

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ И ВЫСОКОУГЛЕВОДНОЙ ДИЕТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ D-ЛАКТАТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И КИШЕЧНИКЕ МОДЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА – РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

РЕЗЮМЕ

Васильева А.В.¹,
Морозов А.А.²,
Матросова С.В.¹,
Чечкова Н.А.¹,
Арнаутов М.В.³,
Артемов Р.В.³,
Биндюков С.В.³,
Жидко А.В.¹,
Суховская И.В.⁴

¹ ФГБОУ ВО «Петрозаводский
государственный университет»
(185910, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33,
Россия)

² ФГБУН Лимнологический институт
СО РАН (664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3, Россия)

³ ФГБНУ «Всероссийский
научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии»
(107140, г. Москва, ул. Верхняя
Красносельская, 17, Россия)

⁴ ФГБУН Федеральный
исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук» (185910,
г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,
Россия)

Стереоизомер D-молочной кислоты (D-лактат) производится кишечной микрофлорой и может проникать в кровь, в некоторых случаях вызывая состояние острой D-молочной ацидемии, известное как синдром короткой кишки. Уровень D-лактата в крови и в содержимом кишечника рассматривается как перспективный маркер развития воспаления, ассоциированного с нарушением работы микрофлоры, а также с развитием бактериальной инфекции. При этом детально механизм его поступления в кровь позвоночных из кишечника практически не изучен.

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике с учётом проницаемости кишечного эпителия.

Материалы и методы. В качестве модельного объекта исследования использовали молодь радужной форели *O. mykiss*, которая в течение 54 дней получала корм с высоким содержанием углеводов или белков. С помощью различной диеты удалось получить две группы рыб с разным содержанием D-лактата в кишечнике и разной проницаемостью кишечного эпителия. Выявленные различия по количеству D-лактата в кишечнике и по уровню проницаемости кишечника между экспериментальными группами не оказали влияния на уровень D-лактата в крови рыб.

Анализ состава микробиома кишечника методом метабаркодинга по гену 16S rРНК выявил отсутствие участия лактобактерий в производстве D-лактата у рыб.

Результаты. Согласно полученным результатам, у рыб уровень D-лактата в плазме крови в меньшей степени определяется проницаемостью кишечника или гиперпродукцией этого метаболита кишечной микрофлорой и в большей степени зависит от утилизации D-лактата ферментными системами в организме.

Ключевые слова: D-лактат, форель, проницаемость кишечника, микрофлора

Автор, ответственный за переписку:
Васильева Алина Валерьевна,
e-mail: kennard@inbox.ru

Статья поступила: 03.06.2022

Статья принята: 14.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Васильева А.В., Морозов А.А., Матросова С.В., Чечкова Н.А., Арнаутов М.В., Артемов Р.В., Биндюков С.В., Жидко А.В., Суховская И.В. Влияние высокобелковой и высокоуглеводной диеты на содержание D-лактата в плазме крови и кишечнике модельного организма – радужной форели. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 247-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.25

THE EFFECT OF A HIGH-PROTEIN AND HIGH-CARBOHYDRATE DIET ON THE CONTENT OF D-LACTATE IN THE BLOOD PLASMA AND INTESTINES OF A MODEL ORGANISM – RAINBOW TROUT

Vasileva A.V.¹,
Morozov A.A.²,
Matrosova S.V.¹,
Chechkova N.A.¹,
Arnautov M.V.³,
Artemov R.V.³,
Bindyukov S.V.³,
Zhidko A.V.¹,
Sukhovskaya I.V.⁴

¹ Petrozavodsk State University
(Lenina ave. 33, Petrozavodsk 185910,
Russian Federation)

² Limnological Institute, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Ulan-Batorskaya str. 3, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

³ Russian Federal Research Institute
of Fisheries and Oceanography
(Verkhnyaya Krasnoselskaya str. 17,
Moscow 107140, Russian Federation)

⁴ Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
(Pushkinskaya str. 11, Petrozavodsk
185910, Russian Federation)

Corresponding author:
Alina V. Vasileva,
e-mail: kennard@inbox.ru

ABSTRACT

D-lactic acid stereoisomer (D-lactate) is produced by the intestinal microflora and can enter the bloodstream and cause in some cases a condition of acute D-lactic acidemia known as short gut syndrome. The level of D-lactate in blood and in the contents of the intestine is considered as a promising marker of the development of inflammation associated with microflora disorders, as well as with the development of a bacterial infection, while the mechanism of its entry into the blood of vertebrates from the intestine has not been studied in detail.

The aim of the study. To investigate the relationship between the level of D-lactate in blood and in the intestine, taking into account the permeability of the intestinal epithelium.

Materials and methods. As a model object of the study, we used juvenile rainbow trout *O. mykiss*. For 54 days, they were high-carbohydrate or high-protein fed. Since different types of bacteria prefer different substrates, it was expected that at the end of the experiment, the composition of the intestinal microflora would be significantly different in fish fed with different diets. The content of D-lactate in blood plasma *in vitro* was assessed by the Larsen method with modifications; intestinal permeability was assessed by the intensity of fluorescence of the FITC-Dextran stain in the blood of fish. The analysis of the metagenome of samples of the contents and epithelium of the fore and hind intestine was carried out. The hematological profile was partially characterized using blood smears taken immediately after fish blood sampling. By the means of a different diet, it was possible to obtain two groups of fish that differ significantly in the permeability of the intestinal epithelium and in the content of D-lactate in the intestine. At the same time, despite the differences between the experimental groups in the content of D-lactate in the intestine and in intestinal permeability, no significant differences in D-lactate level in blood were found between them.

Analysis of the composition of the intestinal microbiome by metabarcoding for the 16S rRNA gene revealed the absence of lactobacilli in the production of D-lactate in fish.

Results. It was shown that the mechanism of accumulation of D-lactate in the blood plasma in fish is less associated with increased intestinal permeability or hyperproduction of this metabolite by the intestinal microflora and is more associated with the utilization of D-lactate in the body.

In the experiment, it was not possible to achieve a significant change in the species composition of the intestinal microflora of trout under the influence of a high-carbohydrate diet for 54 days compared to fish that received high-protein diet. Some tendencies towards changes in the composition of the microflora were found in the contents of the hindgut, and perhaps with a longer exposure, these changes could reach a statistically significant level.

Key words: D-lactate, trout, intestinal permeability, microflora

For citation: Vasileva A.V., Morozov A.A., Matrosova S.V., Chechkova N.A., Arnautov M.V., Artemov R.V., Bindyukov S.V., Zhidko A.V., Sukhovskaya I.V. The effect of a high-protein and high-carbohydrate diet on the content of D-lactate in the blood plasma and intestines of a model organism – rainbow trout. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-2): 247-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.25

Received: 03.06.2022

Accepted: 14.10.2022

Published: 08.12.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Стереизомер D-молочной кислоты (D-лактат) в организме позвоночных, в отличие от L-изомера, в основном производится микрофлорой кишечника, тогда как сами позвоночные производят его в пренебрежимо малом количестве [1, 2]. Поэтому в крови млекопитающих D-лактат обычно присутствует в наномолярных концентрациях, а его накопление в плазме крови свидетельствует о серьёзных нарушениях и вызывает состояния, опасные для жизни. Синдром короткой кишки у человека может привести к глубокой D-молочной ацидемии с выраженными неврологическими проявлениями [1]. Также появляется все больше литературы, описывающей субклиническое повышение уровня D-лактата как индикатор сепсиса, травмы и ишемии. Субклиническое повышение уровня D-лактата в крови также отмечается при диабете [1]. В одном из исследований измерение концентрации D-лактата в венозной крови в качестве предиктора при диагностике аппендицита дало более низкий уровень ложноотрицательных результатов, чем измерение уровня C-реактивного белка или числа лейкоцитов [3]. Отмечалось, что D-лактат плазмы является чувствительным маркером кишечной недостаточности и эндотоксемии у пациентов с циррозом – предполагается, что из-за нарушения барьерной функции кишечника [4]. Таким образом, уровень D-лактата в крови и в содержимом кишечника рассматривается как перспективный маркер развития воспаления, ассоциированного с нарушением работы микрофлоры, а также развития бактериальной инфекции [5].

