

**РОЛЬ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ТКАНЯХ МЕДИЦИНСКИХ
ПИЯВОК *Hirudo medicinalis* L., 1758 В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ
К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ РАЗНЫХ
КЛИМАТОГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОН**

© 2016 г. Л. В. Черная, Л. А. Ковальчук, Е. С. Нохрина

Представлено академиком РАН В.Н. Большаковым 27.07.2015 г.

Поступило 28.09.2015 г.

Впервые проведена сравнительная оценка аминокислотных спектров тканей медицинских пиявок *H. medicinalis* из разных климатогеографических зон Евразии. Показано, что адаптация *H. medicinalis* к экстремальным климатическим условиям идет по пути интенсификации аминокислотного обмена за счет значительного роста паттерна незаменимых аминокислот. Установлено, что повышенные накопления аргинина в 3.6, гистидина – в 3.9 и лизина – в 2.0 раза выполняет особую защитную роль в поддержании адаптации *H. medicinalis* к низким положительным температурам.

DOI: 10.7868/S0869565216060256

Медицинские пиявки *Hirudo medicinalis* L., 1758 – эндемики Палеарктики, обитают преимущественно в водоемах ее европейской части. Широтная протяженность ареала этого вида пиявок (от Великобритании на западе до Алтайских гор на востоке составляет более 5700 км) отличается большим разнообразием микроклиматических условий, зависящих как от формы рельефа и характера водоема, так и от повышенной континентальности климата [1, 7]. Изменения климатических условий в направлении понижения среднегодовых температур является основным лимитирующим фактором распространения и численности особей *H. medicinalis*. Для этих пиявок, имеющих южное происхождение, весьма опасно промерзание грунта, и высокие требования к температуре играют определяющую роль для их размножения и выживания [1]. Предполагается, что многие водоемы непригодны для них в качестве среды обитания именно из-за низкой температуры воды [4]. Известно, что присутствие в тканях биологически активных соединений, способствующих защите клеточных мембран от функциональной дестабилизации, обусловленной низкими температурами, является одной из форм биохимической адаптации пойкилотермных животных к обитанию в условиях пониженных температур [2, 4–6].

В связи с этим задача настоящего исследования состояла в изучении роли свободных аминокислот

в тканях медицинских пиявок при адаптации к экстремальным условиям разных климатогеографических зон.

Мы впервые исследовали содержание аминокислот в тканях взрослых особей медицинских пиявок *H. medicinalis*, отловленных в период выхода пиявок из зимнего анабиоза в 6 водных объектах следующих климатогеографических зон: регионы европейской части Евразии (Тамбовская обл., р. Лесной Воронеж; Луганская обл., оз. Глубокое; Харьковская обл., оз. Горелое и р. Уды), где среднегодовые температуры находятся в диапазоне от +6.1 до +11.9°C, территория Западной Сибири (Алтайский край, оз. Дамба и р. Тогул) со среднегодовой температурой +2.6°C. Концентрацию свободных аминокислот (АК, мкмоль/100 г ткани) в кожно-мышечной ткани пиявок определяли методом ионообменной хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот ААА-339М (“Microtechna”, Чехия) [3]. Экспериментальные данные были обработаны с использованием пакета лицензионных прикладных программ STATISTICA 6.0. Достоверность различий определяли по критерию *t* Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0.05$.

Качественный состав аминокислотного спектра тканей *H. medicinalis* представлен 21 АК (табл. 1). Доминирующими аминокислотами вне зависимости от принадлежности медицинских пиявок к какому-либо климатическому поясу оказались глутамин, глутаминовая кислота, аланин, аспарагиновая кислота и глицин, уровень которых колебался в пределах 30.5–35.9, 13.8–12, 22.4–26.4 и 6.2–4.3% соответственно. Также во всех случаях

Институт экологии растений и животных
Уральского отделения
Российской Академии наук, Екатеринбург
E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru, chernaya_lv@mail.ru

Таблица 1. Содержание свободных аминокислот в тканях *H. medicinalis* из разных климатогеографических зон

