УДК 595.143:577.112.3

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АМИНОКИСЛОТНОГО ПУЛА В ТКАНЯХ ХИЩНОЙ ПИЯВКИ HAEMOPIS SANGUISUGA L., 1758 (HIRUDINEA: CLITELLATA)

Черная Л.В., Ковальчук Л.А.

ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург,
e-mail: Chernaya_LV@mail.ru; kovalchuk@ipae.uran.ru

Исследовано количественное и качественное содержание свободных аминокислот в тканях молодых и взрослых особей пресноводной хищной пиявки Haemopis sanguisuga (Linnaeus, 1758) Суммарный аминокислотный фонд молоди в 2.2 раза выше, чем у взрослых. Аминокислотный пул молодых пиявок повышен главным образом за счет аспарагиновой и глутаминовой кислот, пролина, глицина, валина и аргинина. Примечательно, что в тканях растущих пиявок содержится значительное содержание таурина и триптофана, которые у взрослых особей присутствуют только в следовых количествах. Очевидно, что указанные аминокислоты играют решающую роль при росте и развитии пиявок. Интересно, что при всех существующих различиях в содержании свободных аминокислот соотношение незаменимых аминокислот в тканях обеих групп пиявок сопоставимо.

Ключевые слова: свободные аминокислоты, пиявки, возраст.

AGE FEATURES OF AN AMINO ACID POOL IN THE TISSUES OF A PREDATORY LEECH, HAEMOPIS SANGUISUGA L., 1758 (HIRUDINEA: CLITELLATA)

Chernaya L.V., Kovalchuk L.A.

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Division, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg,
e-mail: Chernaya_LV@mail.ru; kovalchuk@ipae.uran.ru

Quantitative and qualitative contents of free amino acids in tissues of young and adult individuals of the leech Haemopis sanguisuga (Linnaeus, 1758) were studied. The total concentrations of amino acids in the young were 2.2 times higher than in adults. Amino acid pool in young leeches is increased mainly at the expense of aspartic and glutamic acids, proline, glycine, valine and arginine. Remarkably, in the tissues of growing leeches there was found out the considerable contents of taurine and tryptophan which are present only in tracing quantities in adults. Evidently, specified amino acids play a decisive role in growth and development of leeches. It is interesting, that at all existing substantial differences in free amino acid contents the ratio of essential to nonessential amino acids in both groups of leeches is the same.

Keywords: free amino acids, leeches, age.

Введение

Исследования, направленные на изучение роли свободных аминокислот в онтогенезе животных, представляют особенный интерес, поскольку обеспечение физиологического транспорта аминокислот является важным условием при росте и развитии организма [3]. Аминокислоты – важнейшие биоэлементы, участвующие в синтезе биологически активных соединений (белки, ферменты, гормоны), осуществляют интеграцию основных метаболических потоков в организме. По количеству и разнообразию функций в энергетическом обмене и синтезе вторичных продуктов аминокислотный обмен занимает первое место в обмене веществ. Имеются данные об иммуностимулирующих и детоксицирующих свойствах аминокислот [1, 2, 6].

Данная работа посвящена изучению особенностей структуры аминокислотного пула в тканях молодых и взрослых особей хищной пиявки *Haemopis sanguisuga* L., 1758.

Большая ложноконская пиявка *H.sanguisuga* – одна из самых крупных представителей пресноводных пиявок Палеарктики. Биология этой пиявки изучена довольно хорошо. Известно, что они размножаются летом, откладывают коконы во влажный грунт прибрежной полосы водоемов. Через месяц из коконов выходит молодь, которая растет и развивается довольно медленно – половая зрелость у *H.sanguisuga* наступает только в трехлетнем возрасте. Продолжительность жизни больших ложноконских пиявок – не менее 5-ти лет. *H.sanguisuga* принадлежит к числу весьма прожорливых хищников, заглатывающих свою добычу целиком или отрывая от нее куски значительных размеров. Сильная мускулатура, способность к плаванию, амфибиотический образ жизни обеспечивают эту хищницу разнообразной пищей, как в водоемах, так и в сырой прибрежной полосе. Взрослые особи пожирают самых разных животных, которых могут одолеть: червей (крупных олигохет, а также молодь пиявок), водных на-

секомых (большей частью их личинок), мягкотелых, небольших рыб, головастиков; *H.sanguisuga* не гнушается и падалью, выполняя функции «санитаров» в водных экосистемах [4, 7]. В рацион молоди этих хищниц входят только мелкие беспозвоночные, что, несомненно, должно отражаться на обменных процессах различных возрастных групп *H.sanguisuga*.