При этом, несмотря на то, что накопление D-лактата в крови связано с развитием патологических состояний у человека и жвачных животных, детально механизм поступления D-лактата в кровь позвоночных из кишечника практически не изучен.

Рассматриваются три основные гипотезы накопления D-лактата в крови и внутренних средах позвоночных.

1. D-лактат микробного происхождения накапливается в кишечнике, свободно проникает в кровь через кишечный эпителий и затем распространяется по внутренним средам организма [2, 6]. Таким образом, уровень этого метаболита в крови определяется качественным и количественным составом микробной экосистемы кишечника (в особенности численностью продуцентов D-лактата, в число которых входят лактобактерии [7]).

2. D-лактат, произведённый микробной микрофлорой кишечника, в норме не проникает во внутренние среды организма, однако при увеличении проницаемости кишечника, вызванной воспалительным процессом, может попадать в кровь [4].

3. Согласно третьей точке зрения, у позвоночных животных ведущую роль в контроле уровня данного бактериального метаболита в крови играет ферментная система утилизации D-лактата. На это указывает сохранение в геноме позвоночных фермента D-лактатдегидрогеназы, несмотря на ослабление метаболических путей производства собственного D-лактата. В пользу этой точки зре-

ния говорит то, что от D-молочной ацидемии страдают люди, мутантные по гену данного фермента [8].

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике с учётом проницаемости кишечного эпителия. В качестве модельного объекта исследования использовали радужную форель, которую в течение долгого времени кормили кормом с высоким содержанием углеводов, а также более характерным для хищного вида рыб кормом с высоким содержанием белка. Так как разные виды бактерий предпочитают разные субстраты, ожидалось, что по окончании эксперимента состав микрофлоры кишечника будет значительно отличаться у рыб, получавших разную диету. Задачей эксперимента было сдвинуть видовой состав микрофлоры экспериментальной группы рыб в сторону продуцентов D-лактата (лактобактерии) и таким образом смоделировать ситуацию накопления данного метаболита в кишечнике.

МЕТОДЫ

Состав кормов

Опытные партии продукционных комбикормов были изготовлены на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ВНИРО). Анализ состава доступного сырья (табл. 1) позволил рассчитать биологическую ценность кормовых компонентов и на основании этого создать рецептуру комбикормов с учётом физиологической потребности радужной форели (табл. 2). Опытные партии экструдированных кормов были изготовлены на полупромышленной автоматической линии фирмы Amandus Kahl (Германия).

Для контроля качества полученного комбикорма определяли его химический состав и питательную ценность путём расчёта валовой энергии. В результате оба корма были высокоэнергетическими и имели одинаковую энергетическую ценность. В высокобелковом комбикорме основная энергия была представлена жиром и протеином, доля углеводов составляла 10%. Высокоуглеводный комбикорм состоял на 30% из безазотистых экстрактивных веществ, доля белка составляла 42,6%, что соответствует расчётным данным и требованиям к комбикормам для форели.

Анализ также показал, что оба комбикорма содержат полный набор аминокислот в количестве, соответствующем потребностям форели, в том числе по незаменимым аминокислотам (табл. 3). Из-за большого содержания белка высокобелковый корм значительно превышал потребности форели по лизину, аргинину, фенилаланину, изолейцину и по сумме серосодержащих аминокислот. Так как избыток аминокислот может приводить к расходованию энергии на переработку излишков белка и выделение токсических продуктов его разрушения, то по аминокислотному составу высокоуглеводный корм является более сбалансированным.

В качестве дополнительного источника углеводов в высокоуглеводном корме использовали модифицированный кукурузный крахмал, содержащий сахара в до-

ТАБЛИЦА 1
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СЫРЬЯ ДЛЯ КОМБИКОРМА (%)

TABLE 1
CHEMICAL COMPOSITION OF RAW MATERIALS FOR ANIMAL FEED (%)

Наименование компонента	Влага	Сырой протеин	Сырой жир	БЭВ	Зола	Клетчатка
Мука рыбная кормовая	3,8	74,72	7,63	2,21	11,64	–
Пшеница	12,39	13,22	1,6	71,69	0,8	0,3
Премикс*	6,79	14,62	3,98	21,01	48,7	4,9
Монокальцийфосфат	1	–	–	–	–	–
Жир рыбный	–	–	100	–	–	–
Крахмал кукурузный модифицированный	8,15	–	–	91,85	91,85	0

Примечание. * – состав премикса: витамин А – 200 млн МЕ/т, витамин Е – 40 000 г/т, витамин D3 – 600 млн МЕ/т, витамин К – 2000 г/т, витамин В1 – 3000 г/т, витамин В2 – 4000 г/т, пантотеновая кислота – 10 000 г/т, витамин В4 – 200 000 г/т, ниацин – 20 000 г/т, витамин В6 – 3000 г/т, витамин В9 – 1000 г/т, витамин С – 80 000 г/т, Mn – 3000 г/т, Zn – 20 000 г/т, Fe – 20000 г/т, Cu – 800 г/т, Co – 20 г/т, Se – 30 г/т; БЭВ – безазотистые экстрактивные вещества.

ТАБЛИЦА 2
РЕЦЕПТЫ ВЫСОКОБЕЛКОВОГО И ВЫСОКОУГЛЕВОДНОГО КОМБИКОРМА ДЛЯ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (%)

TABLE 2
HIGH-PROTEIN AND HIGH-CARBOHYDRATE FEED FORMULAS FOR RAINBOW TROUT (%)

Наименование компонентов	Низкоуглеводный корм	Высокоуглеводный корм
Пшеничная мука	12	–
Крахмал кукурузный модифицированный	–	31,1
Мука рыбная кормовая	74,7	53,8
Жир рыбный	11,3	13,1
Монокальцийфосфат	1	1
Премикс*	1	1

Примечание. * – состав премикса: витамин А – 200 млн МЕ/т, витамин Е – 40 000 г/т, витамин D3 – 600 млн МЕ/т, витамин К – 2000 г/т, витамин В1 – 3000 г/т, витамин В2 – 4000 г/т, пантотеновая кислота – 10 000 г/т, витамин В4 – 200 000 г/т, ниацин – 20 000 г/т, витамин В6 – 3000 г/т, витамин В9 – 1000 г/т, витамин С – 80 000 г/т, Mn – 3000 г/т, Zn – 20 000 г/т, Fe – 20000 г/т, Cu – 800 г/т, Co – 20 г/т, Se – 30 г/т.

