

УДК 594.1: 577.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ МОРСКИХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ К АНОКСИИ (ОБЗОР)

Н. Н. Фокина, З. А. Нефедова, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Обзор включает анализ литературных и собственных данных по проблеме биохимических адаптаций морских двустворчатых моллюсков к воздействию краткосрочной аноксии. Описаны различные механизмы регуляции метаболизма у *Bivalvia* в ответ на действие низких концентраций кислорода в окружающей среде. Показано, что биохимические адаптации являются одним из ключевых способов выживания двустворчатых моллюсков в условиях аноксии.

Ключевые слова: биохимические адаптации, двустворчатые моллюски, аноксия.

N. N. Fokina, Z. A. Nefedova, N. N. Nemova. BIOCHEMICAL ADAPTATIONS OF MARINE BIVALVES TO ANOXIC CONDITIONS (REVIEW)

The review includes investigation of the literature and our own data on biochemical adaptations of marine bivalves exposed to short-term anoxia. Various mechanisms of metabolic regulation in *Bivalvia* in response to low oxygen concentrations in the environment were described. It is shown that biochemical adaptations are a key way of marine bivalves survival under anoxic conditions.

Key words: biochemical adaptations, Bivalves, anoxia.

Способность к длительному выживанию в бескислородных условиях (то есть в условиях аноксии) хорошо развита у многих видов беспозвоночных животных. Морские организмы приспособляются к низким концентрациям кислорода (гипоксия или аноксия) в окружающей среде на различных уровнях организации: молекулярном, биохимическом, физиологическом и поведенческом [De Zwaan et al., 1976; Gade, 1983; Brinkhoff et al., 1983; Громосова, Шапиро, 1984; De Zwaan, Putzer, 1985; Хочачка, Сомеро, 1988; Fandrey, 1995; Wu, 2002; David et al., 2005]. Животные, обитающие в прибрежной (литоральной) зоне моря, хорошо адаптированы к воздействиям неблагоприятных факторов окружающей среды и благодаря набору адаптаций способны выживать в условиях не-

достатка кислорода. В частности: у них развиты дополнительные механизмы потребления кислорода из окружающей среды; они способны поддерживать внутренние энергетические ресурсы организма, переключаясь на анаэробные метаболические пути; они снижают скорость своего общего метаболизма в ответ на действие низких концентраций кислорода в морской воде [Burnett, Strickle, 2001]. Причем третий способ считается основным и одним из важнейших механизмов адаптации к недостатку кислорода для многих видов морских моллюсков [Хочачка, Сомеро, 1988; Larade, Storey, 2002; David et al., 2005]. Во время периодических обсыханий, возникающих в результате приливо-отливных циклов, литоральные двустворчатые моллюски подвергаются воздейст-

вию краткосрочной аноксии и переключают свой метаболизм на анаэробный путь. Вследствие этого они считаются типичными факультативными анаэробными организмами. Известно, что интенсивность обмена у морских *Bivalvia* при аноксии снижается более чем в 18 раз [Громосова, Шапиро, 1984]. Снижая скорость метаболизма, гипоксия/аноксия в значительной степени влияет на ростовые и многие другие физиологические характеристики моллюсков [Suchotin, Portner, 2001]. Вместе с тем способность *Bivalvia* выдерживать длительное (до 16 суток) отсутствие кислорода обеспечивается не только биохимическими адаптациями, но и деятельностью ряда других адаптивных механизмов на различных уровнях организации.

Характерной поведенческой реакцией двусторчатых моллюсков на воздействие низких концентраций кислорода в морской воде является плотное смыкание створок раковины, что препятствует обезвоживанию организма [Алякринская, 2004]. Физиологическим механизмом приспособления к недостатку кислорода в среде обитания у *Bivalvia* считается запасание кислорода в мантийной жидкости [Newell, 1989]. В условиях аноксии запасы кислорода быстро истощаются [Gabbott, 1983; Newell, 1989], и, когда парциальное давление кислорода падает ниже 20–50 мм рт. ст., моллюски переходят на анаэробный обмен и расход энергии у них заметно снижается [Ortmann, Grieshaber, 2003]. Для того чтобы избежать закисления внутренней среды продуктами анаэробного метаболизма, увеличивается концентрация кальция в лимфе за счет растворения раковины, который регулирует уровень pH крови и дает возможность избежать ацидоза тканей [Алякринская, 2004]. Для прикрепленных литоральных организмов реакция избегания неблагоприятного воздействия гипоксии невозможна, поэтому, помимо физиологических механизмов потребления максимально доступного кислорода из воды и его транспорта в ткани, для них характерны следующие адаптивные метаболические стратегии выживания в условиях недостатка кислорода в морской воде: обладание большими запасами потенциальных источников энергии в тканях (главным образом гликогена и некоторых аминокислот); соединение реакций гликолиза с дополнительными реакциями на уровне субстратного фосфорилирования с повышенным выходом АТФ; образование альтернативных конечных продуктов молочной кислоты, которые являются или летучими, или менее кислотными компонентами, для того чтобы клеточный гомеостаз минимально изменялся во время воздействия долгосрочной аноксии; значительное понижение скоро-

сти метаболизма, что способствует снижению потребностей организма в молекулах АТФ [Kapper, Stickle, 1987; Burnett, Strickle, 2001; Larade, Storey, 2002].

Для морских моллюсков характерен двухфазный адаптивный ответ на воздействие низких концентраций кислорода в окружающей среде. Во время отлива они подвергаются *первичному воздействию гипоксии*, при этом у них значительно истощаются запасы кислорода в тканях, постепенно усиливается распад углеводов. Такие изменения в метаболизме моллюсков приводят к компенсаторному увеличению выхода ферментативного АТФ, необходимого для поддержания нормальной скорости общего метаболизма.

