



УДК 594.1:591.05(262.5)

© 2008

А. А. Солдатов, Т. И. Андреенко, И. В. Головина

**Особенности организации тканевого метаболизма
у двустворчатого моллюска-вселенца *Anadara
inaequivalvis* Bruguiere**

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Г. Е. Шульманом)

*Peculiarities of the glucose and protein metabolisms in tissues of Black Sea bivalve mollusks: *Anadara inaequalis* Bruguiere (invader) and *Mytilus galloprovincialis* Lam. (mass species) are compared. It is marked that the metabolism organization in *A. inaequalis* organism has expressed a tissue specificity. Anaerobic processes predominated in gills and digestive gland of mollusk under external normoxia conditions. The highest activities of malate and lactate dehydrogenases against the background of a higher content of lactate and a decreased glucose concentration in tissues testify to this. Simultaneously, the active protein degradation in gills and digestive gland of *A. inaequalis* is marked. Free aminoacid pool, aminoacid/protein index, and urea tissue level were higher than those in *M. galloprovincialis*. On the contrary, the foot metabolism of *A. inaequalis* was oriented to aerobic processes. The role of environmental conditions and mollusk's behavior in the tissue metabolism organization of this species are considered.*

Anadara inaequalis Bruguiere (семейство Arcidae L.) широко распространен в Индийском и Тихом океанах. В 1969 г. зафиксирован в Средиземном море, куда он попал из Адриатики и где быстро распространился. В 1980–1982 гг. был обнаружен и в Черном море [1], в 1999 г. впервые зарегистрирован на южном побережье Крыма (Карадаг, район Алушты) [2]. В настоящее время отмечается массовое оседание личинок данного моллюска на естественные субстраты, коллекторные установки мидийных ферм, заход в устья рек.

A. inaequalis является эвритермным и эвригалинным видом, легко переносит гипоксические и аноксические условия [3]. Гемолимфа моллюска содержит эритроцитарный гемоглобин и, соответственно, имеет высокую кислородную емкость, что отличает его от других видов черноморских двустворок [3, 4]. Сравнительные исследования показали, что в условиях нормоксии интенсивность потребления кислорода у *A. inaequalis* в 6–7 раз меньше, чем у другого массового черноморского вида — *Mytilus galloprovincialis* Lam. [5]. Эти отличия позволяют предположить наличие особенностей в организации тканевого метаболизма у *A. inaequalis*.

В настоящей работе приведена сравнительная характеристика углеводного и белкового обмена в тканевых структурах двух черноморских двустворчатых моллюсков: *A. inaequivalvis* и *M. galloprovincialis*.

Материал был получен одновременно с коллекторных установок рыбодобывающего предприятия “Дон-Комп” (бухта Стрелецкая, Севастополь). В работе использовали взрослых особей *A. inaequivalvis* (далее анадара) (длина раковины 30–33 мм) и *M. galloprovincialis* (далее мидия) (длина раковины 50–55 мм). Препарирование тканей проводили при 4 °С. У моллюсков вычленили гепатопанкреас, жабры и ногу, которые хранили в жидком азоте.

В тканях моллюсков оценивали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ) — по скорости окисления НАДН₂ [6], аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) — динитрофенилгидрозиновым методом Райтмана–Френкеля [7]. Все измерения выполнены при (25,0 ± 0,5) °С. Одновременно определяли содержание в тканях белка — по методу Лоури, аминокислот — по реакции с нингидрином, мочевины — по реакции с диацетилмонооксимом, глюкозы — глюкозидазным методом, лактата — ферментативным методом и пирувата — по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [7]. В работе применяли стандартные наборы реактивов: “Simco, Ltd” (Украина) — при определении активностей АлАТ и АсАТ, “Lachema” (Чехия) — при определении содержания мочевины и лактата, ООО НПП “Филисит диагностика” (Украина) — при определении содержания глюкозы.