ТАБЛИЦА 3
АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ СЫРЬЯ ДЛЯ КОМБИКОРМА

TABLE 3
AMINO ACID COMPOSITION OF RAW MATERIALS PROTEINS FOR ANIMAL FEED

Наименование аминокислоты	Содержание, г/100 г продукта		
	мука рыбная	пшеница	премикс
Аспарагиновая	7,34	0,53	0
Треонин	3,25	0,41	0,06
Серин	3,14	0,52	0,06
Глутаминовая	10,35	3,96	0
Глицин	3,71	0,5	0
Аланин	4,46	0,43	0,08
Цистин + цистеин	0,94	0,44	0
Валин	3,33	0,86	0,71
Метионин	2,18	0,44	0
Изолейцин	3,11	0,55	0,1
Лейцин	5,48	0,88	0,16
Тирозин	2,67	0,3	0
Фенилаланин	3,2	0,44	0,07
Гистидин	1,8	0,26	0
Лизин	6,06	0,31	0,05
Аргинин	4,44	0,48	0,06
Пролин	2,64	1,32	0
Сумма НАК	29,25	4,58	1,15
Сумма ЗАК	38,75	8,04	0,2

Примечание. НАК – незаменимые аминокислоты; ЗАК – заменимые аминокислоты.

ступной для лососевых рыб форме. Рекомендуемая норма углеводов в корме для лососевых не должна превышать 15 % [9], таким образом, высокоуглеводный корм является несбалансированным по содержанию углеводов.

Высокий уровень содержания омега-3 жирных кислот, представленных эйкозопентаеновой и докозагексаеновой кислотами (табл. 4), в низкоуглеводном и высокоуглеводном комбикормах был сопоставим с жирно-

кислотным составом рыбьего жира, что свидетельствует о высоком качестве жировой составляющей в обоих комбикормах, которые полностью покрывают физиологические потребности форели.

Схема эксперимента

Для эксперимента по оценке влияния микрофлоры кишечника на продукцию D-лактата использовали мо-

ТАБЛИЦА 4
ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ СЫРЬЯ
ДЛЯ КОМБИКОРМА (% К МАССЕ ЖИРА)

TABLE 4
FATTY ACID COMPOSITION OF RAW MATERIALS LIPIDS
FOR ANIMAL FEED (% BY WEIGHT OF FAT)

Наименование кислоты	Мука рыбная кормовая	Жир рыбный
C14:0 Миристиновая	0,12	7,48
C16:0 Пальмитиновая	0,7	16,49
C16:1 Пальмитолеиновая	0,15	8,13
C17:1 Маргаринолеиновая	0	0,36
C18:0 Стеариновая	0,16	2,8
C18:1 Олеиновая	1,59	11,15
C18:2 Линолевая	0,96	2,32
C18:3 гамма-Линоленовая	0	0,22
C18:3 альфа-Линоленовая	0,18	1,8
C20:0 Арахидиновая	0,01	0,15
C20:1 Гондоиновая	0,28	11,44
C21:0 Генейкозановая	0	0,46
C20:3 Эйкозатриеновая	0,03	0,01
C20:4 Арахидононовая	0,01	0,56
C20:3 Эйкозатриеновая	0,04	0,25
C22:0 Бегеновая	0,01	0,01
C22:1 Эруковая	0,06	2,8
C20:3 Эйкозопентаеновая	0,16	19,37
C23:0 Трикозановая	0,01	0,05
C24:0 Лигноцериновая	0,02	0,06
C22:6 Докозагексаеновая	0,25	11,33
Сумма НЖК	1,05	28,93
Сумма МНЖК	2,12	35,1
Сумма ПНЖК	1,66	35,97
Сумма Омега-3	0,63	37,75
Сумма Омега-6	1	3,15
Сумма Омега-9	1,65	14,08
Сумма ЭПК + ДГК	0,41	30,7

Примечание. НЖК – насыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; ЭПК – эйкозопентаеновая кислота; ДГК – докозагексаеновая кислота.

лодь (0+) радужной форели *O. mykiss* массой 70–76 г, приобретенную в одном из форелевых хозяйств на Онежском озере в Республике Карелия. Перед началом эксперимента сеголетки форели были случайным образом разделены на две группы (по 16 шт.) и распределены в две установки с системой замкнутого водоснабжения. Каждая система состояла из двух аквариумов (в каждом по 8 рыб) объемом по 280 л с общим биофильтром. Перед началом эксперимента рыбу акклиматизировали к условиям аквариальной системы в течение 14 дней. Ежедневно в аквариумах вели контроль гидрохимических параметров с помощью универсальных тест систем «Нилпатест» (НИЛПА, Россия), рН-метра рН-150МИ (ГК «Теплоприбор», Россия) и оксиметра HI9147 (Hanna Instruments, Россия) для определения содержания растворенного кислорода в воде. Поддержание оптимальных гидрохимических параметров на одном уровне обеспечивалось ежедневной подменой до 30 % воды. В аквариумах поддерживалась постоянная температура воды 12 °С и концентрация растворенного кислорода 9–12 мг/мл. Раз в три недели рыб подвергали лёгкой анестезии (гвоздичное масло 0,1 мл/л, 30 с) для замера их массы.

В первую неделю акклиматизации рыб не кормили, на второй неделе рыбу кормили кормом для форели Biomar № 3 в расчёте 0,8 % от массы тела в сутки, привезённым с хозяйства. После акклиматизации первая группа рыб стала получать экспериментальный высокобелковый корм, вторая – высокоуглеводный корм. Длительность эксперимента составила 54 дня.

За 5 часов до окончания эксперимента рыб подвергли лёгкому наркозу (гвоздичное масло 0,1 мл/л, 30 с), после чего в желудочно-кишечный тракт рыб с помощью зонда вводили маркер проницаемости кишечника – раствор флуоресцентного красителя флуоресцина, сшитого с полимером декстраном массой 10 кДа (FITC-Dextran). Через 5 часов каждую рыбу усыпляли гвоздичным маслом в течение 3–4 мин до остановки дыхания, после чего отбирали биологические образцы. Для этого рыбам отрезали хвост и с помощью микрокапиллярных пробирок, обработанных этилендиаминтетрауксусной кислотой (Microvette 100, Sarstedt AG&Co, Германия), отбирали кровь из хвостовой вены. Часть крови центрифугировали в течение 10 мин на центрифуге Eppendorf 5804R (Eppendorf, Германия) при 5000 g и +4 °С для получения сыворотки. Полученную сыворотку аккуратно отбирали микропипеткой и переносили в стерильные пробирки, замораживали при –80 °С и использовали в дальнейшем для определения уровня D-лактата в крови.

Далее рыбу вскрывали, соблюдая стерильность зоны сбора образцов, используя для работы стерильный одноразовый инструмент либо инструмент, обработанный путём прокалывания его на спиртовке или в гласперленовом стерилизаторе. После вскрытия рыбам нитками перевязывали кишечник, чтобы разделить содержимое переднего и заднего отделов. Каждый отдел кишечника вскрывали поочередно и стерильными палочками извлекали из него пищевой комок, а также скальпелем делали соскоб слизистой. Материал помещали в стерильные криопробирки, замораживали в жидком азоте

и хранили при –80 °С до анализа. Часть пищевого комка разбавляли стерильным 0,9%-м раствором NaCl в 3 раза, центрифугировали в течение 3 мин при 5000 g и +4 °С; полученный надосадок хранили при –20 °С до определения в нём концентрации D-лактата.