При *длительном воздействии низких концентраций кислорода*, то есть при отсутствии кислорода в морской воде (например, в экспериментальных условиях или при загрязнении среды обитания), у моллюсков падает скорость метаболизма, а выход АТФ составляет 10% от аэробного метаболизма. Снижение скорости метаболизма продолжается до тех пор, пока внутренние запасы организма способствуют выживанию моллюсков в таких неблагоприятных условиях. Известно, что большинство морских моллюсков, обитающих на литорали, могут выживать в условиях аноксии дни и даже недели [Larade, Storey, 2002; Алякринская, 2004]. Значительное снижение метаболизма в свою очередь способствует подавлению скорости реакций синтеза и использования АТФ в метаболических процессах. Следовательно, многие физиологические процессы длительное время могут обеспечиваться за счет продукции АТФ ферментативным способом [Storey, 2004].

У морских моллюсков описано несколько механизмов регуляции уровня метаболизма. Одним из них является изменение скорости гликолитических реакций. Например, для *Bivalvia* характерно *аллостерическое регулирование активности ферментов* в условиях аноксии, в ходе которого метаболиты оказывают воздействие на специфические локусы ферментов. Одним из примеров такой регуляции в бескислородных условиях служит ингибирование активности 6-фосфофрукто-1-киназы и пироваткиназы низкими концентрациями фруктоза-2,5-дифосфата и повышенным содержанием L-аланина соответственно. Регуляция с помощью *изменений в значениях pH* окружающей среды также способствует альтерациям в скорости гликолитических реакций. Так, низкие значения pH благоприятствуют направлению потоков фосфоенолпировата (ФЕП) в сторону синтеза сукцината [Larade, Storey, 2002] (подробнее см. далее).

Одним из важных механизмов снижения скорости общего метаболизма служит обратимое фосфорилирование белков. Такие изменения в структуре белков вызывают значительные модификации в активности многих ферментов и функциональных белков, участвующих во всех процессах жизнедеятельности организма. Например, у *Littorea littorea*, как и у большинства моллюсков, устойчивых к аноксии, обратимое фосфорилирование некоторых ферментов гликолиза способствует перенаправлению потока углерода в анаэробный путь ферментативного метаболизма, а также подавлению скорости гликолитического пути. Известно, что в аноксических условиях фосфорилирование фосфофруктокиназы и пируваткиназы переводит их в менее активные формы [Storey, 2004]. Следовательно, ковалентная модификация ферментов, индуцированная аноксией, значительно понижает их активность, изменяет кинетические свойства и подавляет общую скорость метаболизма.

Фосфорилирование ферментов гликолиза и различных протеинкиназ, вызванное действием аноксии, может не только изменять их кинетические свойства, но и превращать эти ферменты в менее активные формы. Основными киназами являются цАМФ-, цГМФ-, Ca^{2+} и фосфолипидзависимые протеинкиназы, активность которых также обеспечивается соответствующими вторичными мессенджерами – цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} и фосфолипидами [Larade, Storey, 2002]. Показано, что в условиях аноксии снижается количество цАМФ-зависимой протеинкиназы. Следовательно, метаболические функции, которые усиливает данная протеинкиназа, будут подавляться во время анаэробноза.

Считается, что подавление каскада сигнальной трансдукции является одним из механизмов снижения скорости метаболизма [Storey, 2004]. Известно, что цГМФ и его протеинкиназа играют основную роль в сигнальной трансдукции при адаптивном ответе морских двустворчатых моллюсков на действие низких концентраций кислорода в морской воде. В переднем мускуле-замыкателе *Mytilus edulis* увеличение концентрации цГМФ происходит в ответ на действие ацетилхолина, который является нейротрансмиттером, стимулирующим сокращение этих мышц для того, чтобы закрыть створки раковины. У двустворчатых моллюсков закрытые створки раковины стимулируют падение уровня кислорода в организме, а также активируют анаэробные адаптации [Larade, Storey, 2002]. цГМФ-зависимая протеинкиназа способствует фосфорилированию некоторых ферментов, включенных в обмен углеводов (в частности пируваткиназы) у боль-

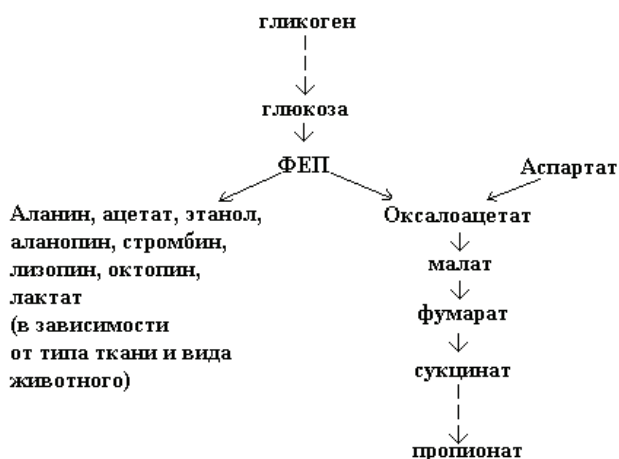
шинства видов морских моллюсков [Brooks, Storey, 1997], и экспрессии генов, ответственных за устойчивость моллюсков к аноксии [Larade et al., 2001; Larade, Storey, 2002].

Несмотря на то что снижение скорости метаболизма является количественно выгодным механизмом, способствующим выживанию морских моллюсков в условиях аноксии, активация модифицированных путей метаболизма также играет важную роль в процессах адаптации морских моллюсков к низким концентрациям кислорода в морской воде. В ходе данных реакций в значительной степени увеличивается выход АТФ и образуются неокислотные и/или летучие конечные продукты, способствующие в свою очередь сохранению гомеостаза клетки в условиях аноксии.