Материалы и методы

Пиявок отлавливали в прибрежной зоне Белоярского водохранилища (Свердловская область) в последнюю декаду августа. Масса тела молодых особей *H.sanguisuga* составила 0.13 ± 0.06 г, взрослых – 2.30 ± 0.41 г.

Состояние аминокислотного обмена оценивали методом ионообменной хроматографии с помощью автоматического анализатора аминокислот ААА-339М. Для анализа брали 1 грамм кожно-мышечной ткани пиявок и гомогенизировали с 3 мл калий фосфатного буфера (pH = 7.4). Гомогенат центрифугировали 15 мин в рефрижераторной центрифуге K-23D при 10 000 об./мин. Супернатант сливали в полиэтиленовую пробирку и добавляли 0.1 мл 30%-й сульфосалициловой кислоты для осаждения белков. Вторично центрифугировали содержимое пробирки 30 мин при 8 000 об/мин. Полученный супернатант наносили на колонку анализатора. Для исследуемого образца на хроматограмме прописывался весь спектр свободных аминокислот, и определялась концентрация каждой из них. Концентрацию свободных аминокислот в тканях выражали в мкмоль/100г. Рассчитывали содержание (% от суммарного фонда) незаменимых и заменимых аминокислот, их соотношение.

В эксперименте использовали 15 взрослых и 27 молодых особей *H.sanguisuga*. Проведено 440 элементоопределений.

Экспериментальный материал обработан стандартными методами математической статистики с использованием программ MS Excel 2003 и Statistica v.6.0. Значимость различий между группами оценивали с помощью критерия достоверности различий Стьюдента. Различия между сравниваемыми выборками считали статистически достоверными при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Показано, что в тканях обеих возрастных групп пиявок содержится 22 свободных аминокислоты и их производных (табл.). При этом у молодых особей отмечен повышенный уровень азотистого обмена – суммарные концентрации свободных аминокислот в их тканях в 2.2 раза выше, чем у взрослых особей ($p < 0.05$).

Аминокислотный фонд молодых пиявок повышен за счет 20 аминокислот. Только концентрации цистеиновой кислоты и орнитина в тканях пиявок обеих групп не

Таблица

Содержание свободных аминокислот (АК, мкмоль/100г влажной ткани) в тканях молодых и взрослых особей H. sanguisuga

АК Мкмоль/100г	*H.sangusuga* молодь	*H.sangusuga* взрослые
Cysteic Acid	8.48 ± 1.10*	9.41 ± 0.58
Taurine	19.5 ± 2.67	следы
Aspartic Acid	204.7 ± 8.11	88.4 ± 2.05
Treonine	52.6 ± 5.52	29.4 ± 2.15
Serine	72.6 ± 5.64	46.3 ± 1.71
Glutamic Acid +Glu	645.2 ± 14.2	218.8 ± 5.03
Proline	164.7 ± 5.76	44.6 ± 2.51
Glycine	181.7 ± 6.26	80.3 ± 2.09
Alanine	228.6 ± 7.99	169.2 ± 3.64
Valine	133.6 ± 6.16	6.74 ± 0.31
Cystine	3.77 ± 0.27	2.28 ± 0.10
Methionine	30.7 ± 4.53	16.5 ± 0.96
Isoleucine	19.5 ± 2.82	13.2 ± 0.40
Leucine	75.3 ± 4.85	60.5 ± 2.24
Tyrosine	25.4 ± 4.35	15.3 ± 0.43
Phenylalanine	35.6 ± 2.81	20.4 ± 0.88
Tryptophan	4.64 ± 0.34	следы
Ornithine	26.3 ± 2.98*	25.6 ± 1.05
Lysine	75.4 ± 4.34	59.3 ± 1.98
Histidine	22.1 ± 2.69	12.4 ± 0.55
Arginine	30.5 ± 3.53	8.95 ± 0.05
Суммарный фонд АК	2060.9 ± 87.5	927.6 ± 73.4
НАК %	23.3	24.4
ЗАК %	74.1	71.8
НАК/ЗАК	0.31	0.34

