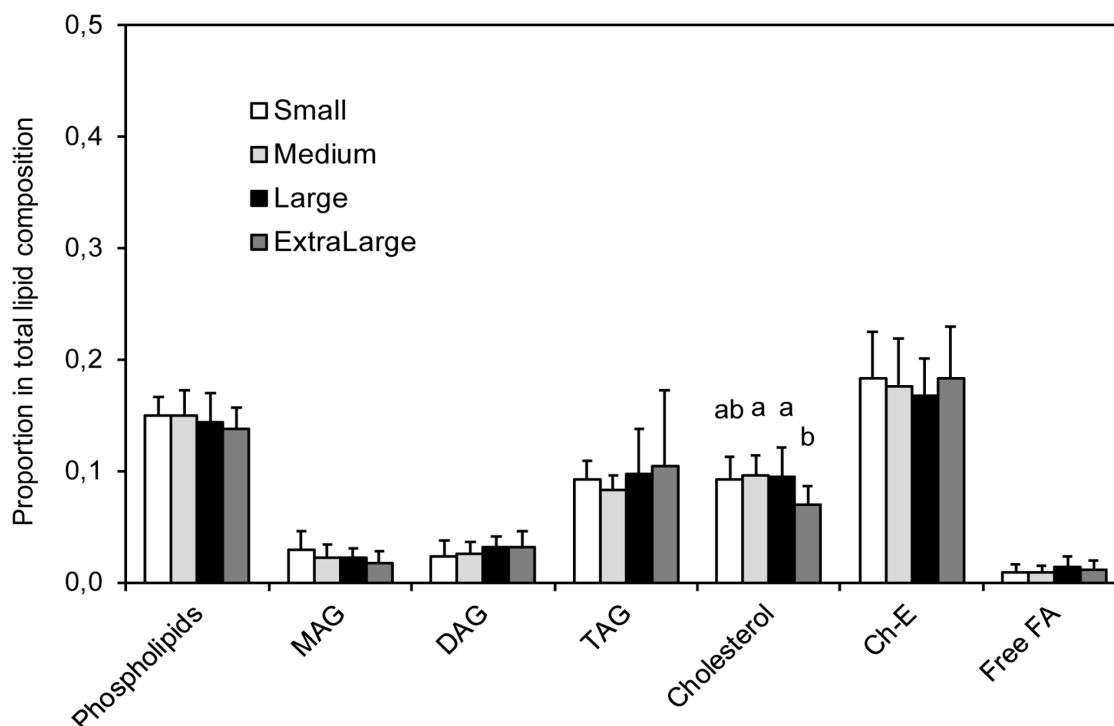


Рис. 1. Содержание липидов в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий. MAG, DAG, TAG – моно-, ди- и триацилглицерины, соответственно, Ch-E – эфиры холестерина, Free FA – свободные жирные кислоты.

Fig. 1. Lipid content in the gill mitochondria of mussels of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences. MAG, DAG, TAG are mono-, di- and triacylglycerols, respectively, Ch-E are cholesterol esters.

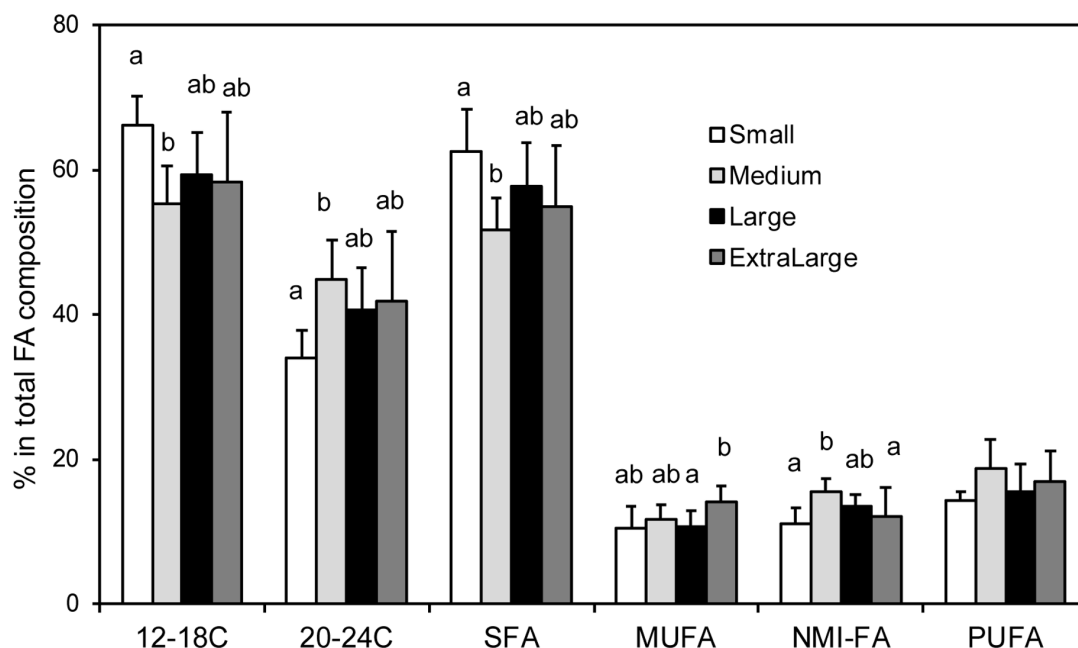


Рис. 2. Содержание жирных кислот в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). 12-18C и 20-24C – коротко- и длинноцепочечные ЖК с длиной цепи до и свыше 18 атомов углерода. SFA – насыщенные жирные кислоты, MUFA и PUFA – моно- и полиненасыщенные жирные кислоты, соответственно, NMI-FA – неметиленразделенные жирные кислоты. Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий.

Fig. 2. Content of fatty acids in the gills mitochondria of mussels of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). 12-18C and 20-24C are short- and long-chain FAs with a chain length of up to and over 18 carbon atoms. SFA are saturated fatty acids, MUFA and PUFA are mono- and polyunsaturated fatty acids, respectively, NMI-FA are non-methylene-interrupted fatty acids. Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences.

Доля холестерина в митохондриях жабр мидий варьировала в пределах 4.7–12.8%, причем у наиболее крупных/старых особей (группа ExtraLarge) холестерина содержалось на 20–25% меньше, чем в других размерных группах. Для групп Medium и Large эта разница была достоверной (Tukey's HSD test, $p < 0.05$) (Рис. 1). Зависимость содержания остальных групп липидов, а также соотношения холестерин/фосфолипиды от размеров тела мидий была недостоверна (ANOVA, регрессионный анализ).