Гематологические показатели

Гематологический профиль частично характеризовали с помощью мазков крови, сделанных сразу после забора крови рыб. Окрашивание по Романовскому применяли для дифференциации клеток при микроскопическом исследовании. Высушенные на воздухе и фиксированные в этаноле (5 мин) мазки погружали в раствор Мэя – Грюнвальда (МиниМед, Россия) на 3 мин, промывали водой, сушили и погружали на 45 мин в раствор ДиаХим-Гемистейн-Р (НПФ АБРИС+, Россия) в буфере PBS, pH = 6,8–7,2. Затем мазки промывали в дистиллированной воде, сушили и исследовали с помощью микроскопа Motic с цифровой камерой Moticam с прибором MI Devices (Motic, Гонконг). Типы клеток крови определяли по гематологическим атласам рыб [10, 11]. Дифференциальный подсчёт клеток крови проводили на однородных участках путём подсчёта 500 клеток в каждом мазке. Относительное количество эритроцитов и тромбоцитов выражали в процентах от всех подсчитанных клеток. Относительное количество лейкоцитов получали путём вычитания процентного содержания тромбоцитов из общего количества лейкоцитов. Относительное количество лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов выражали в процентах от общего числа лейкоцитов.

Анализ содержания D-лактата в биологических средах

Для определения D-лактата в биологических жидкостях применяли метод, основанный на распознавании D-лактата стерео-специфичным ферментом D-лактатдегидрогеназой [12]. Метод чувствителен к фоновому содержанию в среде восстановленного NADH+H⁺, а также различных дегидрогеназ, поэтому образцы предварительно нагревали для денатурации белков при +80 °С в течение 10 мин, затем осаждали денатурированный белок центрифугированием при 3500 g в течение 10 мин. Полученный супернатант использовали для дальнейшего анализа.

Для осуществления реакции предварительно в пробирке готовили исходную реакционную смесь. В расчёте на 1 образец смешивали 3 мкл раствора диафоразы 110 ед./мл, 81 мкл Tris-HCl буфера (pH = 8,9; содержит 0,07 % Triton X-100 и 0,59 % Tween-80), 7 мкл 75 мМ NAD⁺, 3 мкл 7,5-резазурина и 7 мкл раствора D-лактатдегидрогеназы 42 ед./мл. Затем в лунки 96-луночного планшета для измерения флуоресценции вносили 55 мкл готовой реакционной смеси и 20 мкл образца. Параллельно для каждого образца готовили холостую пробу, содержащую те же компоненты, за исключением D-лактатдегидрогеназы. Далее флуоресценцию измеряли в планшетном ридере ClarioStar (BMG Labtech, Германия) при +37 °С в течение 50 мин с настройками длины

волны возбуждения 544 нм и испускания 590 нм. Каждое измерение выполняли в трёх технических повторях.

Далее вычисляли разницу интенсивности флуоресценции в рабочей и холостой пробе. Количество D-лактата вычисляли по калибровочной кривой, приготовленной путём смешения в лунках планшета 55 мкл готовой реакционной смеси и 20 мкл калибрующих растворов, содержащих 0, 0,01, 0,05, 0,5 и 5 мМ D-лактата.

Оценка проницаемости кишечника

Проницаемость кишечника оценивали по интенсивности флуоресценции красителя FITC-Dextran в крови рыб. В норме флуоресцеин, сшитый с полимером декстраном массой 10 кДа, не проходит через эпителий кишечника; таким образом, появление флуоресценции в крови свидетельствует о нарушении барьерных функций кишечного эпителия. Флуоресценцию FITC-Dextran в образцах плазмы рыб измеряли в планшетном ридере ClarioStar (BMG Labtech, Германия) при +25 °С с настройками длины волны возбуждения 460 нм и испускания 512 нм.

Определение видового состава микробиоты содержимого кишечника культивируемой форели

Тотальную ДНК выделяли из образцов содержимого разных отделов кишечника, соскобов эпителия кишечника, а также корма и воды (собранных с помощью фильтра 0,22 микрон) с использованием набора для выделения ДНК из животных тканей DiaGene (ДиаЭм, Россия). Для этого 50 мг образца растирали в лизирующем буфере LBT с добавлением 8 мкл протеиназы К. Образцы лизировали в течение 16 ч при температуре +37 °С. Лизат центрифугировали на центрифуге Eppendorf (Германия) при 12 000 г в течение 20 мин, после чего отбирали надосадочную жидкость. К надосадочной жидкости добавляли буфер для сорбции (1:1.4 об./об.) и хлороформ, равный объёму надосадочной жидкости. Образцы центрифугировали при 12 000 г в течение 20 мин. Затем отбирали водную фазу, содержащую ДНК, и переносили на микроколоники DiaGene (ДиаЭм, Россия). Колонки дважды промывали в промывочном буфере WB1 и дважды в буфере WB2. ДНК с колонок элюировали стерильной деионизованной водой. Качество и количество ДНК измеряли на спектрофотометре SmartSpec (BioRad, США) при длине волны 260 и 280 нм.

Подготовка библиотек к секвенированию проводилась в соответствии с протоколом, описанным в руководстве «16S metagenomic sequencing library preparation» (Part # 15044223 Rev. B; Illumina). Качество полученных образцов геномной ДНК было предварительно проверено на электрофорезе в агарозном геле. Амплификация переменных регионов V3–V4 гена 16S рРНК осуществлялась с помощью универсальных праймеров. После получения ампликонов библиотеки были очищены и смешаны эквимольно с помощью SequalPrep™ Normalization Plate Kit (ThermoFisher, США). Контроль качества полученных пулов библиотек был проведён с помощью системы Fragment Analyzer (Agilent Technologies, США), количественный анализ – при помощи qPCR. Пул полу-

ченных библиотек был секвенирован на Illumina MiSeq (США) с использованием реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycles), длина прочтений – 300 п. о. с двух сторон фрагментов. Результирующие файлы FASTQ были получены с помощью ПО bcl2fastq v 2.17.1.14 Conversion Software (Illumina, США). Для контроля параметров секвенирования использовалась библиотека фага PhiX. Большая часть прочтений, относящаяся к фаговой ДНК, была удалена в процессе демультиплексирования.

