



УДК 594.1:577.121:612.391

Т. И. Андреевко, аспирант, **А. А. Солдатов**, докт. биол. наук, зав. отделом,
И. В. Головина, канд. биол. наук, науч. сотр.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,
Севастополь, Украина

**ОСОБЕННОСТИ РЕОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕВОГО МЕТАБОЛИЗМА
У ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA INAEQUIVALVIS* (BRUGUIERE, 1789)
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ**

В экспериментальных условиях исследовано влияние голодания на направленность метаболических процессов в тканях двустворчатого моллюска-вселенца *Anadara inaequivalvis* (Bruguiere, 1789). Длительность эксперимента – 18 сут. Показано, что на начальных этапах голодания (6 сут.) анадара использует ресурс тканевого лактата в направлении реакций окислительного декарбоксилирования. Об этом свидетельствует значительный рост активности лактатдегидрогеназы на фоне снижения содержания лактата и повышения уровня пирувата в тканях. Процесс адаптации анадары к голоданию идет по пути использования резерва аминокислот в процессах биосинтеза белка. Это отражает уменьшение уровня аминного азота во всех исследованных тканях и рост содержания белка при отсутствии выраженных изменений концентрации мочевины в органах моллюска. Использование аминокислот, как источника энергии тканями анадары в условиях голодания происходит в направлении фумаратредуктазной и сукцинаттиокиназной реакций, которые позволяют дополнительно получать гликолитические метаболиты. Об этом свидетельствует рост активностей аланин- и аспартаминотрансфераз в ряде тканей. Донором аминокислот выступает гепатопанкреас. В отличие от других тканей, депривация пищи вызывает в нем значительный рост активности катепсина D.

Ключевые слова: голодание, *Anadara inaequivalvis*, тканевой метаболизм, белки, аминокислоты, глюкоза, активности ферментов

Голодание – естественное состояние для большинства гидробионтов. Оно вызывает направленную реорганизацию метаболизма специфическую для отдельных систематических групп организмов. У костистых рыб в условиях сравнительно не продолжительного отсутствия пищи (5 – 15 дней) отмечено снижение пластических ресурсов большинства тканей (белки, аминокислоты) [14, 23, 24, 25], уменьшение значений индекса РНК/ДНК [7, 12, 20, 26], подавление активности лизосомальных протеаз [13, 14] и трансаминаз [19]. При этом происходит значительное сокращение энергетических ресурсов тканей (глюкозы,

гликогена, жиров) [10, 12, 15, 25] и ограничение анаэробных процессов (гликолиз) [6, 26].

Более устойчивыми к голоданию считаются представители ракообразных. Их метаболизм ориентирован преимущественно на использование белков. В условиях 2-недельного голодания у них отмечается понижение общего и основного обмена [9, 27] и усиление гликолитических процессов в тканях [9]. В начале активно используются углеводные ресурсы и триацилглицериды [21, 30]. Снижение же содержания белка в тканях наблюдается только в условиях длительного голодания (более 30 сут.) [29].

Близкими к ракообразным по специфике организации метаболических процессов являются моллюски. Однако информация о влиянии голодания на обменные процессы в тканях данной систематической группы организмов ограничена. Установлено снижение уровня глюкозы и гликогена в гемолимфе [8], уменьшение частоты сердечных сокращений [22]. Особый интерес представляют моллюски-фильтраторы, у которых голодание не может быть полным, а только частичным, то есть недостаточным по калорийности и качественному составу получаемой пищи. Возможна ли адаптивная реорганизация метаболизма у данной группы организмов в условиях полного голодания не известно. Изучению данного вопроса и посвящена настоящая работа.

Материал и методы. В работе использовали особей *A. inaequalvis* (далее анадара) с длиной раковины 30 – 33 мм. Моллюсков собирали с коллекторных установок рыбодобывающего предприятия “Дон-Комп” (бухта Стрелецкая, Севастополь). Транспортировку животных осуществляли в контейнере насыпью без воды в течение 1 ч от момента сбора. Перед проведением исследований моллюсков выдерживали в аквариумах с проточной морской водой в течение 2 – 3 сут. для снятия состояния стресса.

Морскую воду для эксперимента доставляли из 10-мильной зоны и подвергали термической обработке при 80 – 85°C в течение 4 ч. После этого её пропускали через мембранный фильтр (Synpro-2,5) под вакуумом. Экспериментальная часть работы выполнена на специально разработанном стенде. Он позволял поддерживать заданную температуру и концентрацию кислорода в воде. В камеру объемом 13.5 л наливали заранее подготовленную воду и помещали 30 особей анадары. Контроль концентрации кислорода в воде осуществляли потенциометрически. В течение опыта она не снижалась ниже 7 мг л⁻¹. В работе применяли оксиметр ELWRO N 5123 (Польша). Температуру воды поддерживали на уровне 20±1°C.

Фотопериод – 12 ч день : 12 ч ночь. Экспозиция – 18 сут. Пробы тканей отбирали на 1, 6 и 18-е сут. эксперимента. Ежедневно производили полную смену воды для удаления метаболитов.