Доминирующими жирными кислотами (ЖК) в составе фосфолипидов митохондрий мидий были насыщенные ЖК (НЖК), которые составляли от 42 до 69.9% от суммы ЖК (Рис. 2). Доля пальмитиновой (16:0) и стеариновой (18:0) кислот была максимальной среди всех изученных ЖК и варьировала от 9.6 до 27.8% и от 23.0 до 41.9%, соответственно (Рис. 3). Доля почти всех НЖК, кроме 16:0 и 18:0, имели тенденцию

к увеличению с размером мидий (Рис. 3). Достоверная положительная зависимость от размера моллюсков выявлена для короткоцепочечных НЖК 12:0 и 15:0, а также для длинноцепочечных НЖК – 20:0, 22:0 и 23:0 (Табл. 1). При этом, все указанные ЖК – минорные, их суммарная доля не превышала 8.8% от суммы ЖК. Доминирующие в составе фосфолипидов мембран митохондрий 18:0 и 16:0 ЖК такой тенденции не имели. Их доля была максимальной у самых мелких особей. Доля стеариновой кислоты (18:0) достоверно снижалась с увеличением размера мидий с 35% у мелких мидий (Small) до около 25% у наиболее крупных моллюсков (ExtraLarge) (Рис. 3, Табл. 1). Таким образом, общий тренд зависимости НЖК от размеров мидий определялся доминирующими 18:0 и 16:0 ЖК: суммарная доля НЖК была максимальной (62.4%) у мелких (Small) мидий и минимальной (52.6%) у средних (Medium) особей, причем эти

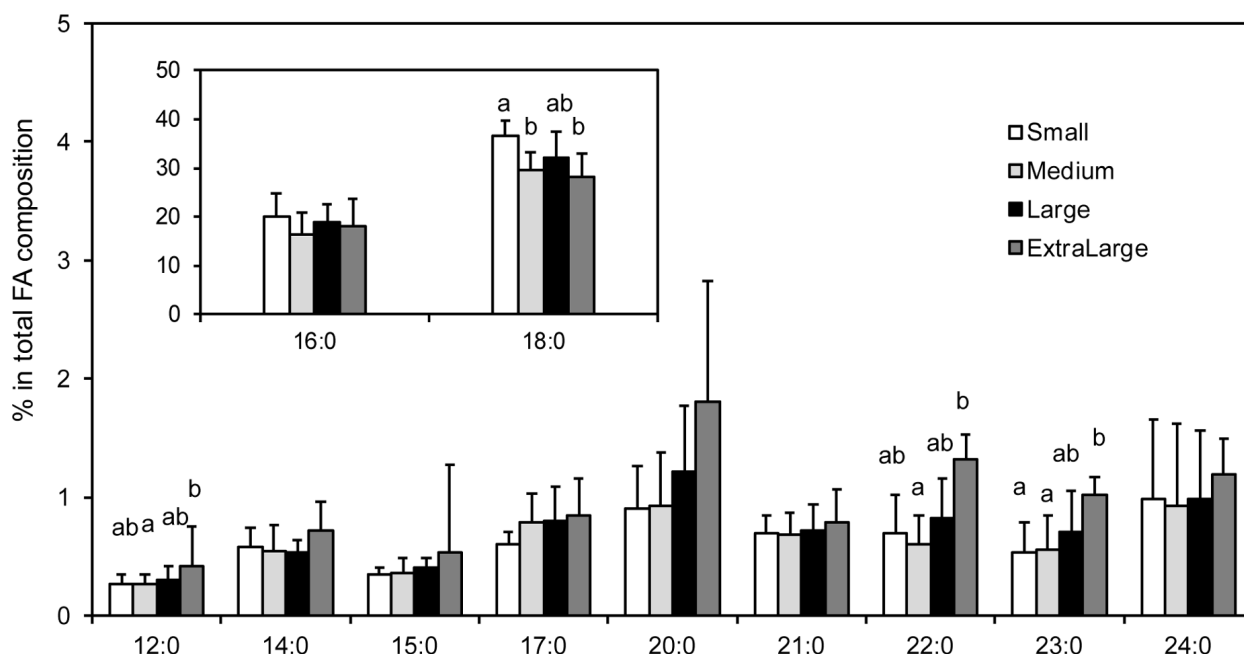


Рис. 3. Содержание насыщенных ЖК в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий.

Fig. 3. Content of saturated fatty acids in the gills mitochondria of mussels of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences.

значения достоверно различались (Tukey's HSD test, $p < 0.05$) (Рис. 2).

Доля ненасыщенных жирных кислот варьировала от 28.9 до 53.7% от суммы ЖК. Среди моненасыщенных ЖК (МНЖК, 7.3–17.4%) доминировали олеиновая (18:1n-9), 18:1n-7, 20:1n-11 и 20:1n-9 кислоты: 0.9–8.9; 0.5–2.2; 0.7–2.7 и 1.1–3.9% от суммы ЖК, соответственно (Рис. 4). При увеличении размера моллюсков содержание многих МНЖК повышалось, причем в ряде случаев (15:1, 16:1n-9, 18:1n-7, 22:1n-9) этот тренд был статистически значимый (Рис. 4, Табл. 1). Суммарная доля МНЖК была достоверно выше у мидий из группы ExtraLarge, по сравнению с мидиями из группы Large (Tukey's HSD test, $p < 0.05$) (Рис. 2). Доля полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в фосфолипидах митохондрий жабр составила от 8.4 до 24.5% от суммы ЖК (Рис. 2), при этом доля n-3 ПНЖК варьировала от 4.8 до 18.0%, а доля n-6 ПНЖК – от 3.9 до 10.6% от суммы ЖК. Среди n-3 ПНЖК доминировали эйкозапентаеновая (20:5n-3) и докозагексаеновая (22:6n-3) кислоты,

которые составляли 1.6–5.9 и 1.6–9.2% от суммы ЖК, соответственно (Рис. 5). Среди n-6 ПНЖК доминировали арахидоновая 20:4n-6 (1.2–3.1%) и 22:2n-6 (0.3–4.3%) кислоты. Влияние размера мидий на долю ПНЖК было различным для разных кислот. Так, доля некоторых ПНЖК, в основном, минорных (18:3n-6, 18:3n-3, 20:2n-6, 20:3n-3), увеличивалось с массой тела мидий, причем, в случае 20:2n-6 тренд был статистически достоверным (Рис. 5, Табл. 1).

Доля неметиленразделенных жирных кислот (НМРЖК) была сопоставима с суммарной долей всех остальных ПНЖК и составляла от 6.1 до 18.8% от суммы ЖК (Рис. 2). Доля 20-НМРЖК снижалась с увеличением размера мидий в ряду Medium–ExtraLarge, но самые мелкие особи (группа Small) отличались наименьшими значениями доли 20- и 22-НМРЖК (Рис. 5).