У морских моллюсков первичным ответом на недостаток кислорода в окружающей среде является обычный метаболический путь: превращение гликогена и аспартата в конечные продукты – аланин и сукцинат соответственно. Так, в ходе реакций гликолиза гликоген (а именно глюкоза) распадается до пирувата, а затем, вместо того чтобы восстанавливаться до лактата, пируват подвергается реакции трансаминирования (используя аминокетильные группы аспартата) с образованием аланина (рис.). Продукт дезаминирования аспартата – оксалоацетат – восстанавливается до малата (используя НАДН, который в других обстоятельствах расходуется в реакции с лактатдегидрогеназой). Малат превращается в фумарат, а затем – в сукцинат с образованием АТФ, а последующее превращение сукцината в пропионат у некоторых видов морских моллюсков связано с дополнительным синтезом АТФ. Известно, что вследствие истощения пула аспартата происходит метаболический сдвиг, который направляет ФЕП, образованный в ходе реакций гликолиза, на синтез оксалоацетата (см. рис.). Данный эффект достигается ингибированием фермента пируваткиназы таким образом, что ФЕП карбоксилируется с образованием оксалоацетата, который затем используется в реакциях синтеза сукцината [Хочачка, Сомеро, 1988; Larade, Storey, 2002].

Необходимо отметить, что восстановление малата до сукцината происходит с помощью сукцинатдегидрогеназного комплекса электрон-транспортной цепи (комплекс II). Во время прилива у моллюсков аэробный энергетический метаболизм осуществляется посредством цикла Кребса, с переносом электронов от сукцината на убихинон (CoQ) через комплекс II в электрон-транспортной цепи. Во время отлива у моллюсков включается анаэробный путь, когда перенос электронов осуществляется через родохинон на фумарат с образованием

сукцината [Tielens, van Hellemond, 1998]. Родонин является аналогом КоQ с более отрицательным потенциалом [Скулачев, 1989]. В тех случаях, когда недостаточно кислорода в окружающей среде, фумарат действует как акцептор электронов, образуя при этом сукцинат. Повышенный уровень сукцината во время анаэробноза позволяет митохондриям сохранять свою метаболическую активность до тех пор, пока кислород снова станет доступным [Vacchioschi, Principato, 2000].



Схематическое изображение метаболических путей использования гликогена и аспартата у морских моллюсков в условиях недостатка кислорода [Хочачка, Сомеро, 1988]

Необходимо отметить, что во время анаэробноза у морских моллюсков накопление лактата и сукцината приводит к снижению внутри- и внеклеточного pH [Ellington, 1983; Walsh et al., 1984]. Одним из механизмов избежания изменений в кислотном статусе ткани в организме моллюсков является ингибирование пируваткиназы [Demers, Guderley, 1994; Michaelidis et al., 1999]. Во время анаэробноза лактат превращается в пируват и, несмотря на высокую активность лактатдегидрогеназы во всех тканях моллюска, лактат анаэробно декарболируется в ацетил-КоА, который затем используется для синтеза липидов.

В тканях моллюсков отмечается повышение уровня жирных кислот [Michaelidis et al., 1999; Fokina et al., 2007]. Ключевой гликолитический фермент пируваткиназа играет важную роль при направлении пирувата в сторону биосинтеза жирных кислот. Путем фосфорилирования этот фермент превращается в менее активную форму в течение первых 12 ч аноксии. Изменения в кинетических свойствах пируваткиназы приводят к последовательному снижению скорости накопления анаэробных конечных продуктов (лактата и сукцината), тем самым ока-

зывая положительное влияние на кислотный статус ткани [Michaelidis et al., 1999].

Предполагается, что изменения значений pH при влиянии аноксийных условий также инициируют понижение скорости метаболизма, однако этому утверждению о сигнальной роли значений pH в снижении скорости общего метаболизма противоречат следующие факты. Во-первых, уровень pH во время воздействия аноксии снижается равномерно в течение длительного времени, тогда как переход в гипометаболическое состояние происходит за короткий промежуток времени после начала действия аноксии [Storey K., Storey J., 1990]. Во-вторых, морские моллюски используют механизм «наименьшего синтеза» кислот во время воздействия аноксии (то есть они в основном накапливают нейтральные и летучие конечные продукты, используя бикарбонаты раковины для создания буфера) [De Zwaan, 1977; Storey K., Storey J., 1990].

Вместе с тем показано, что низкие значения pH во время воздействия аноксии способствуют созданию определенного метаболического состояния, которое благоприятствует снижению скорости метаболизма [Busa, Nuccitelli, 1984]. Например, низкий уровень pH активирует распад ФЕП посредством реакции с участием ФЕП-карбоксилазы (а не с помощью пируваткиназы), и, следовательно, направляет гликолитический углерод в сторону реакции синтеза сукцината [Хочачка, Сомеро, 1988]. Более того, низкие значения pH могут влиять на протекание других процессов, таких как связывание ферментов с субклеточными структурными элементами, скорость ферментативных реакций, активность протеинкиназы относительно протеинфосфатазы, а также изменение стабильности белков [Storey, 1988; Hand, Hardewig, 1996; Schmidt, Kamp, 1996; Sokolova et al., 2000].

Помимо особенностей организации гликолитической системы и дикарбоновой части цикла Кребса, позволяющих функционировать в условиях отсутствия кислорода длительное время и достаточно эффективно [Громосова, Шапиро, 1984], к биохимическим механизмам адаптации моллюсков можно отнести большое содержание каротиноидов, являющихся аккумуляторами кислорода в клетке [Карнаухов, 1973].