Межвидовое сравнение показало присутствие высокоэффективной МДГ во всех типах тканей анадары (табл. 1). Активность данного фермента в гепатопанкреасе и жабрах анадары в 5–6 раз ($p < 0,001$) превышала значения, отмеченные для мидии. В ноге различия по этому показателю были менее выражены и составили 41,3% ($p < 0,001$). Аналогичные результаты получены и в отношении ЛДГ, активность которой в тканях анадары превышала в 2–3 раза ($p < 0,001$) таковую у мидии. Уровень глюкозы в тканях анадары был ниже в 2–4 раза ($p < 0,001$), а лактата и пирувата (жабры, гепатопанкреас) — выше на 50–240% ($p < 0,001$), чем у мидии. Индекс лактат/пируват совпадал у обоих видов. Такое соотношение процессов свидетельствует о преобладании в тканях анадары анаэробных процессов в условиях внешней нормоксии.

Таблица 1. Особенности углеводного обмена в тканях моллюсков

Показатель	Число особей	Вид ткани ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)		
		Гепатопанкреас	Жабры	Нога
<i>Anadara inaequivalvis</i> Br.				
ЛДГ, мкмоль/(мин·мг)	12	0,0074 ± 0,0004	0,011 ± 0,001	0,037 ± 0,003
МДГ, мкмоль/(мин·мг)	13	0,1106 ± 0,0068	0,114 ± 0,008	0,195 ± 0,019
Глюкоза, нмоль/мг	10	11,4 ± 0,6	3,80 ± 0,65	1,55 ± 0,59
Лактат, нмоль/мг	10	10,2 ± 2,1	6,73 ± 1,28	2,86 ± 0,42
Пируват, нмоль/мг	10	1,07 ± 0,20	0,693 ± 0,090	0,394 ± 0,111
Лактат/Пируват	10	10,1 ± 2,0	9,69 ± 1,20	9,39 ± 1,43
<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lam.				
ЛДГ, мкмоль/(мин·мг)	10	0,0032 ± 0,0004	0,0028 ± 0,0003	0,014 ± 0,001
МДГ, мкмоль/(мин·мг)	11	0,018 ± 0,001	0,022 ± 0,002	0,138 ± 0,011
Глюкоза, нмоль/мг	10	23,6 ± 2,2	2,95 ± 1,07	6,11 ± 1,41
Лактат, нмоль/мг	10	6,67 ± 0,63	2,81 ± 0,29	8,35 ± 1,18
Пируват, нмоль/мг	10	0,715 ± 0,078	0,393 ± 0,051	1,10 ± 0,35
Лактат/Пируват	10	9,68 ± 0,60	9,53 ± 2,25	11,6 ± 2,1