Представленность короткоцепочечных (C12–C18) и длинноцепочечных (C20–24) ЖК не имела выраженного тренда в зависимости от размера тела моллюсков. Однако, для этих

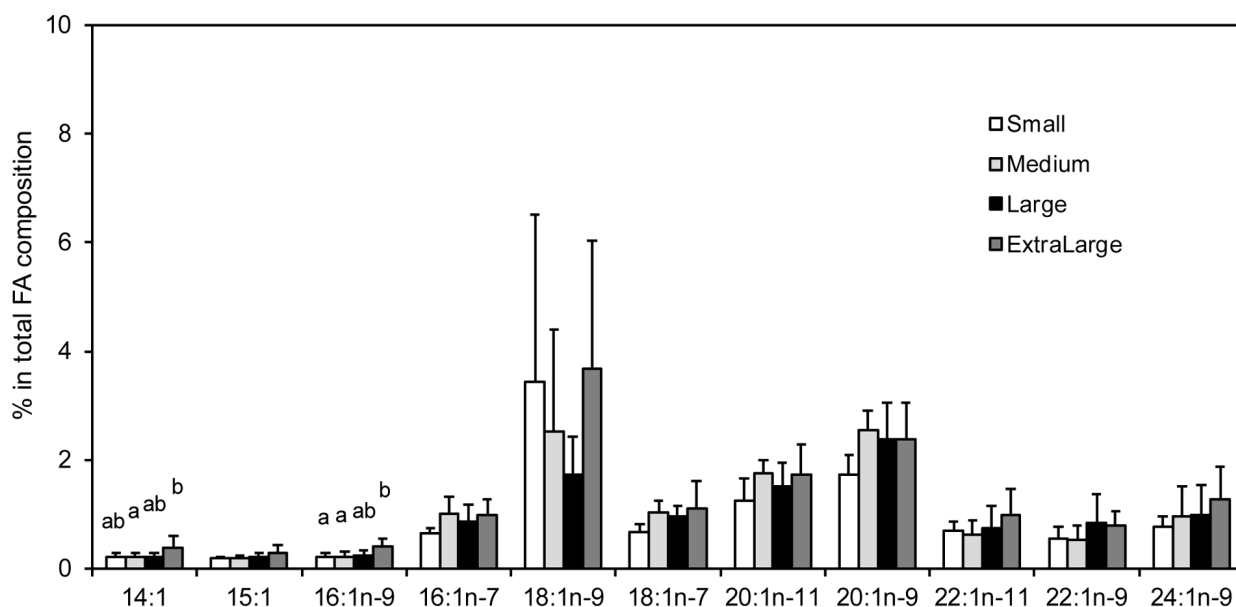


Рис. 4. Содержание мононенасыщенных ЖК в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий.

Fig. 4. Content of monounsaturated fatty acids in the gills mitochondria of mussels of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences.

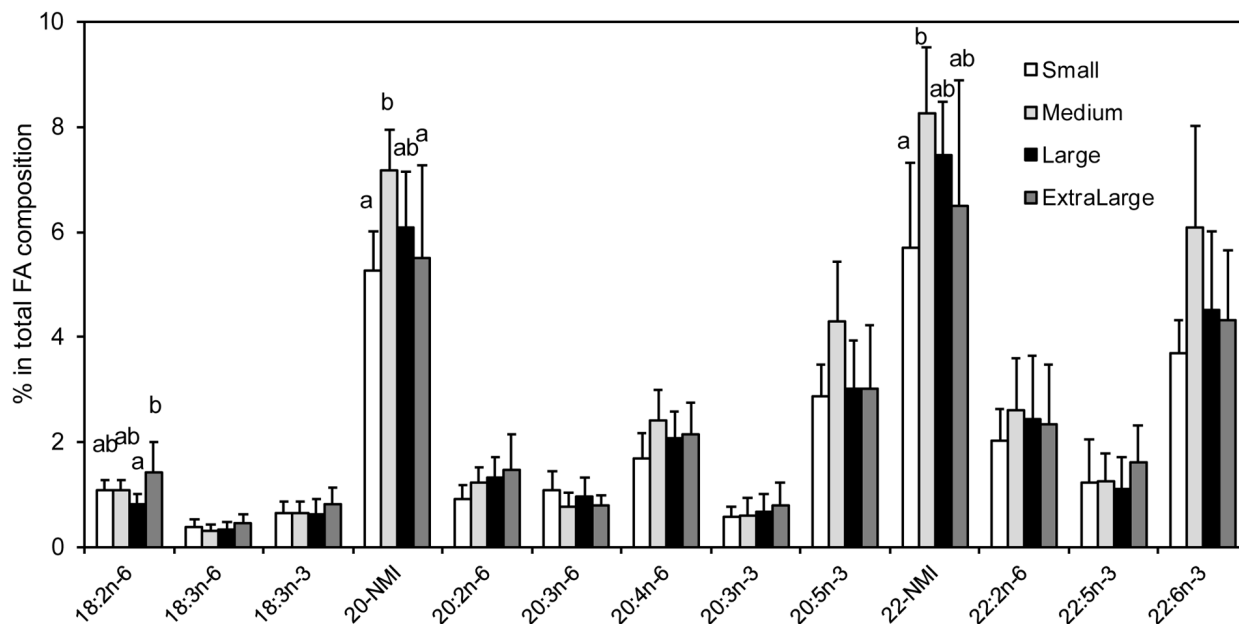


Рис. 5. Содержание полиненасыщенных и неметиленразделенных ЖК в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий.

Fig. 5. Content of polyunsaturated and non-methylene-interrupted fatty acids in the gills mitochondria of mussels of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences.

Таблица 1. Зависимость содержания ЖК и индексов ЖК в митохондриях мидий от массы тела. Параметры уравнений $Y = a \cdot W^b$, где Y – доля ЖК (% от суммы всех ЖК) или индекс, W – масса тела (г сырых мягких тканей), a и b – константы. Жирным шрифтом выделены статистически достоверные регрессии.

Table 1. Allometric relationships between the FA content and various FA indices in mussel mitochondria and body mass. Parameters of the equations $Y = a \cdot W^b$, where Y is the FA proportion (%) or index, W is the soft tissue wet weight (g), a and b are constants. Statistically significant regressions are highlighted in bold.