Большинство процессов, затрачивающих энергию, в том числе процессов синтеза белка, подавляются у организмов при долгосрочном воздействии низких концентраций кислорода в окружающей среде. Вместе с тем известно, что некоторые специфические РНК транскрипты, наоборот, активируются под действием аноксии. Вероятно, они обеспечивают

синтез белков, способствующих выживанию моллюсков в неблагоприятных анаэробных условиях [Larade, Storey, 2002]. Активность примерно 10,6% перекрестно действующих генов (около 300 генов), предположительно, усиливается в два или более раз под влиянием аноксии. Они включают гены протеинкиназ и фосфатаз, факторов трансляции, антиоксидантных ферментов и ядерных рецепторов. В частности, гипоксия-индуцируемый транскрипционный фактор (HIF-1) служит посредником при усилении синтеза гликолитических ферментов, необходимых для повышения выхода ферментативного АТФ.

У *Littorea littorea* впервые обнаружены и исследованы гены *kvn* и *sarp-19*. Так, у продукта *kvn* гена N-концевая гидрофобная сигнальная последовательность направляет белки к эндоплазматическому ретикулуму, где они обрабатываются и секретируются к конечному месту назначения. Данный факт позволяет предположить, что белок KVN выполняет внеклеточную функцию. Он обладает рядом определенных последовательностей, таких как цистеиновые кластеры. Предполагается, что KVN является железо-серным белком, который связывает железо, и поэтому может относиться к семейству ферредоксинов. Его функция аналогична другим ферредоксинподобным белкам. По-видимому, он является посредником в электронпереносных реакциях во время действия аноксии или при возвращении организмов в исходные условия.

Продукт гена *sarp-19* – белок, синтезируемый в результате действия аноксии на моллюсков. Общая функция EF- домена данного белка – это связывание кальция, что в свою очередь стимулирует конформационные изменения, приводящие к активации (или инактивации) белков-мишеней. Функция белка SARP-19 при анаэробии может включать кальций-активируемый сигналинг или выделение кальция. Как уже отмечалось, переключение метаболизма у моллюсков с аэробного пути на анаэробный сопровождается растворением раковины с образованием бикарбоната кальция, который выполняет буферные функции.

Характерной реакцией у двустворчатых моллюсков на воздействие воздуха служит закрытие створок раковины, а у брюхоногих моллюсков – крышки отверстия в раковине. Таким образом, моллюски ограничивают себя от действия окружающей среды, что в свою очередь требует создание водного и осмотического баланса внутри организма. Закрывание раковины моллюсков вызывает существенное повышение уровня кальция во время анаэробии. Следовательно, повышенное количество кальцийсвязывающего белка (SARP-19) в организ-

ме моллюсков под действием аноксии способствует снижению уровня свободного кальция. В основном это происходит в условиях гипометаболического состояния организма, когда сокращаются расходы АТФ на перенос кальция через плазматическую мембрану [Storey, 2004].

Предполагается, что у многих организмов кислородным сенсором служит фермент пролилгидроксилаза, который модифицирует остаток пролина в кислородзависимом домене HIF-1, основного транскрипционного фактора, включенного в регуляцию транскрипции генов с помощью кислорода [Ivan et al., 2001; Jaakkola et al., 2001]. Данный кислородный сенсор встречается у большинства животных, однако вторичные мишени этого сенсора (HIF-1 или другие) значительно отличаются у животных, чувствительных к гипоксии и устойчивых к аноксии. Известно, что HIF-1 у чувствительных к гипоксии млекопитающих запускает различные компенсаторные реакции, в ходе которых увеличивается поступление кислорода в ткани и усиливаются гликолитические реакции. У животных, устойчивых к действию аноксии, наоборот, инициируется серия механизмов, способствующих подавлению скорости метаболизма, и обратимо останавливаются различные энергозависимые процессы. Следовательно, у животных, устойчивых к аноксии, в том числе у морских моллюсков, в опосредование экспрессии генов в ответ на недостаток кислорода включаются транскрипционные факторы, отличные от HIF-1 [Larade, Storey, 2002].

Уровень обмена веществ, и в частности энергетического метаболизма, определяет адаптивные возможности организма. Ключевым звеном, обуславливающим уровень биоэнергетики особи, служит количество поступающего в организм кислорода [Озернюк, 2003]. В литературе по биоэнергетике животных особое внимание уделяется использованию липидных и углеводных субстратов в качестве источников энергии [Громосова, Шапири, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988]. Известно, что в аэробных условиях морские моллюски используют в качестве источников энергии липиды, углеводы и аминокислоты. При аноксии углеводы становятся основным энергетическим субстратом, поскольку в ходе реакций гликолиза, а именно окисления фосфатов гексоз (образованных из глюкозы и гликогена) до фосфатов триоз, а также субстратного фосфорилирования, образуется АТФ [Larade, Storey, 2002]. У моллюсков наблюдается использование в качестве энергетических субстратов не только гликогена, но и белков, тогда как липиды еще не стали главным источником энергии [Хочачка, Сомеро, 1988; Шульман и др., 1993].