*- $p > 0.05$

показали достоверных различий ($p > 0.05$). У молоди особенно высоко тканевое содержание аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и глутамина, пролина, глицина, и аргинина, концентрации которых превышают содержание их у взрослых особей в 2.3, 2.9, 3.7, 2.3, и 3.4 раза соответственно ($p < 0.05$). А содержание незаменимой аминокислоты валина, используемого мышечной тканью в качестве источника энергии и обладающего иммуностимулирующими и детоксицирующими свойствами, у молоди в 20 раз больше, чем у взрослых ($p < 0.05$). Отмечено, что в тканях растущих пиявок содержится значительное содержание таурина и незаменимой аминокислоты триптофана, которые у взрослых особей присутствуют только в следовых количествах.

Процентное содержание пула заменимых аминокислот в тканях молодых пиявок составляет 74.1% от суммарного фонда, при этом более 31% приходится на долю глутаминовой кислоты и глутамина (рис.1).

Глутаминовая кислота занимает центральное место в процессах переаминирования в организме, участвует в углеводном обмене и является одним из источников гликогена. Важна роль глутаминовой кислоты и глутамина в обезвреживании аммиака, образующегося в процессе жизнедеятельности животных [1].

У взрослых особей процентное содержание (от общего фонда) заменимых аминокислот несколько ниже, чем у молоди – 71.8%. Однако уровень серина, аланина и тирозина превышает процентное содержание этих аминокислот в тканях растущих пиявок (рис.1).

Содержание незаменимых аминокислот в тканях молодых пиявок составляет 23.3% от суммарного фонда, при этом более 6% приходится на долю валина (рис.2). Валин вместе с лейцином и изолейцином служит источником энергии в мышечных клетках и участвует в поддержании нормального обмена азота в организме [3]. Следует отметить достаточно высокий уровень содержание аргинина, который участвует в синтезе гормона роста (рис.2).

У взрослых особей содержание незаменимых аминокислот несколько выше, чем у молоди – 24.4%. При этом более 12% приходится на долю лейцина и лизина (рис.2). Лейцин, вероятно, компенсирует пониженный уровень валина в тканях взрослых пиявок. Лизин участвует в синтезе антител, гормонов и ферментов.

При всех обнаруженных существенных различиях в содержании свободных аминокислот соотношение незаменимых аминокислот к заменимым (НАК/ЗАК) у обеих групп пиявок сопоставимо – 0.31 у молоди и 0.34 у взрослых особей. Стабильный уровень незаменимых аминокислот в тканях пиявок является важным условием для нормальной жизнедеятельности. Авторами было показано, что процентное содержание незаменимых аминокислот в тканях хищной пиявки *H.sanguisuga* (23-24%) значительно выше, чем у кровососущих медицинских пиявок *Hirudo verbana* (12-16%) [5].