ЖК/FA	a	b	F(1.33)	R ²	P	ЖК/FA	a	b	F(1.33)	R ²	P
12:0	0.27	0.160	8.157	0.1982	0.007	18:3n-3	0.62	0.070	1.484	0.0430	0.232
14:0	0.54	0.083	1.316	0.0708	0.259	20:2n-6	1.11	0.121	5.355	0.1396	0.027
15:0	0.36	0.141	9.533	0.2241	0.004	20:3n-6	0.85	-0.042	0.571	0.0131	0.513
16:0	17.47	-0.003	0.007	0.0002	0.933	20:4n-6	2.02	0.034	0.369	0.0152	0.481
17:0	0.71	0.079	3.072	0.0852	0.089	20:3n-3	0.55	0.093	1.003	0.0409	0.244
18:0	32.03	-0.067	7.701	0.1892	0.009	20:5n-3	3.37	-0.067	1.421	0.0480	0.241
20:0	0.90	0.221	6.650	0.1677	0.015	22:2n-6	2.13	-0.053	0.237	0.0070	0.630
21:0	0.67	0.035	0.498	0.0140	0.485	22:5n-3	1.11	0.076	0.160	0.0252	0.362
22:0	0.63	0.213	6.871	0.1723	0.013	22:6n-3	4.64	-0.030	0.092	0.0070	0.763
23:0	0.53	0.237	8.242	0.1998	0.007	ΣПНЖК	16.20	0.004	0.007	0.0002	0.998
24:0	0.81	0.119	1.546	0.0447	0.222	ΣPUFA					
ΣНЖК						20-НМРЖК	6.17	-0.040	1.015	0.0298	0.321
ΣSFA	55.91	-0.017	0.603	0.0210	0.442	20-NMI					
14:1	0.21	0.147	4.128	0.1112	0.0503	22-НМРЖК	6.98	0.004	0.016	0.0004	0.901
15:1	0.19	0.139	5.595	0.1450	0.024	22-NMI					
16:1n-9	0.22	0.194	9.825	0.2290	0.004	ΣНМРЖК	13.26	-0.021	0.206	0.0055	0.652
16:1n-7	0.82	0.085	2.582	0.0726	0.118	ΣNMI FA					
18:1n-9	2.17	0.063	0.438	0.0131	0.513	Σn-3 ПНЖК	10.62	-0.018	0.113	0.0031	0.738
18:1n-7	0.87	0.103	4.956	0.1306	0.033	Σn-3 PUFA					
20:1n-11	1.49	0.062	1.950	0.0535	0.171	Σn-6 ПНЖК	7.55	-0.040	1.046	0.0275	0.313
20:1n-9	2.18	0.046	1.118	0.0328	0.298	Σn-6 PUFA					
22:1n-11	0.62	0.127	2.597	0.0729	0.117	Σn-9 МНЖК	6.42	0.079	3.015	0.0837	0.092
22:1n-9	0.52	0.186	5.093	0.1337	0.031	Σn-9 MUFA					
24:1n-9	0.80	0.127	1.950	0.0558	0.172	НЖК/ПНЖК	3.45	-0.022	0.110	0.0030	0.742
ΣМНЖК						SFA/PUFA					
ΣMUFA	10.86	0.087	6.618	0.1670	0.015	МНЖК+ПНЖК+НМРЖК	40.70	0.024	0.830	0.0246	0.369
18:2n-6	1.02	0.003	0.440	0.0132	0.511	MUFA+PUFA+NMI FA					
18:3n-6	0.31	0.095	1.699	0.0489	0.201	НЖК/Ненасыщенные ЖК	1.37	-0.042	0.651	0.0173	0.425
						SFA/Unsaturated FA					
						n-3/n-6	1.41	0.023	0.204	0.0055	0.654
						n-3/n-6					
						ИДС	0.88	0.004	0.010	0.0033	0.938
						Double bond index					

показателей были выявлены различия между мидиями размерных групп Small и Medium: повышенная доля короткоцепочечных ЖК и, соответственно, пониженная доля длинноцепочечных ЖК отмечалась у моллюсков из группы Small (Рис. 2). Очевидно, это было обусловлено распределением доминирующих кислот – 18:0 среди короткоцепочечных и НМРЖК среди длинноцепочечных ЖК.

Ни один из рассчитанных индексов состава ЖК фосфолипидов митохондрий не коррелировал с размером мидий (Табл. 1). Однако индекс

НЖК/Ненасыщенные ЖК был выше у моллюсков группы Small (Рис. 6), главным образом, за счет превалирования НЖК в составе фосфолипидов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Состав липидов митохондрий жабр мидий включает все основные классы: фосфолипиды, стерины (холестерин) и их эфиры, моно-, ди- и триацилглицерины, свободные жирные кислоты. Основными структурными липидными

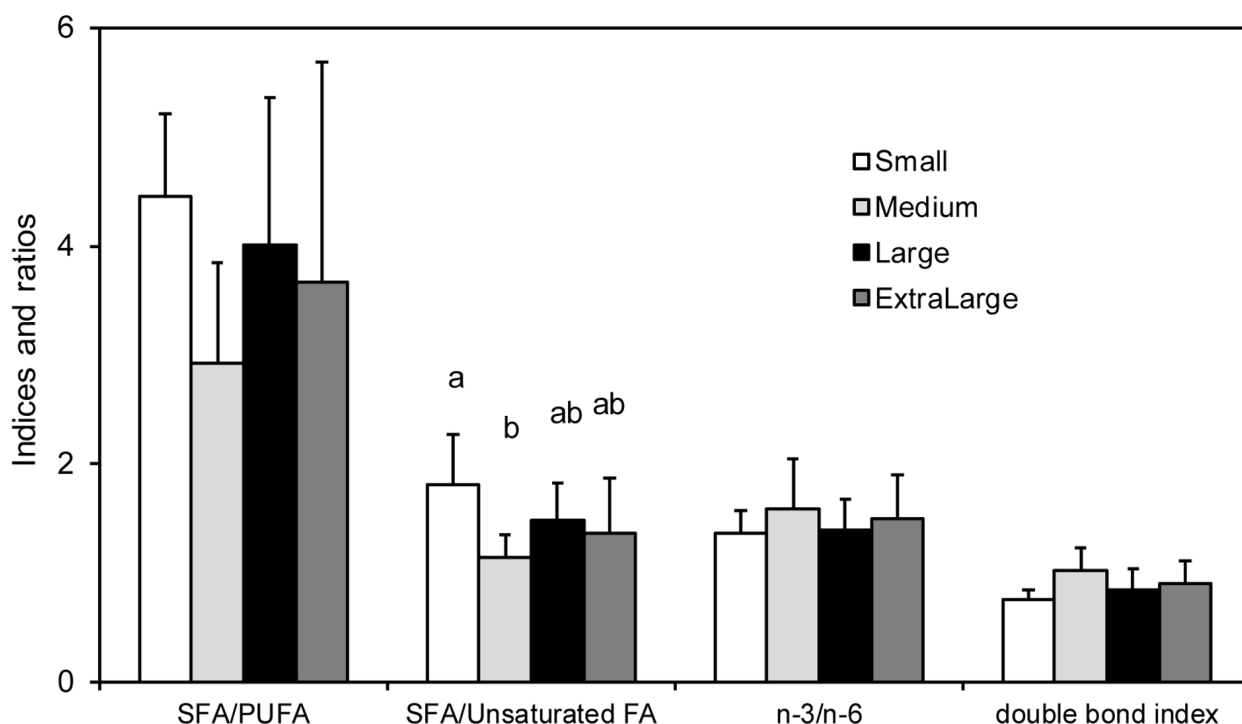


Рис. 6. Индексы и соотношения жирных кислот в митохондриях жабр мидий разных размерных групп (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Достоверные различия ($p < 0.05$) в разных размерных группах мидий обозначены разными буквами, одинаковые буквы предполагают отсутствие различий.

Fig. 6. Indices and ratios of fatty acids in mitochondria of mussel gills of different size groups (Small, Medium, Large, ExtraLarge). Significant differences ($p < 0.05$) in different size groups of mussels are indicated by different letters, the same letters imply the absence of differences.

молекулами клеточных мембран являются фосфолипиды и холестерин, главная функция которых это формирование бислояного матрикса, с которым взаимодействуют мембранно-связанные белки (рецепторы, ферменты, ионные каналы и пр.) и, тем самым, участвуют в регуляции разнообразных каскадов биохимических реакций и прочих клеточных функций. Одним из основных показателей, отражающих вязкость биологических мембран, является соотношение холестерин/фосфолипиды. Незначительное отклонение этого соотношения вызывает существенное изменение вязкости мембран с сопутствующими модификациями в активности ферментов, встроенных в бислой (Hazel and Williams 1990; Crockett 1998; Renne and Ernst 2023). Отсутствие достоверных изменений в соотношении холестерин/фосфолипиды у мидий разного размера указывает на относительно стабильное жидкокристаллическое

состояние липидного матрикса у мидий с увеличением размера тела и возраста моллюсков.