Вместе с тем у *Mytilus edulis* L. было показано, что липиды могут утилизироваться в анаэробных условиях через β -окисление с образованием ацетил-КоА [Громосова, Шапиро, 1984]. В исследованиях на беломорских мидиях [Фокина и др., 2006а, 2010] было показано снижение уровня триацилглицеринов (ТАГ) и эфиров холестерина под влиянием 12 и 24 ч аноксии, что свидетельствует о возможном использовании запасных липидов в качестве источников метаболической энергии или на синтез обычных для мидий энергетических субстратов углеводной/белковой природы. Причем участие запасных липидов в компенсаторной реакции беломорских мидий в ответ на действие краткосрочной аноксии зависит от этапа периода нереста (ЗВ или ЗС) [Фокина и др., 2006а]. Описанные выше колебания в составе запасных липидов характерны для ЗС мидий (этап резорбции остаточных половых продуктов). У ЗВ мидий (этап вымета гамет), наоборот, значительно повышается уровень ТАГ, что указывает, вероятно, на появление потребности альтернативного источника энергии, которым могут быть липиды [Васильева, Мещерякова, 2003; Фокина и др., 2006а]. Некоторые авторы связывают повышение уровня ТАГ у мидий в условиях недостатка кислорода (суточной аноксии) с явлением аутофагии в пищеварительных клетках [Hole et al., 1995].

Считается, что колебания в жидкостности (микровязкости) липидного бислоя влекут за собой изменения в проницаемости мембран и модификации активности встроенных в нее белков (ферментов, ионных каналов, рецепторов), что в свою очередь приводит к активации и развитию регуляторных реакций, направленных на адаптацию организма к неблагоприятным условиям окружающей среды [Лось, 2001; Los, Murata, 2004]. Следует отметить, что в некоторых работах, посвященных исследованию влияния аноксии на морских животных, отмечается снижение проницаемости мембран [Hochachka et al., 1996]. У беломорских мидий в ответ на действие краткосрочной аноксии отмечались изменения в основных показателях микровязкости липидного бислоя – холестерин/фосфолипиды и фосфатидилэтанолмин/фосфатидилхолин (ФЭА/ФХ) [Фокина и др., 2010], свидетельствующие об уплотнении мембран и, следовательно, о снижении их проницаемости [Еляков, Стоник, 1988; Gillis, Ballantyne, 1999a, b; Loque et al., 2000]. Высокий уровень холестерина и ФХ, которые стабилизируют липидный бислой, компенсировался у мидий повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые, как известно, оказывают разжижающее действие на мембраны [Крепс, 1981; Хочачка, Соме-

ро, 1988; Gillis, Ballantyne, 1999a, b]. В результате действия краткосрочной аноксии среди полиеновых кислот увеличивалась относительная доля n-6 кислот, которые благодаря особенностям своей структуры обеспечивают определенную прочность мембранам при неблагоприятном влиянии аноксии на мидий. Помимо полиенов обычного строения, важную роль в обеспечении целостности и стабильности липидного бислоя играют неметиленразделенные жирные кислоты (НМРЖК), которые, как известно, более устойчивы к окислению, что позволяет им в составе фосфолипидов значительно влиять на структуру липидного матрикса [Paradis, Ackman, 1977; Klingensmith, 1982; Жукова, 1992; Захарцев и др., 1998]. Отмеченные модификации концентраций НМРЖК и их биосинтетических предшественников у литоральных мидий свидетельствуют о возможном дополнительном синтезе НМРЖК [Фокина и др., 2010]. Предполагается, что необходимость в кислотах с необычной структурой появилась у прибрежных моллюсков в связи с падением уровня n-3 ПНЖК. Подобная обратная зависимость между НМРЖК и n-3 кислотами была ранее отмечена у морских моллюсков и другими авторами [Klingensmith, 1982; Жукова, 1992]. Такие изменения в составе жирных кислот способствуют стабилизации мембраны при сохранении необходимого уровня жидкостности за счет синтеза *de novo* НМРЖК моллюсками, и в таком случае они не зависят от внешних источников полиеновых кислот [Захарцев и др., 1998]. У субстратных мидий изменения в количестве моноеновых и НМРЖК были менее выражены, кроме того, у них наблюдалось повышенное содержание полиенов линоленового семейства (n-3 ПНЖК), которые, по-видимому, обеспечивают нормальное функционирование мембран при воздействии аноксии на моллюсков [Фокина et al., 2007; Фокина и др., 2010].

У литоральных и субстратных мидий в результате действия краткосрочной аноксии (12 и 24 ч) отмечались изменения в содержании минорных фосфолипидов мембран – фосфатидилинозитола (ФИ), лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и сфингомиелина (СФМ), а также жирных кислот (18:1n-9, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3), обладающих определенной физиологической активностью [Фокина и др., 2010]. В результате суточного влияния аноксии на литоральных и субстратных мидий заметно снижалось количество СФМ, который, как известно, через генетический аппарат клетки контролирует синтез ХС [Scheek et al., 1997], а понижение уровня ЛФХ у мидий с искусственных субстратов после влияния 12 ч аноксии связывается с его мембранно-

модулирующим эффектом [Проказова и др., 1998; Фокина и др., 2010].