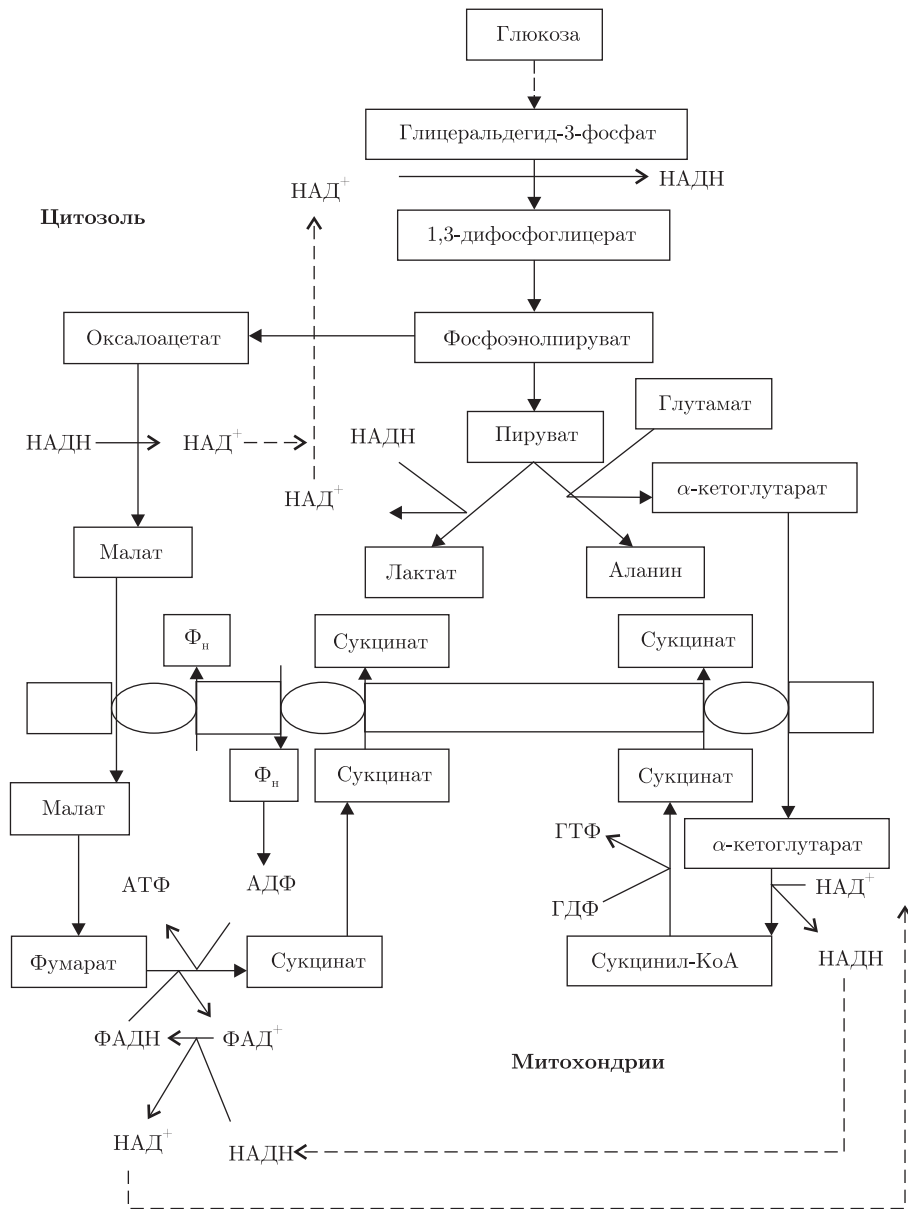


Рис. 1. Метаболическая схема использования белков и углеводов митохондриями мышц в условиях гипоксии и аноксии

Известно, что цитоплазматическая фракция МДГ сопряжена с гликолитическими процессами через фосфоэнолпируваткарбоксикиназу [8], трансформирующую фосфоэнолпируват в оксалоацетат (рис. 1). МДГ восстанавливает оксалоацетат до малата, который затем посредством малат-сукцинатного переносчика направляется в митохондрии и доводится ферментами ветви цикла Кребса, при участии митохондриальной МДГ, до сукцината. Подобная ориентация метаболизма ограничивает поток углеводных субстратов в направлении лактата, исключая его чрезмерное накопление, и сохраняет энергетический статус ткани. Она описана для ряда гидробионтов и имеет функциональный смысл в условиях экстремальной гипоксии и аноксии [9, 10]. Парадоксальность ситуации состоит в том, что у ана-

дары эти процессы реализуются на уровне жабр и гепатопанкреаса в условиях внешней нормоксии.

Для тканей анадары также характерен высокий уровень свободных аминокислот, особенно на уровне жабр и гепатопанкреаса (табл. 2). В сравнении с мидией различия составили 2,8–5,4 раза ($p < 0,001$). Индекс аминокислоты/белок превышал значения, отмеченные для мидий, в 1,9–2,8 раза ($p < 0,001$), а уровень мочевины — в 20–27 раз ($p < 0,001$). Все это свидетельствует об активном катаболизме белков в указанных тканевых структурах. В жабрах и ноге анадары отмечена также более высокая в сравнении с мидией активность АлАТ — на 8,8–11,2% ($p < 0,001$). В гепатопанкреасе анадары и мидии значения активности АлАТ были близкими. В отношении АсАТ результаты не столь однозначны.