Холестерин – основной представитель группы стерина, он регулирует проницаемость клеточных мембран, влияя на ее вязкость и молекулярную подвижность фосфолипидов и их жирных кислот. В составе стерина у двусторчатых моллюсков обнаружено большое количество фитостерина (Кандюк [Kandyuk] 2006; Fiorini et al. 2012), которые, подобно холестерину, участвуют в регуляции вязкости мембран. Стерины взаимодействуют с жирнокислотными цепями фосфолипидов, уменьшая их подвижность, тем самым повышая вязкость мембран. Понижение доли стерина (холестерина) в составе мембран митохондрий жабр с увеличением размера и возраста мидий (группа ExtraLarge) может указывать на снижение вязкости липидного бислоя у более крупных и/или старых моллюсков.

Жирнокислотный состав фосфолипидов в тканях представителей семейства Mytilidae, в целом, характеризуется преобладанием ПНЖК (40–60% от общего содержания ЖК), несколько меньшим содержанием НЖК (20–40%) и МНЖК (<25%) (Freites et al. 2002; Lin et al. 2003; Alkanani et al. 2007; Ventrella et al. 2008; Фокина и др. [Fokina et al.] 2013; Richoux and Ndhlovu 2014). При этом, существенное варьирование соотношения насыщенных и ненасыщенных ЖК в тканях мидий отмечено как в разные сезоны года (Narváez et al. 2008; Richoux and Ndhlovu 2014), так и в зависимости от местоположения популяции и характера биотопа (Puccinelli et al. 2017).

В фосфолипидах митохондрий исследованных беломорских *M. edulis* большую долю составляли насыщенные жирные кислоты (более 50% от суммы ЖК). Преобладание НЖК или близкие значения содержания НЖК и ПНЖК в митохондриях отмечалось также у *M. trossulus* из Японского моря (Istomina et al. 2023), а также у *Serripes groenlandicus* и *Mya truncata* из Канадской Арктики (Gillis and Ballantyne 1999). В то же время, у *Ruditapes philippinarum* (Kraffe et al. 2005), гребешков *Placopecten magellanicus*, *Mizuhopecten yessoensis* и *Swiftopecten swifti* (Kraffe et al. 2008; Istomina et al. 2023), мидий *Mytilus galloprovincialis* (Fiorini et al. 2012), устриц *Crassostrea gigas* (Dudognon et al. 2014) в составе ЖК митохондрий доминировали полиненасыщенные жирные кислоты.

Есть данные, что фосфолипиды митохондрий двустворчатых моллюсков, населяющих арктические моря, обладают повышенным содержанием МНЖК и более низким содержанием ПНЖК по сравнению с моллюсками умеренной зоны (Gillis and Ballantyne 1999). Относительно низкая доля суммарных ПНЖК в мембранах митохондрий холодолюбивых моллюсков достигалась за счет малых концентраций 22:6n-3 (7.10% у *Serripes groenlandicus* и 8.72% у *Mya truncata*). Авторы считают, что пониженное содержание 22:6n-3 у арктических двустворчатых моллюсков не связано с недостатком биосинтетических предшественников, и что его достаточно для оптимального функционирования мембраны при низких температурах (Gillis and Ballantyne 1999). В нашем исследовании доля 22:6n-3 в митохондриях мидий *M. edulis* из суб-

арктического Белого моря варьировала в пределах 1.6–9.0%, что соответствует аналогичным данным для митохондрий арктических двустворок (Gillis and Ballantyne 1999) и существенно ниже доли докозагексаеновой кислоты в жаберной ткани беломорских мидий (15–20%, Sukhotin et al. 2017; Fokina et al. 2020).

Повышенное содержание НЖК и пониженное содержание ПНЖК в митохондриях показано у долгоживущих митилид, по сравнению с пектинидами, которые имеют более короткий жизненный цикл (Istomina et al. 2023). Эти наблюдения согласуются теорией мембранных пейскекеров, описанной для млекопитающих (Hulbert and Else 1999; Hulbert 2010). Согласно этой теории, у долгоживущих эндотермных животных уровень ненасыщенности ЖК значительно ниже, по сравнению с короткоживущими видами. В отличие от ПНЖК, НЖК менее подвержены окислительным процессам (Crockett 2008; Abele et al. 2011; Munro and Blier 2012), а их участие в регуляции проницаемости мембран для ионов обеспечивает эффективный метаболизм и максимальную продолжительность жизни. Чем больше двойных связей в молекуле ЖК, тем сложнее пространственная конфигурация радикалов ЖК, и, следовательно, более рыхлая структура липидного бислоя (Hazel and Williams 1990; Renne and Ernst 2023). Доля НЖК, ПНЖК и, в частности, докозагексаеновой кислоты в митохондриях беломорских *M. edulis* соответствовала значениям, полученным для *M. trossulus* из Японского моря, и существенно отличалась от распределения этих ЖК у гребешков (Istomina et al. 2023). Интересно, что в указанном исследовании, в пределах семейств Mytilidae и Pectinidae повышенное соотношение НЖК/ПНЖК наблюдалось у наиболее короткоживущих видов, что противоречит теории мембранных пейскекеров. Вероятно, эта теория подтверждается при сравнениях организмов высокого таксономического ранга и не работает на уровне семейств и видов (см. также Gonzalez et al. 2015; Sukhotin et al. 2017).

Однако не только количество двойных связей, но и их положение в цепи ЖК (соотношение n-3/n-6 ПНЖК) влияет как на устойчивость ЖК к окислительным процессам, так и на вязкость мембран (Hochachka and Somero 2002; Schmitz and Ecker 2008). Такие важные характеристики

ПНЖК, как ассиметричное строение и более низкая температура плавления (по сравнению с НЖК), снижают вязкость биологических мембран и, соответственно, обуславливают высокую метаболическую активность мембранных ферментов (Hazel and Williams 1990; Schmitz and Ecker 2008). У беломорских мидий в составе фосфолипидов мембран митохондрий не было обнаружено достоверных корреляций с размером тела для всех рассчитанных соотношений ЖК, включая соотношение $n-3/n-6$ ПНЖК, что подтверждает предположение об относительной стабильности физико-химического состояния мембран митохондрий у мидий разного размера. Однако, мы отмечали повышение соотношения НЖК/Ненасыщенные ЖК у мидий из группы Small (Рис. 6).