При влиянии 12 и 24 ч аноксии на литоральных и субстратных мидий значительно повышался уровень арахидоновой 20:4n-6 кислоты. Отмеченные изменения в коэффициенте 18:2n-6/20:4n-6 свидетельствуют о высоком уровне метаболизма 20:4n-6 кислоты и ее биосинтетического предшественника – линолевой 18:2n-6 кислоты [Фокина и др., 2006б; Fokina et al., 2007]. Поскольку 20:4n-6 кислота используется для синтеза эйкозаноидов [Bell et al., 1986; Tocher, 2005], вероятно, ее усиленный обмен способствует выживанию моллюсков в неблагоприятных условиях аноксии. Помимо 20:4n-6 кислоты, у литоральных и субстратных мидий в результате влияния аноксии повышался уровень олеиновой 18:1n-9 кислоты [Fokina et al., 2007; Фокина и др., 2010]. Данный эффект может быть связан с увеличением активности ферментов, ответственных за синтез данной кислоты. Показано, что гены, кодирующие ферменты, которым для активации нужен кислород, могут регулироваться гипоксией. В частности, активность Δ9-десатуразы, которая катализирует реакцию образования моноеновых кислот (главным образом олеиновой 18:1n-9 кислоты), зависит от уровня кислорода в окружающей среде. Известно, что степень ненасыщенности жирных кислот, образованных в результате действия Δ9-десатуразы, влияет на физические свойства мембранных фосфолипидов. Более того, в организме животных метаболиты ПНЖК действуют как сигнальные молекулы. Изменение экспрессии мРНК 9-десатуразы, по-видимому, является ответом на недостаток кислорода как субстрата [David et al., 2005]. Снижение количества основных кислот линоленового семейства: 20:5n-3 и 22:6n-3 у литоральных мидий в результате влияния краткосрочной аноксии связывается с использованием этих кислот для синтеза эйкозаноидов или на энергетические нужды организма [Tocher, 2005; Freitas et al., 2002]. Более того, известно, что в анаэробных условиях мембраны клетки обладают слабой ферментативной активностью, а отличительной особенностью липидного состава таких мембран является небольшое количество стеринов и необычный состав жирных кислот, характеризующийся низким содержанием полиненасыщенных кислот, в то же время состав фосфолипидов не меняется [Кандюк, 2006]. У субстратных мидий, наоборот, отмечалось повышенное содержание 20:5n-3 и 22:6n-3 кислот, которые, как известно, имеют фитопланктонное происхождение [Ackman et al., 1974; Pollero et al., 1979; Zhukova, Aizdaicher, 1995; Ramos et al., 2003], что указывает на возможный их допол-

нительный синтез. Подобное явление, свидетельствующее о возможном синтезе ненасыщенных жирных кислот в условиях аноксии, было описано в литературе [Horst et al., 1970, 1974]. Установлено, что у морских прикрепленных беспозвоночных 20:5n-3 кислота наряду с другими макромолекулами играет важную роль в адапционном процессе [Ромашина, 1983; Шульман, Юнева, 1990], тогда как 22:6n-3 кислота у двусторчатых моллюсков в основном используется для получения метаболической энергии, а также участвует в регулировании мембранной жидкости [Freites et al., 2002].

Таким образом, анализ литературных и данных собственных исследований свидетельствует о том, что в ходе эволюции морские двусторчатые моллюски выработали комплекс биохимических адаптаций, которые позволяют им переживать неблагоприятное воздействие краткосрочной аноксии. Вследствие прикрепленного образа жизни биохимические адаптации у двусторчатых моллюсков более разнообразны и выражены в большей степени, чем у свободноживущих организмов, у которых в первую очередь развиты поведенческие и физиологические механизмы, позволяющие избежать кратковременных неблагоприятных воздействий окружающей среды. Данные литературы о биохимических адаптациях у моллюсков, приведенные в рассматриваемом обзоре, подтверждают имеющиеся предположения о том, что в действительности биохимическая адаптация часто является крайним средством, к которому организм прибегает, когда у него нет поведенческих или физиологических способов избежать неблагоприятного воздействия среды [Хочачка, Сомеро, 1988; Немова, Высоцкая, 2004]. Поскольку биохимическая адаптация – не легкий путь, часто организмам проще найти подходящую среду путем миграции, чем перестроить химизм клетки. В случае прикрепленных морских прибрежных двусторчатых моллюсков миграция к благоприятным условиям среды невозможна, поэтому у них хорошо развиты механизмы регуляции метаболизма, позволяющие им адаптироваться к постоянно изменяющейся прибрежной зоне моря, для которой характерны периодические осушения.

Работа выполнена при поддержке программы Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-3731.2010.4).

Литература

Алякринская И. О. Устойчивость к обсыханию водных моллюсков // Известия АН. Сер. биологическая. 2004. № 3. С. 362–374.

Васильева О. Б., Мещерякова О. В. Некоторые особенности липидного и углеводного обмена мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря в условиях краткосрочной гипоксии // Актуальные проблемы биологии и экологии: тез. докл. X молодежной науч. конф. (Сыктывкар, 15–17 апреля 2003 г.). Сыктывкар, 2003. С. 45–47.

Громосова С. А., Шапиро А. З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. 120с.

Еляков Г. Б., Стоник В. А. Стероиды морских организмов. М.: Наука, 1988. 207с.

Жукова Н. В. Неметиленразделенные жирные кислоты морских двустворчатых моллюсков: распределение по тканям и классам липидов // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 1992. Т. 28, № 4. С. 434–440.

Захарцев М. В., Науменко Н. В., Челомин В. П. Неметиленразделенные жирные кислоты в фосфолипидах мембран мидии *Crenomytilus grayanus* // Биология моря. 1998. Т. 24, № 3. С. 183–186.

Кандюк Р. П. Стерины моллюсков и их функциональная роль (обзор) // Гидробиол. журн. 2006. Т. 42, №1. С. 62–74.

Карнаухов В. Н. Функции каротиноидов в клетках животных. М.: Наука, 1973. 103 с.

Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л.: Наука, 1981. 339с.

Лось Д. А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 163–198.

Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215с.

Озернюк Н. Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов. М.: изд-во МГУ, 2003. 215с.

Проказова Н. В., Звездина Н. Д., Коротаева А. А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т. 63, вып. 1. С. 38–46.

Ромашина Н. А. Морские беспозвоночные как источник эйкозапентаеновой и других полиеновых кислот // Биология моря. 1983. № 3. С. 66–68.

Скулачев В. П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. М.: Высшая школа, 1989. 271с.

Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Изменение липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. при краткосрочной гипоксии // Северная Европа в XXI веке: природа, культура, экономика: мат-лы Междунар. конф. (Петрозаводск, 24–27 октября 2006 г.). Петрозаводск, 2006а. С. 129–131.

Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Рипатти П. О., Немова Н. Н. Влияние суточной гипоксии на уровень (n-3) и (n-6) жирных кислот у мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Биология – наука XXI века: Сб. тез. 10-й Пущинской школы-конференции молодых ученых (Пущино, 17–21 апреля 2006 г.). Пущино, 2006б. С. 98.

Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. 243 с.

Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1988. 586с.

Шульман Г. Е., Аболмасова Г. И., Столбов А. Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113, вып. 5. С. 576–586.

Шульман Г. Е., Юнева Т. В. Роль докозагексаеновой кислоты в адаптациях рыб (обзор) // Гидробиол. журн. 1990. Т. 26. С. 43–51.

Ackman R. G., Epstein S., Kelleher M. A composition of lipids and fatty acids of the ocean quahaug, *Arctica islandica*, from Nova Scotia and New Brunswick // J. Fish. Res. Bd. Canada. 1974. Vol. 31, N 11. P. 1803–1811.

Bacchiocchi S., Principato G. Mitochondrial contribution to metabolic changes in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* during anaerobiosis // J. Exp. Zool. 2000. Vol. 286. P. 107–113.

Bell M. V., Henderson R. J., Sargent J. R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish // Comp. Biochem. Physiol. B. 1986. Vol. 83, N 4. P. 711–719.

Brinkhoff W., Stockmann K., Grieshaber M. Natural occurrence of anaerobiosis in molluscs from intertidal habitats // Oecologia. 1983. Vol. 57. P. 151–155.

Brooks S.P.J., Storey K. B. Glycolytic controls in estivation and anoxia: a comparison of metabolic arrest in land and marine mollusks // Comp. Biochem. Physiol. A. 1997. Vol. 118. P. 1103–1114.

Burnett L. E., Stickle W. B. Physiological Responses to Hypoxia // Coastal Hypoxia: Consequences for Living Resources and Ecosystems. Coastal and Estuarine Studies. 2001. P. 101–114.

Busa W., Nuccitelli R. Metabolic regulation via intracellular pH // Am. J. Physiol. 1984. Vol. 246. P. 409–438.

David E., Tanguy A., Pichavant K., Moraga D. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions // FEBS Journal. 2005. Vol. 272. P. 5635–5652.

De Zwaan A. Anaerobic energy metabolism in bivalve mollusks // Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 1977. Vol. 15. P. 103–187.

De Zwaan A., Kluytmans J. H., Zandee D. I. Facultative anaerobiosis in molluscs // Biochem. Soc. Symp. 1976. Vol. 41. P. 133–168.

De Zwaan A., Putzer V. Metabolic adaptations of intertidal invertebrates to environmental hypoxia (a comparison of environmental anoxia to exercise anoxia) // Symp. Soc. Exp. Biol. 1985. Vol. 39. P. 33–62.

Demers A., Guderley H. Acclimatization to intertidal conditions modifies the physiological response to prolonged air exposure in *Mytilus edulis* // Marine biology. 1994. Vol. 118. P. 115–122.

Ellington W. The extent of intracellular acidification during anoxia in the catch muscles of two bivalve mollusks // J. Exp. Zool. 1983. Vol. 227. P. 313–317.

Fandrey J. Hypoxia-inducible gene expression // Respir Physiol. 1995. Vol. 101, N 1. P. 1–10.

Fokina N., Nemova N., Nefedova Z. Fatty acid composition of mussels *Mytilus edulis* under short-term anoxia // Chemistry and physics of lipids. Abstracts from 48th International Conference on the Bioscience of Lipids (Turku, Finland, 4–8 sept. 2007). Turku, 2007. Vol. 149. P. 60.