Проведенные исследования выявили существенные возрастные различия состояния аминокислотного пула у пиявки *H.sanguisuga.* Рост и развитие пиявок сопровождается высоким уровнем азотистого метаболизма, об-

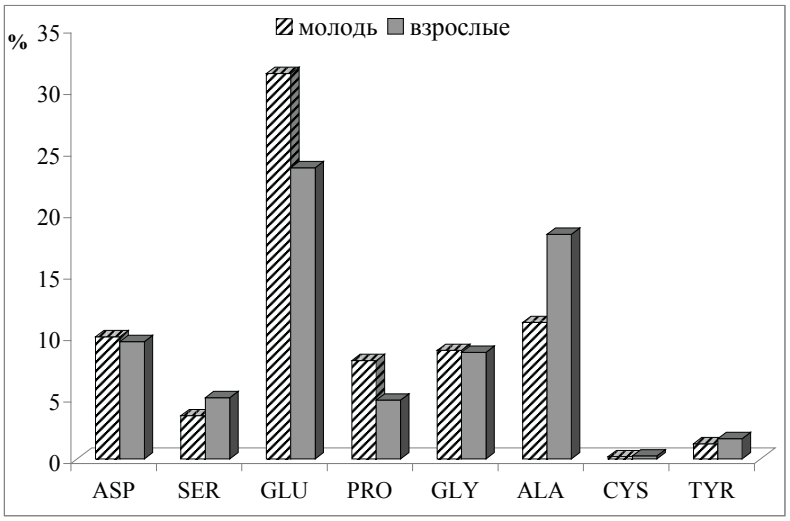

Рис. 1. Содержание (% от суммарных концентраций АК) заменимых аминокислот в тканях молодых и взрослых особей хищной пиявки H.sanguisuga

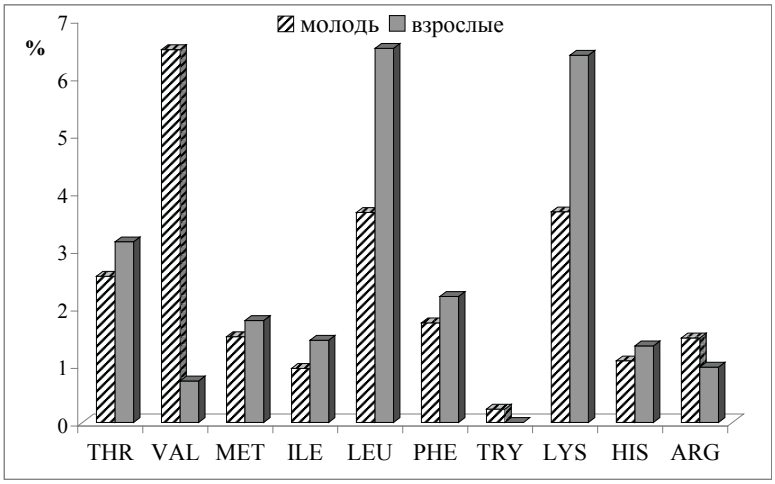

Рис. 2. Содержание (% от суммарных концентраций АК) незаменимых аминокислот в тканях молодых и взрослых особей хищной пиявки H.sanguisuga

условленный повышенными тканевыми концентрациями свободных аминокислот: валина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и глутамина, пролина, таурина, триптофана, глицина и аргинина.

Список литературы

1. Готовский Ю.В., Косарева Л.Б., Перов Ю.Ф. Аминокислоты. – М.: «ИМЕДИС». 2002. – 43 с.

2. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.У., Безверхая И.С. Аминокислоты в медицине. – Киев: Здоров'я. 1982. – 199 с.

3. Ленинджер А. Метаболизм аминокислот // Основы биохимии. – М.: Мир. 1985.– Т.1. – С.107-137.

4. Лукин Е.И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов. Л., 1976. – Т.1. – 484 с. (Фауна СССР, №109).

5. Черная Л.В., Ковальчук Л.А. Свободные аминокислоты пиявок с различной трофической организацией // Вестник ОГУ. – 2008. – № 10. – С. 225-229.

6. Nogushi T., Naito H. Mechanism and regulation of intracellular protein degradation: Nutrition, proteins and amino acids // Jap. Sci. Soc. press. 1990. – Tokyo. Springer-Uerlag. –Berlin etc. – P.26-27.

7. Shikov E.V. Haemopis sanguisuga (Linnaeus, 1758) (Hirudinea) – the first observation of a leech predation on terrestrial gastropods // Folia Malacologica, Poznan, 2011. – V. 19 (2). – P. 103-106.