Аминокислота	Европейские <i>H. medicinalis</i> (n = 40)	Сибирские <i>H. medicinalis</i> (n = 20)	p
Цистеиновая кислота	19.1 (16.0–22.1)	42.9 (34.2–51.8)	<0.001
Аспарагиновая кислота	391.2 (375.7–406.5)	559.4 (539.9–578.9)	<0.001
Треонин	45.4 (39.6–51.2)	66.3 (63.1–69.5)	<0.001
Серин	66.8 (59.7–73.9)	109.6 (104.6–114.5)	<0.001
Глутаминовая кислота + глутамин	626.5 (588.9–664.0)	646.7 (637.0–656.3)	0.450
Пролин	29.1 (24.1–34.1)	1.34 (1.22–1.47)	<0.001
Глицин	108.9 (104.6–113.1)	92.1 (88.1–96.1)	<0.001
Аланин	240.3 (226.7–253.9)	253.6 (246.5–260.7)	0.184
Валин	44.0 (38.1–49.9)	73.7 (71.4–76.1)	<0.001
Цистеин	5.99 (4.67–7.32)	4.32 (4.12–4.52)	0.077
Метионин	13.5 (12.4–14.6)	15.1 (13.7–16.5)	0.083
Изолейцин	16.7 (15.3–18.1)	37.0 (35.2–38.9)	<0.001
Лейцин	53.8 (51.1–56.4)	79.3 (74.8–83.7)	<0.001
Тирозин	10.6 (9.56–11.7)	16.9 (16.3–17.7)	<0.001
Фенилаланин	21.7 (19.8–23.7)	38.2 (35.5–40.9)	<0.001
γ-аминомасляная кислота	5.09 (4.45–5.73)	3.05 (2.05–4.04)	<0.01
Орнитин	17.8 (16.9–18.7)	16.3 (15.9–16.6)	<0.05
Лизин	24.8 (22.1–27.4)	50.3 (46.3–54.2)	<0.001
Гистидин	2.04 (1.82–2.25)	7.94 (7.47–8.42)	<0.001
Аргинин	1.49 (1.01–1.99)	5.29 (4.42–6.16)	<0.001
Фонд АК	1744.8 (1663.4–1819.0)	2119.4 (2064.6–2174.3)	<0.001
Незаменимые АК	223.4 (205.2–241.6)	373.1 (357.8–388.5)	<0.001
Заменимые АК	1479.4 (1408.7–1550.1)	1683.9 (1650.8–1717.2)	<0.001

Примечание. Представлены средние значения концентраций аминокислот (мкмоль/100 г) и 95%-е доверительные интервалы (в скобках); n – число животных в группе.

мы не обнаружили значимого влияния климатогеографических особенностей водных экосистем, в которых обитают *H. medicinalis*, на уровень содержания в их тканях глутаминовой кислоты и глутамина, играющих ключевую роль в обмене азота, метаболически активного аланина, участвующего в синтезе глюкозы, и серусодержащих аминокислот – цистеина и метионина, обладающих антиоксидантными свойствами ($p > 0.05$). В тканях исследуемых пиявок мы не обнаружили таурин и триптофан (табл. 1).

Существенные различия в количественном распределении свободных заменимых и незаменимых аминокислот в тканях у медицинских пиявок из разных климатогеографических зон выявлены методом кластерного анализа (рис. 1). Обитающие в условиях Западной Сибири пиявки отличаются от особей, населяющих водные экосистемы европейской части Евразии, высоким уровнем общего пула свободных аминокислот (табл. 1, $p < 0.001$). Ткани сибирских пиявок при низких положительных температурах содержат

незаменимые АК (лизин, треонин, валин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, гистидин и аргинин) в концентрациях, значительно превышающих пулы этих аминокислот у европейских пиявок ($p < 0.001$). Впервые показано, что повышенные концентрации аргинина (в 3.6 раза), гистидина (в 3.9 раза) и лизина (в 2.0 раза) выполняют и особую протекторную функцию в реализации адаптивных механизмов медицинских пиявок к низким положительным температурам в условиях Западной Сибири.