Полученные парные чтения были собраны в контиги. Низкокачественные считывания, несобранные пары (производят контиги длиной свыше 470 нуклеотидов) и химерные считывания были удалены из анализа. Оставшиеся контиги были сопоставлены с эталонным выравниванием SSU rRNA (SILVA v 138.1, база данных). Последовательности, которые были правильно выровнены, были использованы для создания операционных таксономических единиц (OUT, operational taxonomic unit) с порогом идентичности 97 %. Все анализы прочтений были выполнены в программе mothur 1.44.11 (США). OTU, которые присутствовали только в одной из выборок или имели не более одного чтения на выборку, были исключены как одиночные. Для определения таксономии отдельных OTU с точностью до вида консенсусные последовательности были сгенерированы в mothur (отсечка не менее 95 % идентичности) и сопоставлены с NCBI nr с использованием веб-сервера megaBLAST. Сравнительный анализ количества прочтений в экспериментальных группах производили, используя линейную модель в пакете «limm» программной среды R.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После 54-дневного питания высокоуглеводной и высокобелковой диетой рыбы из опытной и контрольной групп демонстрировали одинаковый прирост (рис. 1) и нормальный внешний вид покровов и внутренних органов. Однако у рыб из экспериментальной группы, питавшихся высокоуглеводным кормом, был отмечен увеличенный размер печени (рис. 1). Данный результат является закономерным, так как известно, что переизбыток углеводов в пище (рекомендуемая норма для форели – не более 15 %) в течение длительного периода приводит к жировому перерождению печени и другим метаболическим нарушениям [9]. При этом маркеры системного воспаления, такие как индекс селезёнки и лейкоцитарная формула, у рыб из экспериментальных групп не отличались и были в пределах нормы. Таким образом, у рыб, длительное время питавшихся несбалансированной диетой, были отмечены негативные изменения, которые, тем не менее, не достигли критического уровня.

В кишечнике рыб, питавшихся разным кормом, нами не было обнаружено внешних признаков воспалительных процессов. При визуальном осмотре только в двух случаях была отмечена гиперемия кишечника у рыб, питавшихся высокоуглеводным кормом. При этом анализ проникновения флуоресцентного полимера массой 10 кДа в кровь рыб показал, что повышенная проница-

емость кишечника, которая является признаком воспалительного процесса, была отмечена у рыб, питавшихся высокобелковым кормом (рис. 1). В норме молекула такого размера не проходит кишечный барьер, поэтому появление флуоресценции в крови свидетельствует о нарушении его проницаемости [13]. Данный результат является неожиданным, так как питание кормом с содержанием белка более 90 % является нормальным для диких лососевых рыб.

После завершения эксперимента статистически значимые различия содержания D-лактата у рыб, питавшихся разной диетой, были обнаружены в толстом кишечнике (рис. 2). В тонком кишечнике рыб, питавшихся разной диетой, уровень D-лактата не различается и в целом был ниже, чем в толстом кишечнике, что подтверждает его продукцию кишечной анаэробной микрофлорой [6]. Уровень D-лактата в толстом кишечнике был статистически значимо выше у форели, получавшей корм с высоким содержанием белка. Данный результат также был неожиданным, так как, согласно литературе, основными продуцентами D-лактата являются лактобактерии, в качестве субстрата предпочитающие углеводы [7].

Несмотря на повышенное содержание D-лактата в толстом кишечнике и повышенную проницаемость кишечника у рыб, получавших высокобелковый корм, уровень D-лактата в крови этих рыб не отличался от такового у форели, получавшей высокоуглеводный корм, хотя оба этих фактора должны были способствовать поступлению D-лактата во внутреннюю среду организма. Отсутствие заметного повышения уровня D-лактата в крови может указывать на его эффективное метаболизирование ферментами печени и других тканей у форели.

Анализ видового состава микрофлоры содержимого заднего кишечника радужной форели, питавшейся разным кормом, показал, что статистически значимо по обилию различались только представители семейства Bacillaceae (роды *Bacillus* и *Virgibacillus*), которых было статистически значимо больше среди рыб, полу-

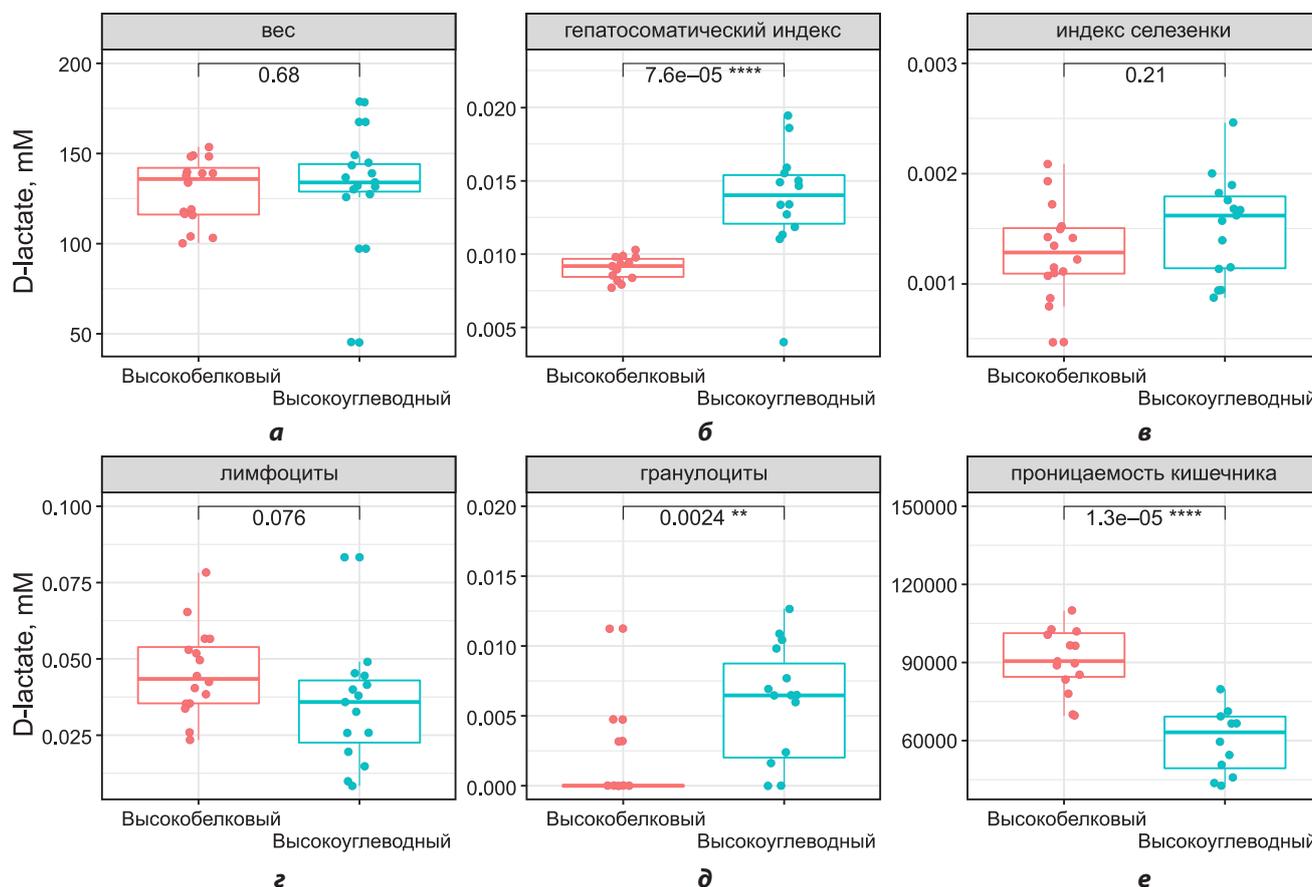


Рис. 1. Сравнительный анализ физиологических показателей радужных форелей, питавшихся высокобелковым и высокоуглеводным кормом: **а** – вес рыб; **б** – гепатосоматический индекс; **в** – индекс селезенки; **г** – процентное содержание лимфоцитов в крови рыб; **д** – процентное содержание гранулоцитов в крови рыб; **е** – проницаемость кишечника оцененная по уровню проникновения флуоресцентного красителя FITC-Dextran 10 кДа из кишечника в кровь рыб