НЖК и МНЖК в меньшей степени подвержены окислительным процессам, поскольку свободные радикалы кислорода воздействуют, в первую очередь, на двойные связи в составе ПНЖК (Crockett 2008; Abele et al. 2011; Munro and Blier 2012). Доля доминирующей НЖК в составе фосфолипидов митохондрий мидий – стеариновой 18:0 кислоты – снижалась с увеличением размера и возраста моллюсков. Кроме того, при увеличении массы тела мидий отмечалось повышение доли минорных коротко- (12:0 и 15:0) и длинноцепочечных НЖК (20:0, 22:0 и 23:0), а также некоторых МНЖК (15:1, 16:1n-9, 18:1n-7 и 22:1n-9). НЖК и МНЖК у двустворчатых моллюсков служат источником энергии, а также являются метаболическими предшественниками для синтеза длинноцепочечных НЖК, МНЖК (Bergé and Barnathan 2005; Kelly and Scheibling 2012) и метиленазделенных ЖК (Zhukova 1991).

Помимо доминирования НЖК в жирнокислотном составе фосфолипидов митохондрий, спектр ЖК отражал особенности, характерные для морских моллюсков (Gillis and Ballantyne 1999; Bergé and Barnathan 2005; Kraffe et al. 2008; Barnathan 2009; Kelly and Scheibling 2012; Munro and Blier 2012; Fiorini et al. 2012; Dudognon et al. 2014; Istomina et al. 2023), у которых помимо ПНЖК с обычной структурой, в составе липидов присутствуют НМРЖК. Эти ЖК, благодаря своему строению (двойные связи отделены друг от друга более чем одной метиленовой группой), менее подвержены окислительным

повреждениям (Barnathan 2009). Двустворчатые моллюски синтезируют НМРЖК *de novo* и избирательно включают их в различные классы липидов, главным образом, в фосфолипиды (Zhukova 1991; Barnathan 2009). Такие ЖК, как 16:1n-7, 18:1n-7, 20:1n-7 и 20:2n-6, являются биосинтетическими предшественниками НМРЖК у морских моллюсков. Корреляции содержания 18:1n-7, 20:2n-6 и НМРЖК с размером мидий указывают на участие данных ЖК в регуляции физико-химического состояния мембран.

У мидий из группы ExtraLarge, наряду со снижением доли холестерина, отмечалось понижение доли стеариновой кислоты (18:0) и НМРЖК, а также повышение доли МНЖК и линолевой кислоты (18:2n-6). Эти ЖК метаболически активны в организме моллюсков, они могут синтезироваться в организме (18:0, НМРЖК, МНЖК), а также некоторые из них являются метаболическими предшественниками для синтеза физиологически активных молекул (Bergé and Barnathan 2005; Kelly and Scheibling 2012). Поэтому такие особенности состава фосфолипидов мембран митохондрий у мидий могут указывать на метаболические изменения у крупных/старых мидий, вероятно, вследствие повышения проницаемости мембран и активации окислительных процессов (Crockett 2008; Abele et al. 2011; Munro and Blier 2012). Накопление линолевой кислоты (18:2n-6) в составе фосфолипидов мембран, в том числе, может быть связано со снижением активности фосфолипаз и ряда других ферментов метаболического каскада арахидоновой кислоты (Bell and Sargent 2003; Bergé and Barnathan 2005). Линолевая кислота не синтезируется в организме моллюсков (Bergé and Barnathan 2005; Kelly and Scheibling 2012), а поступает в организм в составе пищи и является метаболическим предшественником для синтеза физиологически активных молекул (арахидоновой кислоты, эйкозаноидов и др.) (Bell and Sargent 2003; Bergé and Barnathan 2005). Снижение доли НМРЖК и повышение доли МНЖК в тканях мидий *Mytilus edulis* из Ньюфаундленда (Канада) отмечалось с увеличением размеров особей (Alkanani et al. 2007). Для митохондрий беломорских мидий характерны сходные тренды. Однако, наименьшие значения доли НМРЖК наблюдались у мелких особей (Small). Эти же моллюски характеризовались

повышенной долей 18:0 и короткоцепочечных ЖК (до C18), что, вероятно, связано со снижением метаболизма длинноцепочечных ЖК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, относительная стабильность показателей липидного и ЖК состава у мидий разного размера, а также преобладание насыщенных ЖК в составе фосфолипидов подчеркивают структурные особенности мембран митохондрий, которые позволяют моллюскам поддерживать эффективность работы мембранно-связанных белков независимо от массы тела. Общая доля ЖК более устойчивых к окислительным процессам (НЖК, МНЖК и НМРЖК) значительно превалировала в составе фосфолипидов митохондрий, тогда как на долю ПНЖК, наиболее подверженных окислению, приходилось не более 20% от суммы ЖК. Вероятно, подобная черта жирнокислотного профиля фосфолипидов митохондрий является биохимической адаптацией на уровне ЖК, которая обеспечивает большую устойчивость мембран митохондрий к окислительным процессам. У самых крупных и старых особей (ExtraLarge) отмечены модификации в составе липидов, указывающие на повышение проницаемости мембран митохондрий (снижение холестерина и накопление МНЖК и 18:2n-6), что, вероятно, является маркером процессов старения. Очевидно, что отмеченное ранее увеличение активности митохондрий с размером тела у мидий (Sukhotin et al. 2020) не связано с составом липидов и жирных кислот митохондриальных мембран. Возможно, размеры и морфология самих митохондрий лежат в основе аллометрии метаболизма на субклеточном уровне. Для проверки этого предположения требуются дальнейшие исследования.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП КарНЦ РАН (г. Петрозаводск). Данная работа финансировалась за счет средств гранта РНФ 23-24-00226. Авторы благодарны Н.В. Алексеевой, А.А. Ковалеву и Е.И. Лихаревой за помощь в сборе и фиксации материала.

ЛИТЕРАТУРА

- Abele D., Vázquez-Medina J.P. and Zenteno-Savín T. (Eds) 2011. Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 548 p.
- Alkanani T., Parrish C.C., Thompson R.J. and McKenzie C.H. 2007. Role of fatty acids in cultured mussels, *Mytilus edulis*, grown in Notre Dame Bay, Newfoundland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **348**: 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.02.017>
- Araújo J., Soares F., Medeiros A., Bandarra N.M., Freire M., Falcão M. and Pousão-Ferreira P. 2020. Depth effect on growth and fatty acid profile of Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) produced on a longline off south Portugal. *Aquaculture International*, **28**: 927–946. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00504-0>
- Baptista M., Repolho T., Maulvault A.L., Lopes V.M., Narciso L., Marques A., Bandarra N. and Rosa R. 2014. Temporal dynamics of amino and fatty acid composition in the razor clam *Ensis siliqua* (Mollusca: Bivalvia). *Helgoland Marine Research*, **68**: 465–482. <https://doi.org/10.1007/s10152-014-0402-7>
- Barnathan G. 2009. Non-methylene-interrupted fatty acids from marine invertebrates: Occurrence, characterization and biological properties. *Biochimie*, **91**: 671–678. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2009.03.020>
- Bell J.G. and Sargent J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, **218**: 491–499. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00370-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00370-8)
- Bergé J.P. and Barnathan G. 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. In: R. Ulber and Y. Le Gal (Eds). *Marine Biotechnology I. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. **96**. Springer, Berlin, Heidelberg: 49–125. <https://doi.org/10.1007/b135782>
- Boël M., Romestaing C., Duchamp C., Veyrunes F., Renaud S., Roussel D. and Voituron Y. 2020. Improved mitochondrial coupling as a response to high mass-specific metabolic rate in extremely small mammals. *Journal of Experimental Biology*, **223**: jeb.215558. <https://doi.org/10.1242/jeb.215558>
- Brand M.D., Turner N., Ocloo A., Else P.L. and Hulbert A.J. 2003. Proton conductance and fatty acyl composition of liver mitochondria correlates with body mass in birds. *Biochemical Journal*, **376**: 741–748. <https://doi.org/10.1042/BJ20030984>
- Burpee J.L., Bardsley E.L., Dillaman R.M., Watanabe W.O. and Kinsey S.T. 2010. Scaling with body mass of mitochondrial respiration from the white muscle of three phylogenetically, morphologically and behaviorally disparate teleost fishes. *Journal of*