Препарирование тканей проводили при температуре 0 – 4°C. Полученные образцы гепатопанкреаса, жабр и ноги упаковывали в пищевую фольгу и хранили в жидком азоте. В последующем навески тканей гомогенизировали с использованием в качестве трансформирующей среды 1.15 % KCl. Для получения супернатанта гомогенаты подвергали центрифугированию при 6000 об мин⁻¹ в течение 15 мин. В работе использовали рефрижераторную центрифугу К-23D (Германия). Все процедуры выполняли при 0 – 4°C.

В тканях моллюсков оценивали активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ) по скорости окисления НАДН₂ [2], аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) – динитрофенилгидрозиновым методом [1]. Активность γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТП) оценивали по реакции с L- γ -глутамил-p-нитроанилидом, а катепсина D – по кислоторастворимым продуктам ферментативного гидролиза гемоглобина [1]. Все измерения выполняли при 25.0±0.5°C. Одновременно определяли содержание в тканях белка по методу Лоури, аминного азота по реакции с нингидрином и мочевины по реакции с диацетилмонооксимом [1]. Концентрацию глюкозы в тканях контролировали при помощи глюкозидазного метода, лактата – ферментативным методом по скорости восстановления НАДН₂, пирувата – по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [1]. Использовались стандартные наборы реактивов: «Simco, Ltd» (при определении активностей АлАТ и АсАТ), ООО НПП «Филисит диагностика» (при определении активности γ -ГТП и содержания глюкозы) и «Lachema» (при определении содержания мочевины и лактата).

Статистическая обработка и графическое оформление полученных результатов

выполнены с применением стандартного пакета Grapher (версия 1.25). Результаты представлены в виде $\bar{x} \pm S_x$. Достоверность различий оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. О нормальности распределения судили по сопоставлению абсолютных величин средней арифметической и моды.

Результаты. Изменение активностей ферментов, содержания питательных субстратов и метаболитов у анадары в условиях экспе-

риментального голодания имело выраженную тканевую специфику.

Гепатопанкреас. Содержание глюкозы в данном органе в течение первых 6 сут. голодания не изменялось (табл. 1). Однако затем уровень этого соединения в гепатопанкреасе понижался на 40.0 % ($p < 0.01$). Это происходило на фоне уменьшения содержания лактата в ткани на 32.2 %. При этом различия не были статистически выражены в виду существенной вариабельности полученных значений.

Табл. 1 Содержание глюкозы и ряда углеводных метаболитов в тканях анадары в условиях экспериментального голодания

Table 1 Glucose content and some carbohydrate metabolites in *Anadara inaequalvis* tissues under experimental starvation

Примечание: n – число особей

Органы моллюска	n	Показатели		
		Глюкоза, нмоль мг ⁻¹	Лактат, нмоль мг ⁻¹	Пируват, нмоль мг ⁻¹
Гепатопанкреас				
Контроль	10	11.4±0.60	10.2±2.05	1.07±0.20
Голодание 6 сут.	10	12.1±1.00	8.30±1.31	1.79±0.31
Голодание 18 сут.	6	7.21±1.13	6.92±1.13	0.90±0.15
Жабры				
Контроль	10	3.80±0.65	6.73±1.28	0.69±0.09
Голодание 6 сут.	10	3.31±0.87	5.87±0.93	1.25±0.21
Голодание 18 сут.	6	0.52±0.23	3.79±0.75	1.43±0.26
Нога				
Контроль	10	1.55±0.59	2.86±0.42	3.94±0.11
Голодание 6 сут.	10	1.52±0.48	2.02±0.29	0.75±0.05
Голодание 18 сут.	6	1.03±0.14	1.85±0.14	1.00±0.07

Уровень пирувата, напротив, в первые 6 суток голодания повышался на 67.3 % ($p < 0.05$), а затем возвращался к исходным величинам – 0.9 – 1.1 нмоль мг⁻¹. Динамика содержания углеводных субстратов и метаболитов в ткани гепатопанкреаса совпадала с выраженными изменениями активностей ЛДГ и МДГ (рис. 1). Активность ЛДГ в первые 6 сут. эксперимента повышалась почти в 4 раза ($p < 0.05$) и в последующем сохранялась на данном уровне, тогда как активность МДГ устойчиво понижалась на 54 – 68 % ($p < 0.01$) относительно исходных значений.

Содержание белка в гепатопанкреасе, несмотря на голодание, претерпевало явное

увеличение (табл. 2). Общий прирост его в течение эксперимента составил почти 40.0 % ($p < 0.01$). Это происходило на фоне уменьшения уровня свободных аминокислот и мочевины в органе соответственно на 41.0 % ($p < 0.01$) и 27.7 % ($p < 0.05$). Изменение активностей АлАТ и АсАт было слабо выражено (рис. 2). Небольшой рост был выявлен только относительно АсАТ – 17.7 % ($p < 0.05$). При этом происходило явное подавление активности γ -ГТП на 33.1 % ($p < 0.05$) (рис. 3). Параллельно существенно возрастала активность лизосомальных ферментов. На 18-е сутки эксперимента активность катепсина D была в 3.5 раза выше ($p < 0.01$), чем в начале опыта.