FIG. 1. Comparative analysis of the physiological parameters of rainbow trout high-protein and high-carbohydrate fed: **a** – fish weight; **b** – hepatosomatic index; **v** – spleen index; **z** – percentage of lymphocytes in the fish blood; **d** – percentage of granulocytes in the fish blood; **e** – intestinal permeability estimated by the level of penetration of the FITC-Dextran 10 kDa fluorescent stain from the intestine in the fish blood

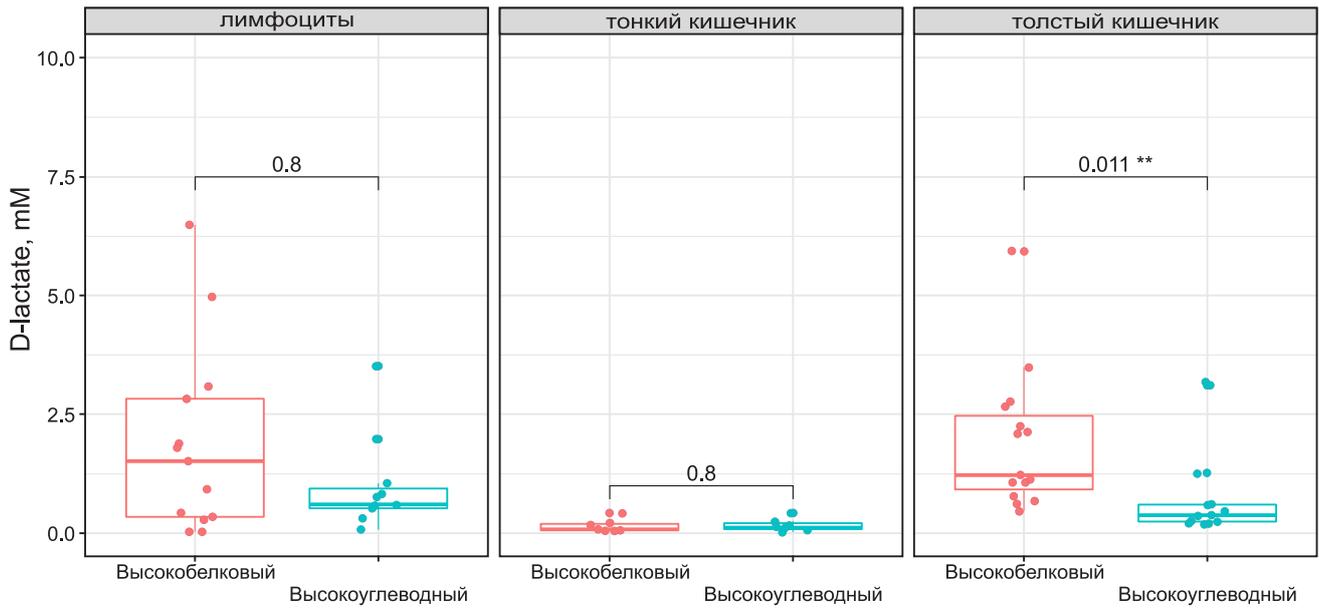


РИС. 2. Сравнительный анализ содержания D-лактата в плазме крови, в тонком кишечнике и в толстом кишечнике рыб, получавших высокобелковый и высокоуглеводный корм

FIG. 2. Comparative analysis of the content of D-lactate in the blood plasma, small intestine and large intestine of fish high-protein and high-carbohydrate fed

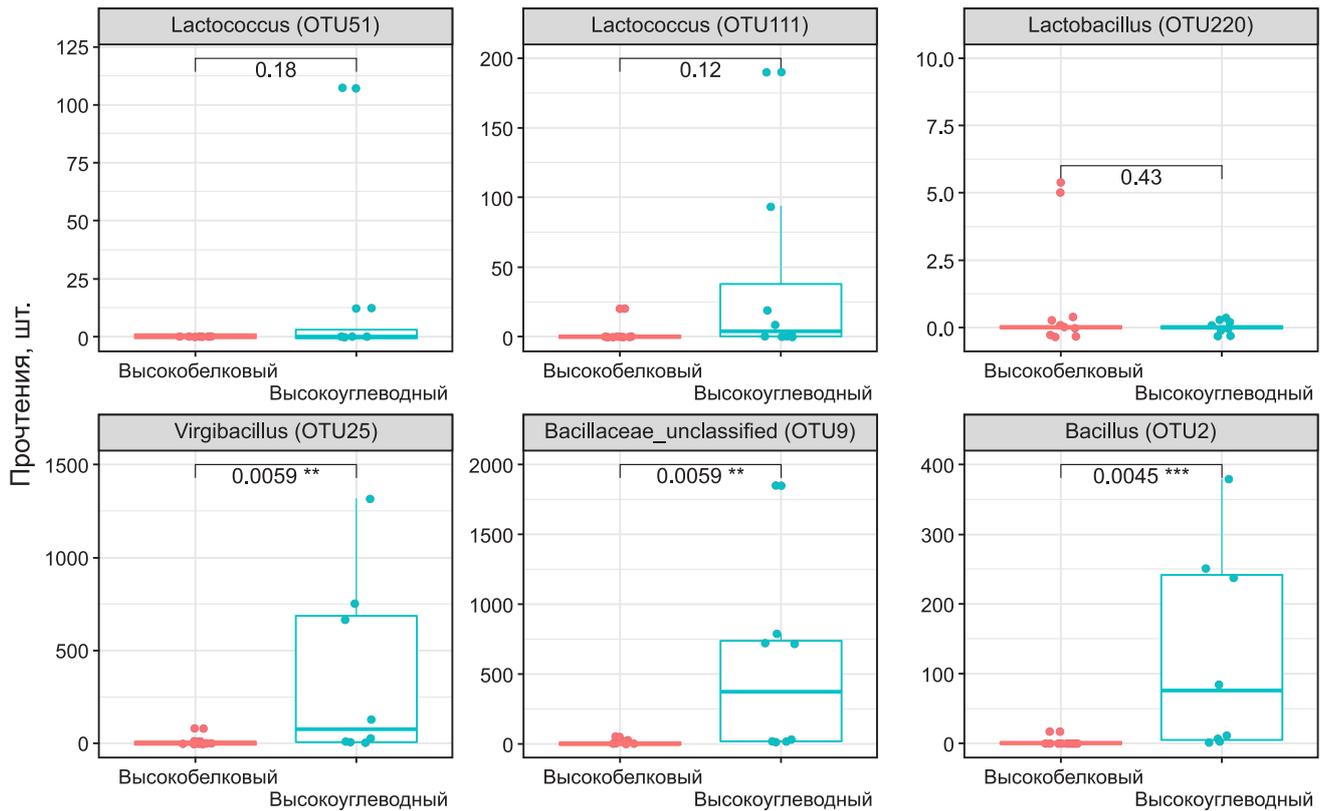


РИС. 3. Сравнительный анализ количества прочтений оперативных некоторых таксономических единиц (OTU) в содержимом заднего кишечника радужной форели, получавшей высокобелковый или высокоуглеводный корм

FIG. 3. Comparative analysis of the number of reads of some operational taxonomic units (OTU) in the contents of the hindgut of a rainbow trout high-protein or high-carbohydrate fed