- Comparative Physiology B*, **180**: 967–977. <https://doi.org/10.1007/s00360-010-0474-x>
- Crockett E.L.** 1998. Cholesterol function in plasma membranes from ectotherms: membrane-specific roles in adaptation to temperature. *American Zoologist*, **38**: 291–304. <https://doi.org/10.1093/icb/38.2.291>
- Crockett E.L.** 2008. The cold but not hard fats in ectotherms: consequences of lipid restructuring on susceptibility of biological membranes to peroxidation, a review. *Journal of Comparative Physiology B*, **178**: 795–809. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0275-7>
- Dudognon T., Lambert C., Quere C., Auffret M., Soudant P. and Kraffe E.** 2014. Mitochondrial activity, hemocyte parameters and lipid composition modulation by dietary conditioning in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Comparative Physiology B*, **184**: 303–317. <https://doi.org/10.1007/s00360-013-0800-1>
- Egorova M.V. and Afanasyev S.A.** 2011. Isolation of mitochondria from human and animal cells and tissues: modern methodological techniques. *Siberian Medical Journal*, **26**(1): 22–28. [In Russian].
- Ernst R., Ejsing C.S. and Antonny B.** 2016. Homeoviscous Adaptation and the Regulation of Membrane Lipids. *Journal of Molecular Biology*, **428**: 4776–4791. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.013>
- Fiorini R., Pagliarani A., Nesci S., Pirini M., Tucci E. and Ventrella V.** 2012. Structural and functional changes in gill mitochondrial membranes from the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to tri-*N*-butyltin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **31**: 877–884. <https://doi.org/10.1002/etc.1764>
- Fokina N.N., Lysenko L.A., Sukhovskaya I.V., Vdovichenko E.A., Borvinskaya E.V., Kantserova N.P., Krupnova M.Yu., Ruokolainen T.R., Smirnov L.P., Vysotskaya R.U., Bakhmet I.N. and Nemova N.N.** 2015. Biochemical response of blue mussels *Mytilus edulis* L. from the White Sea to rapid changes in ambient temperature. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **51**(5): 378–387. <https://doi.org/10.1134/S0022093015050038>
- Fokina N.N., Nefedova Z.A., Nemova N.N., Ruokolainen T.R. and Bakhmet I.N.** 2013. Effects of various salinity on the White Sea blue mussels *Mytilus edulis* lipid composition. *Proceedings of the Zoological Institute RAS*, **317**(Supplement 3): 55–62. [In Russian].
- Fokina N.N., Ruokolainen T.R., Nemova N.N., Martynova D.M. and Sukhotin A.A.** 2020. Fatty acids distribution in seston, tissues, and faecal pellets of blue mussels *Mytilus edulis* L. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, **495**: 311–318. <https://doi.org/10.1134/S1607672920060046>
- Folch J., Lees M. and Sloane Stanley G.H.** 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **226**: 497–509.
- Freites L., Fernandez-Reiriz M.J. and Labarta U.** 2002. Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **132**: 453–461. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(02\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(02)00057-X)
- Gillis T. and Ballantyne J.** 1999. Mitochondrial membrane composition of two arctic marine bivalve mollusks, *Serripes groenlandicus* and *Mya truncata*. *Lipids*, **34**: 53–57. <https://doi.org/10.1007/s11745-999-337-0>
- Glazier D.S.** 2015. Body-mass scaling of metabolic rate: what are the relative roles of cellular versus systemic effects? *Biology*, **4**: 187–199. <https://doi.org/10.3390/biology4010187>
- Glazier D.S.** 2022. Complications with body-size correction in comparative biology: possible solutions and an appeal for new approaches. *Journal of Experimental Biology*, **225**: jeb243313. <https://doi.org/10.1242/jeb.243313>
- Gonzalez A., Pagé B., Weber J.-M.** 2015. Membranes as a possible pacemaker of metabolism in cypriniform fish: does phylogeny matter? *The Journal of Experimental Biology*, **218**: 2563–2572. <https://doi.org/10.1242/jeb.117630>
- Guderley H., Pierre J.St., Couture P. and Hulbert A.J.** 1997. Plasticity of the properties of mitochondria from rainbow trout red muscle with seasonal acclimatization. *Fish Physiology and Biochemistry*, **16**: 531–541. <https://doi.org/10.1023/A:1007708826437>
- Hazel J. and Williams E.E.** 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Progress in Lipid Research*, **29**: 167–227. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(90\)90002-3](https://doi.org/10.1016/0163-7827(90)90002-3)
- Hellwig J.** 2005. Defining Parameters for a Reproducible TLC-separation of Phospholipids Using ADC2. PhD Thesis. University of Applied Sciences Northwestern Switzerland (FHNW), 63 p.
- Hochachka P.W. and Somero G.N.** 2002. Biochemical adaptation Mechanism and Process in Physiological Evolution. Oxford University Press, NY, 466 p.
- Hulbert A.J.** 2010. Metabolism and longevity: Is there a role for membrane fatty acids? *Integrative and Comparative Biology*, **50**: 808–817. <https://doi.org/10.1093/icb/icq007>
- Hulbert A.J. and Else P.L.** 1999. Membranes as possible pacemakers of metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, **199**: 257–274. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.0955>
- Istomina A.A., Zhukovskaya A.F., Mazeika A.N., Barsova E.A., Chelomin V.P., Mazur M.A., Elovskaya O.A., Mazur A.A., Dovzhenko N.V., Fedorets Y.V. and Karpenko A.A.** 2023. The relationship between lifespan of marine bivalves and their fatty