В тканях этих пиявок при сравнении с особями из водоемов европейской зоны отмечено понижение содержания глицина на 15%, γ-аминомасляной кислоты – на 40%, орнитина – на 8% (табл. 1, $p < 0.05$). Значительное падение концентрации пролина (в 21.7 раза) у *H. medicinalis* сибирских водоемов при сравнении с европейскими особями, возможно, является одним из звеньев компенсаторного ответа на условия их обитания.

Наши исследования показали, что одним из механизмов адаптации *H. medicinalis* к климати-

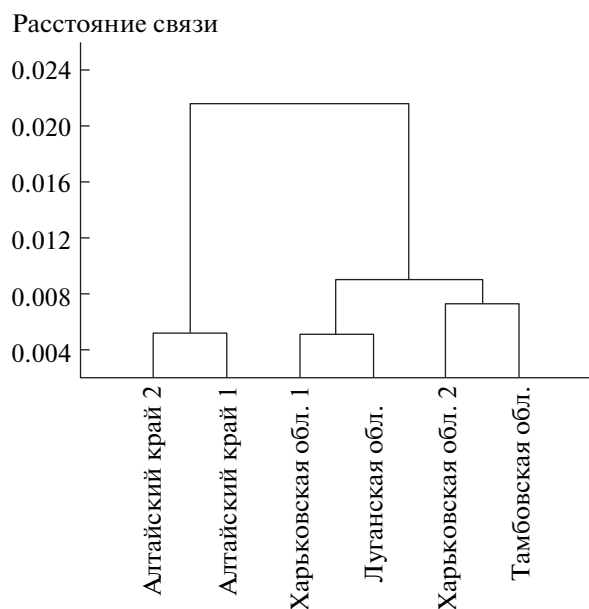


Рис. 1. Дендрограмма сходства аминокислотных спектров тканей *H. medicinalis* из разных климато-географических зон.

ческим условиям Западной Сибири (суровые зимы, короткий безморозный период, глубокое промерзание грунта при среднегодовой температуре среды $+2.6^{\circ}\text{C}$ на восточной границе ареала) может быть интенсификация аминокислотного обмена за счет значительного роста паттерна незаменимых аминокислот. Возрастание общего пула свободных аминокислот у сибирских особей обеспечивает им выживание при широкой амплитуде колебания околонулевых положительных температур окружающей воды.

Показано, что специфической особенностью медицинских пиявок сибирских водоемов является повышенное содержание в тканях лизина, аргинина, гистидина — незаменимых аминокислот, связанных не только с энергетическими процессами, но и выполняющих криопротекторную роль в поддержании адаптивных механизмов к низким положительным температурам и функцию защиты клеточных структур от гипотермической дестабилизации.

Полученные в настоящей работе данные позволяют предполагать, что повышенное содержание перечисленных незаменимых аминокислот можно рассматривать в качестве специфического фактора для обеспечения механизмов низкотемпературной адаптации и, следовательно, возможности существования пиявок в условиях холодного климата Сибири.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лукин Е.И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов. Л., 1976. Т. 1. 484 с.
2. Каранова М.В. // Изв. РАН. Сер. биол. 2006. № 6. С. 719–724.
3. Ковальчук Л.А., Черная Л.В., Нохрина Е.С. // Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии. 2011. № 6. С. 61–64.
4. Elliott J.M., Tullett P.A. // Biol. Conservation. 1984. V. 29. P. 15–26.
5. Fields P.G., Fleurat-Lessard F., Lavenseau L., et al. // J. Insect Physiol. 1998. V. 44. P. 955–965.
6. Karanova M.V. // Biol. Bull. 2011. V. 38. № 2. P. 116–124.
7. Utevsky S., Zagmajster M., Atemasov A., Zinenko O., Utevska O., Utevsky A., Trontel P. // Aquatic Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst. 2010. V. 20. P. 198–210.