чавших высокоуглеводную диету (рис. 3). Такие предполагаемые продуценты D-лактата, как лактобактерии *Lactococcus* и *Lactobacillus*, были обильно представлены в микрофлоре содержимого переднего кишечника рыб, питавшихся обеими диетами, реже были обнаружены в содержимом заднего кишечника рыб (рис. 3), питавшихся высокоуглеводной диетой, и практически отсутствовали в содержимом заднего кишечника рыб, питавшихся кормом, содержащим большое количество белка. Также бактерии *Lactococcus* и *Lactobacillus* не встречались в пристеночной микрофлоре форели [14], то есть данные микроорганизмы являются представителями транзитной микрофлоры. Таким образом, нами было показано, что лактобактерии не являются ведущим продуцентом D-лактата у рыб.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существенные отличия по содержанию D-лактата у рыб, питавшихся разными кормами, были обнаружены нами только в толстом кишечнике. Это согласуется с одной из выдвинутых гипотез, а именно: D-лактат производится микробиотой кишечника. Меньшее количество микробной флоры в тонком кишечнике объясняет низкие показатели содержания D-лактата. Отсутствие статистически значимых различий в плазме крови рыб с разной диетой не позволяет подтвердить гипотезу относительно влияния проницаемости кишечника и его содержания в кишечнике на уровень D-лактата в крови. Возможно, в концентрациях, обнаруженных в кишечнике форели (до 7 мМ), этот бактериальный метаболит эффективно перерабатывается D-лактатдегидрогеназой рыб, что препятствует его накоплению во внутренних средах. Таким образом, наши данные косвенно подтверждают гипотезу о том, что дефицит по данному ферменту может повышать риски развития состояний ацидоза, вызванного D-лактатом [8].

В эксперименте проницаемость кишечника оказалась выше у рыб, получавших высокобелковый корм. Рецептура корма считается сбалансированной для хищных рыб и применяется для выращивания малька, очень требовательного к качеству кормов. Однако, возможно, переизбыток некоторых аминокислот, например, лизина, аргинина, фенилаланина и изолейцина, из-за большого количества белка мог оказать негативные эффекты на работу кишечника и вызвать развитие воспалительного процесса.

Разнообразие микроорганизмов, которые так или иначе метаболизируют D-лактат, довольно велико, поэтому выделить специфическую группу, присутствие которой позволяло бы точно спрогнозировать уровень продукции данного метаболита в кишечнике, также представляется затруднительным. Предполагалось, что у рыб D-лактат в основном производится представителями рода *Lactobacillus* [7], тогда как наши данные не подтверждают данное предположение. Известно, что лактобактерии предпочитают углеводы в качестве субстратов для роста и активно развиваются в кишечнике при переизбытке са-

харов. Действительно, в заднем кишечнике рыб, питавшихся высокобелковым кормом, лактобактерии практически отсутствовали, в отличие от рыб, питавшихся высокоуглеводным кормом. В свою очередь в содержимом переднего кишечника рыб представители *Lactobacillus* и *Lactococcus* встречались независимо от диеты. В заднем кишечнике форели статистически значимо было меньше бактерий семейства Bacillaceae, которые так же, как и лактобактерии, являются грамположительными факультативными анаэробами, способными расти на углеводных субстратах с образованием L-изомера молочной кислоты в качестве конечного продукта [15]. Можно предположить, что пониженная продукция D-лактата в кишечнике рыб, получавших высокоуглеводную диету, связана с тем, что на такой диете преимущественно развивались штаммы продуценты L-изомера, которые подавляли прочую микрофлору. Также следует отметить, что ранее было показано [16], что присутствие бактерий вида *Bacillus subtilis* препятствует развитию воспаления и уменьшает проницаемость кишечника. Это подтверждается нашими данными о низкой проницаемости кишечника рыб, долгое время питавшихся высокоуглеводным кормом.

ВЫВОДЫ

В модельном эксперименте нами была изучена взаимосвязь между уровнем D-лактата в крови и в кишечнике позвоночных на примере радужной форели. С помощью различной диеты удалось получить две группы рыб, статистически значимо различающихся по проницаемости кишечного эпителия и по содержанию D-лактата в кишечнике. При этом, несмотря на различия по количеству D-лактата и по проницаемости кишечника между экспериментальными группами, в крови рыб статистически значимых различий по содержанию D-лактата между ними обнаружено не было. Таким образом, было показано, что у рыб механизм накопления D-лактата в плазме крови в меньшей степени связан с повышенной проницаемостью кишечника или гиперпродукцией этого метаболита кишечной микрофлорой и в большей степени – с утилизацией D-лактата в организме.

Помимо этого, мы не обнаружили изменений видового состава микрофлоры содержимого кишечника форели под действием корма с высоким содержанием углеводов по сравнению с рыбами, получившими высокобелковый корм. Возможно, более долгая экспозиция позволила бы лучше проявить тенденции к изменению состава микрофлоры содержимого кишечника в зависимости от питания. Таким образом, по крайней мере у рыб ведущая роль лактобактерий в производстве D-лактата нами не была подтверждена.

Учитывая сходство организации геномов [17] и, как следствие, базовых механизмов развития, иммунитета, физиологии и биохимии всех позвоночных животных, результаты исследований, выполненных на рыбах, могут быть с осторожностью экстраполированы на млекопитающих. Применительно к человеку полу-

ченные нами данные могут означать, что наиболее существенным фактором риска развития состояний, связанных с повышенным уровнем D-лактата, является генетическая предрасположенность, выявление которой возможно с помощью генетического скрининга. Диета и состав микрофлоры кишечника, как показано в эксперименте с участием модельного организма, в меньшей степени являются факторами риска развития D-лактат-ассоциированного ацидоза.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *J Nutr.* 2005; 135(7): 1619-1625. doi: 10.1093/jn/135.7.1619
2. Lorenz I, Gentile A. D-lactic acidosis in neonatal ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2014; 30(2): 317-331. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.03.004
3. Caglayan F, Cakmak M, Caglayan O, Cavusoglu T. Plasma D-lactate levels in diagnosis of appendicitis. *J Invest Surg.* 2003; 16(4): 233-237.
4. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004; 3(1): 58-61.
5. Smith SM, Eng RH, Buccini F. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections. *J Infect Dis.* 1986; 154(4): 658-664. doi: 10.1093/infdis/154.4.658
6. Yilmaz B, Schibli S, Macpherson AJ, Sokollik C. D-lactic acidosis: Successful suppression of D-lactate-producing *Lactobacillus* by probiotics. *Pediatrics.* 2018; 142(3): e20180337. doi: 10.1542/peds.2018-0337
7. Stuivenberg G, Daisley B, Akouris P, Reid G. *In vitro* assessment of histamine and lactate production by a multi-strain synbiotic. *J Food Sci Technol.* 2021; 59(9): 3419-3427. doi: 10.1007/s13197-021-05327-7
8. Monroe GR, van Eerde AM, Tessadori F, Duran KJ, Savelberg SMC, van Alfen JC, et al. Identification of human D lactate dehydrogenase deficiency. *Nat Commun.* 2019; 10: 1477. doi: 10.1038/s41467-019-09458-6
9. Krogdahl A, Gro-Ingunn H, Mommsen TP. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutr.* 2005; 11(2): 103-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x
10. Изергина Е.Е., Изергин И.Л., Изергин Л.И. *Атлас клеток крови лососевых рыб материкового побережья северной части Охотского моря.* Магадан: Кордис; 2014.
11. Иванова Н.Т. *Атлас клеток крови рыб: Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб.* М.: Лёгкая и пищевая промышленность; 1983.
12. Larsen T. Fluorometric determination of d-lactate in biological fluids. *Anal Biochem.* 2017; 539: 152-157. doi: 10.1016/j.ab.2017.10.026
13. Woting A, Blaut M. Small intestinal permeability and gut-transit time determined with low and high molecular weight

fluorescein isothiocyanate-dextran in C3H mice. *Nutrients.* 2018; 10(6): 685. doi: 10.3390/nu10060685

14. Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M, Rimoldi S. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. *J Animal Sci Biotechnol.* 2021; 12(1): 30. doi: 10.1186/s40104-021-00551-9

15. Poudel P, Tashiro Yu, Sakai K. New application of *Bacillus* strains for optically pure L-lactic acid production: General overview and future prospects, *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016; 80(4): 642-654. doi: 10.1080/09168451.2015.1095069

16. Kong W, Huang C, Tang Y, Zhang D, Wu Z. Effect of *Bacillus subtilis* on *Aeromonas hydrophila*-induced intestinal mucosal barrier function damage and inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *J Sci Rep.* 2017; 7: 1588-1598. doi: 10.1038/s41598-017-01336-9

17. Kettleborough RN, Busch-Nentwich EM, Harvey SA, Dooley CM, de Bruijn E, van Eeden F, et al. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. *Nature.* 2013; 496(7446): 494-497. doi: 10.1038/nature11992

REFERENCES

1. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *J Nutr.* 2005; 135(7): 1619-1625. doi: 10.1093/jn/135.7.1619
2. Lorenz I, Gentile A. D-lactic acidosis in neonatal ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2014; 30(2): 317-331. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.03.004
3. Caglayan F, Cakmak M, Caglayan O, Cavusoglu T. Plasma D-lactate levels in diagnosis of appendicitis. *J Invest Surg.* 2003; 16(4): 233-237.
4. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004; 3(1): 58-61.
5. Smith SM, Eng RH, Buccini F. Use of D-lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections. *J Infect Dis.* 1986; 154(4): 658-664. doi: 10.1093/infdis/154.4.658
6. Yilmaz B, Schibli S, Macpherson AJ, Sokollik C. D-lactic acidosis: Successful suppression of D-lactate-producing *Lactobacillus* by probiotics. *Pediatrics.* 2018; 142(3): e20180337. doi: 10.1542/peds.2018-0337
7. Stuivenberg G, Daisley B, Akouris P, Reid G. *In vitro* assessment of histamine and lactate production by a multi-strain synbiotic. *J Food Sci Technol.* 2021; 59(9): 3419-3427. doi: 10.1007/s13197-021-05327-7
8. Monroe GR, van Eerde AM, Tessadori F, Duran KJ, Savelberg SMC, van Alfen JC, et al. Identification of human D lactate dehydrogenase deficiency. *Nat Commun.* 2019; 10: 1477. doi: 10.1038/s41467-019-09458-6
9. Krogdahl A, Gro-Ingunn H, Mommsen TP. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutr.* 2005; 11(2): 103-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x
10. Izergina EE, Izergin IL, Izergin LI. *Atlas of blood cells salmon continental coast of the northern part of the Okhotsk Sea.* Magadan: Kordis; 2014. (In Russ.).
11. Ivanova NT. *Atlas of fish blood cells: Comparative morphology and classification of the formed elements of fish blood.* Moscow: Legkaya and pishchevaya promyshlennost; 1983. (In Russ.).

12. Larsen T. Fluorometric determination of d-lactate in biological fluids. *Anal Biochem.* 2017; 539: 152-157. doi: 10.1016/j.ab.2017.10.026
13. Woting A, Blaut M. Small intestinal permeability and gut transit time determined with low and high molecular weight fluorescein isothiocyanate-dextran in C3H mice. *Nutrients.* 2018; 10(6): 685. doi: 10.3390/nu10060685
14. Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M, Rimoldi S. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. *J Animal Sci Biotechnol.* 2021; 12(1): 30. doi: 10.1186/s40104-021-00551-9
15. Poudel P, Tashiro Yu, Sakai K. New application of *Bacillus* strains for optically pure L-lactic acid production: General overview and future prospects, *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016; 80(4): 642-654. doi: 10.1080/09168451.2015.1095069
16. Kong W, Huang C, Tang Y, Zhang D, Wu Z. Effect of *Bacillus subtilis* on *Aeromonas hydrophila*-induced intestinal mucosal barrier function damage and inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *J Sci Rep.* 2017; 7: 1588-1598. doi: 10.1038/s41598-017-01336-9
17. Kettleborough RN, Busch-Nentwich EM, Harvey SA, Dooley CM, de Bruijn E, van Eeden F, et al. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. *Nature.* 2013; 496(7446): 494-497. doi: 10.1038/nature11992

Сведения об авторах

Васильева Алина Валерьевна – студентка 2-го курса магистратуры, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», e-mail: kennard@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3849-6796>

Морозов Алексей Анатольевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБН Лимнологический институт СО РАН, e-mail: alexeymorozov1991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1925-0045>

Матросова Светлана Владимировна – заведующая лабораторией научно-исследовательского центра по аквакультуре, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», e-mail: matrosovasv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0093-704X>

Чечкова Наталья Александровна – студентка 2-го курса магистратуры, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», <https://orcid.org/0000-0002-6995-7738>

Арнаутов Максим Владимирович – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0003-3699-1451>

Артемов Роман Викторович – кандидат технических наук, доцент, начальник отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0001-5085-4459>

Биндюков Сергей Викторович – аспирант, специалист отдела кормов и кормовых компонентов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», <https://orcid.org/0000-0003-4231-1571>

Жидко Аглая Васильевна – студентка 4-го курса Института биологии, экологии и агротехнологий бакалавриата, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», <https://orcid.org/0000-0003-0958-3110>

Суховская Ирина Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической биохимии Института биологии, ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», e-mail: sukhovskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1073-2769>

Information about the authors

Alina V. Vasileva – 2nd year Master's Degree Student, Petrozavodsk State University, e-mail: kennard@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3849-6796>

Alexey A. Morozov – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: lexeymorozov1991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1925-0045>

Svetlana V. Matrosova – Head of the Laboratory of the Research Center for Aquaculture, Petrozavodsk State University, e-mail: matrosovasv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0093-704X>

Natalia A. Chechkova – 2nd year Master's Degree Student, Petrozavodsk State University, <https://orcid.org/0000-0002-6995-7738>

Maksim V. Arnautov – Cand. Sc. (Tech.), Leading Research Officer at the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0003-3699-1451>

Roman V. Artemov – Cand. Sc. (Tech.), Docent, Head of the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0001-5085-4459>

Sergey V. Binyukov – Postgraduate, Specialist at the Department of Feed and Feed Components, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, <https://orcid.org/0000-0003-4231-1571>

Aglaya V. Zhidko – 4th year Student at the Institute of Biology, Ecology and Agrotechnologies, Petrozavodsk State University, <https://orcid.org/0000-0003-0958-3110>

Irina V. Sukhovskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecological Biochemistry, Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: sukhovskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1073-2769>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».