- acids of mitochondria lipids. *Biology*, **12**: 837. <https://doi.org/10.3390/biology12060837>
- Kandyuk R.P. 2006.** Sterines in mollusks and their functional role (review). *Gidrobiologicheskii Zhurnal*, **42**(1): 62–74. [In Russian].
- Kapranova L.L., Nekhoroshev M.V., Malakhova L.V., Ryabushko V.I., Kapranov S.V. and Kuznetsova T.V. 2019.** Fatty acid composition of gonads and gametes in the Black Sea bivalve mollusk *Mytilus galloprovincialis* Lam. at different stages of sexual maturation. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **55**(6): 448–455. <https://doi.org/10.1134/S0022093019060024>
- Kelly J. and Scheibling R. 2012.** Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Marine Ecology Progress Series*, **446**: 1–22. <https://doi.org/10.3354/meps09559>
- Khan M.A., Parrish C.C. and Shahidi F. 2006.** Effects of Environmental Characteristics of Aquaculture Sites on the Quality of Cultivated Newfoundland Blue Mussels (*Mytilus edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 2236–2241. <https://doi.org/10.1021/jf051587>
- Kleiber M. 1932.** Body size and metabolism. *Hilgardia*, **6**: 315–353.
- Kraffe E., Soudant P., Marty Y. and Kervarec N. 2005.** Docosaheptaenoic acid- and eicosapentaenoic acid-enriched cardiolipin in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Lipids*, **40**(6): 619–625. <https://doi.org/10.1007/s11745-005-1423-z>
- Kraffe E., Tremblay R., Belvin S., LeCoz J.-R., Marty J. and Guderley H. 2008.** Effect of reproduction on escape responses, metabolic rates and muscle mitochondrial properties in the scallop *Placopecten magellanicus*. *Marine Biology*, **156**: 25–38. <https://doi.org/10.1007/s00227-008-1062-4>
- Lin H., Jiang J., Xue C.-H., Zhang B. and Xu J.-C. 2003.** Seasonal changes in phospholipids of mussel (*Mytilus edulis* Linnaeus). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 133–135. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1281>
- Lindstedt S.L. and Hoppeler H. 2023.** Allometry: revealing evolution's engineering principles. *Journal of Experimental Biology*, **226**: jeb245766. <https://doi.org/10.1242/jeb.245766>
- Logue J.A., De Vries A.L., Fodor E. and Cossins A.R. 2000.** Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure. *Journal of Experimental Biology*, **203**: 2105–2115. <https://doi.org/10.1242/jeb.203.14.2105>
- Munro D. and Blier P.U. 2012.** The extreme longevity of *Arctica islandica* is associated with increased peroxidation resistance in mitochondrial membranes. *Aging Cell*, **11**: 845–855. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00847.x>
- Narváez M., Freitas L., Guevara M., Mendoza J., Guderley H., Lodeiros C.J. and Salazar G. 2008.** Food availability and reproduction affects lipid and fatty acid composition of the brown mussel, *Perna perna*, raised in suspension culture. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **149**: 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.09.018>
- Olsen R.E. and Henderson R.J. 1989.** The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **129**: 189–197. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(89\)90056-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90056-7)
- Pazos A.J., Román G., Acosta C.P., Sánchez J.L. and Abad M. 1997.** Lipid classes and fatty acid composition in the female gonad of *Pecten maximus* in relation to reproductive cycle and environmental variables. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **117**: 393–402. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(97\)00135-1](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(97)00135-1)
- Porter R.K. 2001.** Allometry of mammalian cellular oxygen consumption. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **58**: 815–822. <https://doi.org/10.1007/PL00000902>
- Porter R.K. and Brand M.D. 1995.** Causes of differences in respiration rate of hepatocytes from mammals of different body mass. *American Journal of Physiology*, **269**: R1213–R1224. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.5.r1213>
- Porter R.K., Hulbert A.J. and Brand M.D. 1996.** Allometry of mitochondria proton leak: influence of membrane surface area and fatty acid composition. *American Journal of Physiology*, **271**: R1550–R1560. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1996.271.6.r1550>
- Prato E., Danieli A., Maffia M. and Biandolino F. 2010.** Lipid and Fatty Acid Compositions of *Mytilus galloprovincialis* Cultured in the Mar Grande of Taranto (Southern Italy): Feeding Strategies and Trophic Relationships. *Zoological Studies*, **49**: 211–219.
- Puccinelli E., Noyon M., McQuaid C.D. 2017.** Trophic signatures of co-existing invasive and indigenous mussels: selective feeding or different metabolic pathways? *Hydrobiologia*, **784**: 187–199. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2873-9>
- Renne M.F. and Ernst R. 2023.** Membrane homeostasis beyond fluidity: control of membrane compressibility. *Trends in Biochemical Sciences*, **48**: 963–977. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2023.08.004>
- Richoux N.B. and Ndhlovu R.T. 2014.** Temporal shifts in the fatty acid profiles of rocky intertidal invertebrates. *Marine Biology*, **161**: 2199–2211. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2481-z>
- Roussel D., Salin K., Dumet A., Romestaing C., Rey B. and Voituron Y. 2015.** Oxidative phosphorylation efficiency, proton conductance and reactive oxygen species production of liver mitochondria correlates with body mass in frogs. *Journal of Experimental Biology*, **218**: 3222–3228. <https://doi.org/10.1242/jeb.126086>
- Schmidt-Nielsen K. 1984.** Scaling: Why Is Animal Size so Important? Cambridge Univ Press, UK, Cambridge, 241 p.

- Schmitz G. and Ecker J. 2008.** The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, **47**: 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.12.004>
- Sinensky M. 1974.** Homeoviscous Adaptation – A Homeostatic Process that Regulates the Viscosity of Membrane Lipids in *Escherichia coli*. *PNAS*, **71**: 522–525. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.2.522>
- Sukhotin A., Alexeeva N., Gerasimova M. and Kovalev A. 2024.** Body size influence on respiration rate and mitochondrial metrics in *Mytilus edulis* L. gill tissue. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **60**: 1399–1407. <https://doi.org/10.1134/S0022093024040112>
- Sukhotin A., Fokina N., Ruokolainen T., Bock C., Pörtner H.-O. and Lannig G. 2017.** Does the Membrane Pacemaker Theory of metabolism explain the size dependence of metabolic rate in marine mussels? *Journal of Experimental Biology*, **220**: 1423–1434. <https://doi.org/10.1242/jeb.147108>
- Sukhotin A., Kovalev A., Sokolov E. and Sokolova I.M. 2020.** Mitochondrial performance of a continually growing marine bivalve, *Mytilus edulis*, depends on body size. *Journal of Experimental Biology*, **223**: jeb.226332. <https://doi.org/10.1242/jeb.226332>
- Ventrella V., Pirini M., Pagliarani A., Trombetti F., Manuzzi M.P. and Borgatti A.R. 2008.** Effect of temporal and geographical factors on fatty acid composition of *M. galloprovincialis* from the Adriatic Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **149**: 241–250. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.09.012>
- White C.R., Marshall D.J., Alton L.A., Arnold P.A., Beaman J.E., Bywater C.L., Condon C., Crispin T.S., Janetzki A., Pirtle E., Winwood-Smith H.S., Angilletta Jr. M.J., Chenoweth S.F., Franklin C.E., Halsey L.G., Kearney M.R., Portugal S.J. and Ortiz-Barrientos D. 2019.** The origin and maintenance of metabolic allometry in animals. *Nature Ecology & Evolution*, **3**: 598–603. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0839-9>
- Zhukova N.V. 1991.** The pathway of the biosynthesis of non-methylene-interrupted dienoic fatty acids in molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **100**: 801–804. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(91\)90293-M](https://doi.org/10.1016/0305-0491(91)90293-M)