Усиление белкового катаболизма у гидробионтов в условиях гипоксии отмечается многими исследователями [11, 12]. В этих условиях активно задействуется ресурс свободных аминокислот, в частности глутамата [13]. Посредством АлАТ, активность которой увеличилась в наших исследованиях, глутамат сопрягается с пируватом и доводится до аланина и α -кетоглутарата, тем самым ограничивается образование токсичного лактата (см. рис. 1). Ферменты митохондрий переводят α -кетоглутарат в сукцинат. При этом клетка получает дополнительный ресурс ГТФ и НАДН₂. Последний может быть использован в фумаратредуктазной реакции, рассмотренной выше. Накопление аланина и сукцината в тканях в условиях гипоксии отмечено для морских и пресноводных рыб, в том числе и моллюсков [14]. Однако у анадары это наблюдалось в условиях нормального содержания кислорода в воде.

В отличие от гепатопанкреаса и жабр ориентация метаболизма в ткани ноги анадары была иной. Уровень лактата и пирувата здесь был в 2–3 раза меньше ($p < 0,001$), чем у мидий, а также индекс лактат/пируват имел более низкие значения. Активность МДГ и ЛДГ была повышена, но различия между моллюсками не столь выражены. Параметры белкового обмена у анадары были близки к таковым у мидий. Уровень мочевины в данном органе анадары и мидии фактически совпадал, а содержание свободных аминокислот у анадары было на 45,3% ниже ($p < 0,001$). Сравнительная оценка позволяет говорить о том, что метаболизм в ткани ноги у анадары имеет в целом аэробную ориентацию.

Таблица 2. Особенности белкового обмена в тканях моллюсков

Показатель	Число особей	Вид ткани ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)		
		Гепатопанкреас	Жабры	Нога
<i>Anadara inaequalvis</i> Br.				
АлАТ, мкмоль/(мин·мг)	20	0,183 ± 0,005	0,210 ± 0,003	0,228 ± 0,007
АсАТ, мкмоль/(мин·мг)	20	0,096 ± 0,003	0,105 ± 0,001	0,117 ± 0,003
Белок, мкг/мг	20	102,5 ± 2,0	59,4 ± 2,0	31,9 ± 1,0
Аминокислоты, мкг/мг	20	0,598 ± 0,024	0,378 ± 0,014	0,102 ± 0,003
Мочевина, нмоль/мг	10	35,6 ± 3,4	7,81 ± 1,1	2,65 ± 0,43
Аминокислоты/Белок	20	0,0059 ± 0,0003	0,0065 ± 0,0002	0,0032 ± 0,0001
<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lam.				
АлАТ, мкмоль/(мин·мг)	20	0,190 ± 0,002	0,193 ± 0,001	0,205 ± 0,001
АсАТ, мкмоль/(мин·мг)	20	0,099 ± 0,001	0,134 ± 0,002	0,108 ± 0,001
Белок, мкг/мг	20	102,5 ± 5,0	20,6 ± 0,7	41,5 ± 1,7
Аминокислоты, мкг/мг	20	0,210 ± 0,006	0,070 ± 0,002	0,183 ± 0,009
Мочевина, нмоль/мг	10	1,32 ± 0,04	0,38 ± 0,06	2,16 ± 0,18
Аминокислоты/Белок	20	0,0021 ± 0,0001	0,0034 ± 0,0001	0,0045 ± 0,0002

Таким образом, организация метаболизма в организме анадарты имеет выраженную тканевую специфику. В условиях внешней нормоксии в жабрах и гепатопанкреасе моллюска преобладают анаэробные процессы, а в ноге — аэробные. Такая асимметрия метаболизма может быть обусловлена условиями существования и поведения данного вида. Он обитает в придонных слоях воды с ограниченным водообменом, часто зарывается в грунт [15], т.е. состояние гипоксии для него является скорее нормой, чем исключением. При этом моллюск подвижен и активно перемещается, используя ногу. Учитывая это, можно констатировать, что отмеченные выше особенности организации тканевого обмена у анадарты функционально обусловлены и имеют адаптивную направленность. Они сохраняются даже в условиях благоприятного кислородного режима вод.