- Freites L., Fernandez-Reiriz M.J., Labarta U. Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 2002. N 2. P. 453–461.
- Gabbott P.A. Developmental and seasonal metabolic activities in marine mollusks // *Mollusca*. Vol. 2. Environmental biochemistry and physiology. Academic Press Inc. 1983. P. 165–217.
- Gade G. Energy metabolism of arthropods and mollusks during environmental and functional anaerobiosis // *J. Exp. Zool.* 1983. Vol. 228, N 3. P. 415–429.
- Gillis T.E., Ballantyne J.S. Mitochondrial membrane composition of two arctic marine Bivalve mollusks, *Serripes groenlandicus* and *Mya truncata* // *Lipids*. 1999 a. Vol. 34, N 1. P. 53–57.
- Gillis T.E., Ballantyne J.S. Influences of subzero thermal acclimation on mitochondrial membrane composition of temperate zone marine bivalve mollusks // *Lipids*. 1999 b. Vol. 34, N 1. P. 59–66.
- Hand S., Hardewig I. Down regulation of cellular metabolism during environmental stress: mechanisms and implications // *Annu. Rev. Physiol.* 1996. Vol. 58. P. 539–563.
- Hochachka P.W., Bick L.T., Doll C.J., Land S.C. Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93. P. 9493–9498.
- Hole L.M., Moore M.N., Bellamy D. Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1995. Vol. 122. P. 173–178.
- Horst D. J. van der. Investigation of the synthesis and distribution of fatty acids in the lipids of the snail *Cepaea nemoralis* (L.). I. The fatty acid composition of the total lipids // *Neth. J. Zool.* 1970. Vol. 20. P. 433–444.
- Horst D. J. van der, Oudejans R. C. H. M., Meijers J.A., Testerink G.J. Fatty acid metabolism in hibernating *Cepaea nemoralis* (Mollusca: Pulmonata) // *J. Comp. Physiol.* 1974. Vol. 91. P. 247–256.
- Ivan M., Kondo K., Yang H. et al. HIF- α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing // *Science*. 2001. Vol. 292. P. 464–468.
- Jaakkola P., Mole D., Tian Y.M. et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation // *Science*. 2001. Vol. 292. P. 468–472.
- Kapper M.A., Stickle W.B. Metabolic responses of the estuarine gastropod *Thais haemastoma* to hypoxia // *Physiol. Zool.* 1987. Vol. 60. P. 159–173.
- Klingensmith J.S. Distribution of methylene and nonmethylene-interrupted dienoic fatty acids in polar lipids and triacylglycerols of selected tissues of the hardshell clam (*Mercenaria mercenaria*) // *Lipids*. 1982. Vol. 17. P. 976–981.
- Larade K., Nimigan A., Storey K. Transcription pattern of ribosomal protein L26 during anoxia exposure in *Littorina littorea* // *J. Exp. Zool.* 2001. Vol. 290. P. 759–768.
- Larade K., Storey K.B. A profile of the metabolic responses to anoxia in marine invertebrates // *Cell and molecular responses to stress*. Vol. 3. Sensing, signaling and cell adaptation. 2002. 346 p.
- Logue J.A., de Vries A.L., Fodor E., Cossins A.R. Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure // *J. Exp. Biol.* 2000. Vol. 203. P. 2105–2115.
- Los D.A., Murata N. Membrane fluidity and its role in the perception of environmental signals // *Biochim. Biophys. Acta*. 2004. Vol. 1666, N 1–2. P. 142–157.
- Michaelidis B., Pallidou A., Vakouftsi P. Effects of anoxia on the extra- and intracellular acid-base status in the land snail *Helix lucorum* (L.): lack of evidence for a relationship between pyruvate kinase down-regulation and acid-base status // *J. Exp. Biol.* 1999. Vol. 202. P. 1667–1675.
- Newell R.I.E. Species profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (North and Mid-Atlantic). Blue mussel // *Biological Report 82* (11.102) TR EL-82-4. 1989. 25 p.
- Ortmann C., Grieshaber M.K. Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea* // *J. Exp. Biol.* 2003. Vol. 206. P. 4167–4178.
- Paradis M., Ackman R.G. Potential for employing the distribution of anomalous non-methylene-interrupted dienoic fatty acids in several marine invertebrates as part of food web studies // *Lipids*. 1977. Vol. 12, N 2. P. 170–176.
- Pollero R.T., Remaria E., Brenner R.R. Seasonal changes of the lipids of the mollusc *Chlamys tehuelcha* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1979. Vol. A64, N 2. P. 257–263.
- Ramos C.S., Parrish C.C., Quibuyen T.A.O., Abrajano T.A. Molecular and carbon isotopic variations in lipids in rapidly settling particles during a spring phytoplankton bloom // *Organic geochemistry*. 2003. Vol. 34. P. 195–207.
- Scheek S., Brown M.S., Goldstein J.L. Sphingomyelin depletion in cultured cells blocks proteolysis of sterol regulatory element binding proteins at site 1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 11179–11183.
- Schmidt H., Kamp G. The Pasteur effect in facultative anaerobic metazoan // *Experientia*. 1996. Vol. 52. P. 440–448.
- Sokolova I., Bock C., Portner H.-O. Resistance to freshwater exposure in White Sea *Littorina* spp. II: Acid-base regulation // *J. Comp. Physiol. B*. 2000. Vol. 170. P. 105–115.
- Storey K. Suspended animation: the molecular basis of metabolic depression // *Can. J. Zool.* 1988. Vol. 66. P. 124–131.
- Storey K.B. Gene regulation in physiological stress // *International congress series*. 2004. Vol. 1275. P. 1–13.
- Storey K., Storey J. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation and estivation // *Quart. Rev. Biol.* 1990. Vol. 65. P. 145–174.
- Sukhotin A.A., Portner H.-O. Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea // *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.* 2001. Vol. 257. P. 53–72.
- Tielens A., van Hellemond J. The electron transport chain in anaerobically functioning eukaryotes // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. Vol. 1365. P. 71–78.

Tocher D. R Metabolism and functions of lipids and fatty acids in Teleost fish // Reviews in fisheries science. 2005. Vol. 11, N 2. P. 107–184.

Walsh P., McDonald D., Booth C. Acid-base balance in the sea mussel, *Mytilus edulis*. II. Effects of hypoxia and air-exposure on intracellular acid-base status // Mar. Biol. Lett. 1984. Vol. 5. P. 359–369.

Wu R. S. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses // Mar. Pollut. Bull. 2002. Vol. 45, N 1–12. P. 35–45.

Zhukova N. V., Aizdaicher N. A. Fatty acid composition of 15 species of microalgae // Phytochemistry. 1995. Vol. 39. P. 351–356.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фокина Наталья Николаевна

научный сотрудник, к.б.н.
ИБ КарНЦ РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: fokinann@gmail.com
тел. (8142) 571879

Fokina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: fokinann@gmail.com
tel. (8142) 571879

Нефедова Зинаида Анатольевна

ведущий научный сотрудник, к.б.н.
ИБ КарНЦ РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: znefed@krc.karelia.ru
тел. (8142) 571879

Nefedova, Zinaida

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: znefed@krc.karelia.ru
tel. (8142) 571879

Немова Нина Николаевна

директор ИБ КарНЦ РАН, зав. лаб. экологической
биохимии, д.б.н., проф., чл.-корр. РАН
ИБ КарНЦ РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 783615

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 783615