1. *Gomoiu M. T. Scapherca inaequalis* (Bruguiere), a new species in the Black Sea // *Cercet. Mar. Rech. Mar.* – 1984. – No 17. – P. 131–141.
2. *Ревков Н. К., Болтачева Н. А., Николаенко Т. В., Колесникова Е. А.* Разнообразие зообентоса рыхлых грунтов в прибрежной зоне крымского побережья Черного моря // *Океанология.* – 2002. – **42**, № 4. – С. 561–571.
3. *De Zwaan A., Cortesi P., van den Thillart G. et al.* Differential sensitivities to hypoxia by two anoxia-tolerant marine molluscs: a biochemical analysis // *Mar. Biol.* – 1991. – **111**. – P. 343–341.
4. *De Zwaan A., Babarro J. M. F., Monari M., Cattani O.* Anoxic survival potential of bivalves: (arte)facts // *Comp. Biochem. and Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2002. – **131**, No 3. – P. 615–24.
5. *Солдатов А. А., Столбов А. Я., Головина И. В., Андреев Т. И., Холодов В. И.* Тканевая специфика метаболизма у двустворчатого моллюска-вселенца *Anadara inaequalis* Br. // *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* – 2005. – **4**, № 27. – С. 230–232.
6. *Мильман Л. С., Юровецкий Ю. Г., Ермолаева Л. П.* Определение активности важнейших ферментов углеводного обмена // *Методы биологии развития.* – Москва: Наука, 1974. – С. 346–364.
7. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – Москва: МЕДпресс-информ, 2004. – 501 с.
8. *Skorkowski E. F.* Mitochondrial malic enzyme from crustacean and fish muscle // *Comp. Biochem. and Physiol.* – 1988. – **90B**. – P. 19–24.
9. *Шануро А. З., Бобкова А. Н.* Роль малатдегидрогеназы беспозвоночных в адаптации к дефициту кислорода // *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* – 1975. – **11**, № 5. – С. 547.
10. *Almeida-Val V. M. F., Val A. L., Duncan W. P. et al.* Scaling effects on hypoxia tolerance in the Amazon fish *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): contribution of tissue enzyme levels // *Comp. Biochem. and Physiol.* – 2000. – **125**, No 2. – P. 219–226.
11. *Shulman G. E., Chesalin M. V., Abolmasova G. I. et al.* Metabolic strategy in pelagic squid of genus *Sthenoteuthis* (Ommastrephidae) as the basis of high abundance and productivity: an overview of the soviet investigations // *Bull. Mar. Sci.* – 2002. – **71**, No 2. – P. 815–836.
12. *Chew S. F., Gan J., Ip Y. K.* Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // *Physiol. Biochem. Zool.* – 2005. – **78**, No 4. – P. 620–629.
13. *Waarde A.* Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production // *Comp. Biochem. and Physiol.* – 1988. – **91B**, No 2. – P. 207–228.
14. *Горомосова С. А., Шануро А. З.* Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. – Москва: Лег. и пищ. пром-сть, 1984. – 120 с.
15. *Brenko M., Legac M.* A review of bivalve species in the eastern Adriatic Sea. 2. *Pteromorphia* (Arcidae and Noetidae) // *Nat. Croat.* – 1996. – **5**, No 3. – P. 221–247.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского НАН Украины,
Севастополь

Поступило в редакцию 03.08.2007