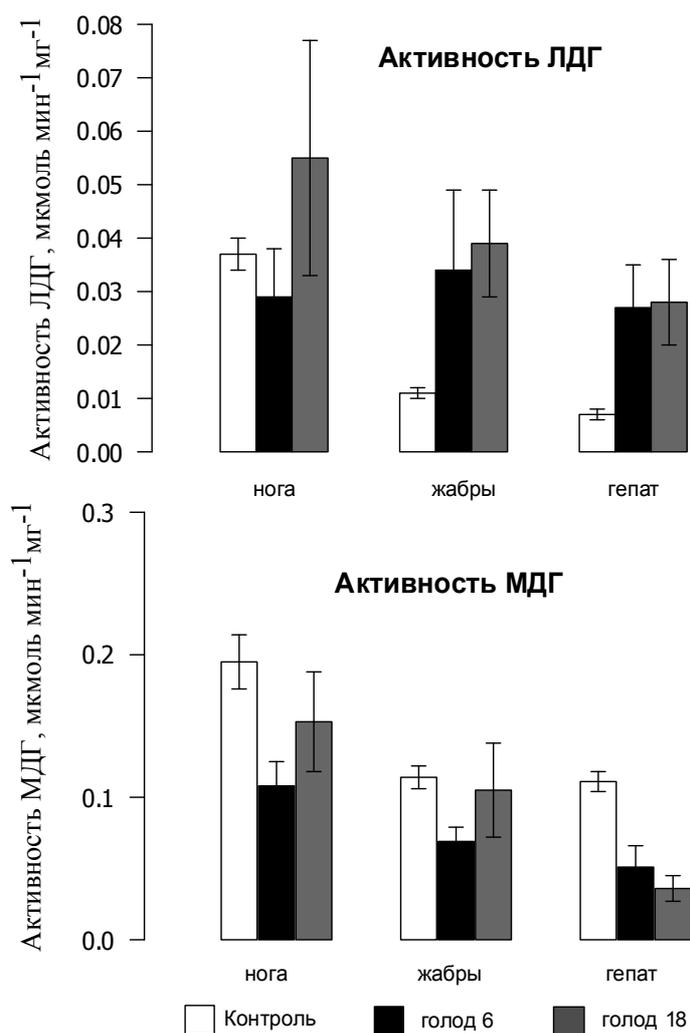


Рис. 1 Активности лактат- и малатдегидрогеназ (ЛДГ, МДГ) в тканях анадары в условиях экспериментального голодания
Fig. 1 Lactate and malate dehydrogenase activities in *Anadara inaequalis* tissues under experimental starvation

Жабры. Содержание глюкозы в жабрах было в 3.0 раза ниже ($p < 0.001$), чем в гепатопанкреасе (табл. 1). Динамика изменения уровня данного соединения в ходе экспериментального голодания совпадала с отмеченной для гепатопанкреаса, но была более выражена. Различие между уровнем глюкозы в ткани жабр в начале и конце опыта (18-е сут.) составило 7.3 раза ($p < 0.001$).

Голодание вызывало в жабрах также снижение содержания лактата и рост уровня пирувата соответственно на 43.7 % и в 2.1 раза ($p < 0.05$). Отмеченные изменения происходило на фоне роста активности ЛДГ в 3.0 – 3.5 раза ($p < 0.05$) (рис. 1). Динамика активности МДГ была более сложной. В начале она понижалась на 23.1 % ($p < 0.01$), а затем восстанавливалась до исходных значений.

Табл. 2 Содержание белка и ряда белковых метаболитов в тканях анадары в условиях экспериментального голодания

Table 2 Protein content and some protein metabolites in *Anadara inaequalis* tissues under experimental starvation

Органы моллюска	n	Показатели		
		Белок, мкг мг ⁻¹	Аминокислоты, мкг мг ⁻¹	Мочевина, нмоль мг ⁻¹
Гепатопанкреас				
Контроль	20	102.5±2.0	0.598±0.024	35.6±3.4
Голодание 6 сут.	10	143.5±12.5	0.285±0.020	28.4±2.3
Голодание 18 сут.	8	142.7±9.8	0.353±0.065	26.1±4.0
Жабры				
Контроль	20	59.5±2.0	0.378±0.014	7.81±1.12
Голодание 6 сут.	10	46.9±4.0	0.193±0.013	11.8±4.15
Голодание 18 сут.	8	47.2±2.8	0.199±0.026	10.3±2.89
Нога				
Контроль	20	31.9±1.0	0.102±0.003	2.65±0.43
Голодание 6 сут.	10	38.7±1.2	0.068±0.003	2.68±0.24
Голодание 18 сут.	8	42.3±0.4	0.089±0.007	2.66±0.47

Примечание: n – число особей

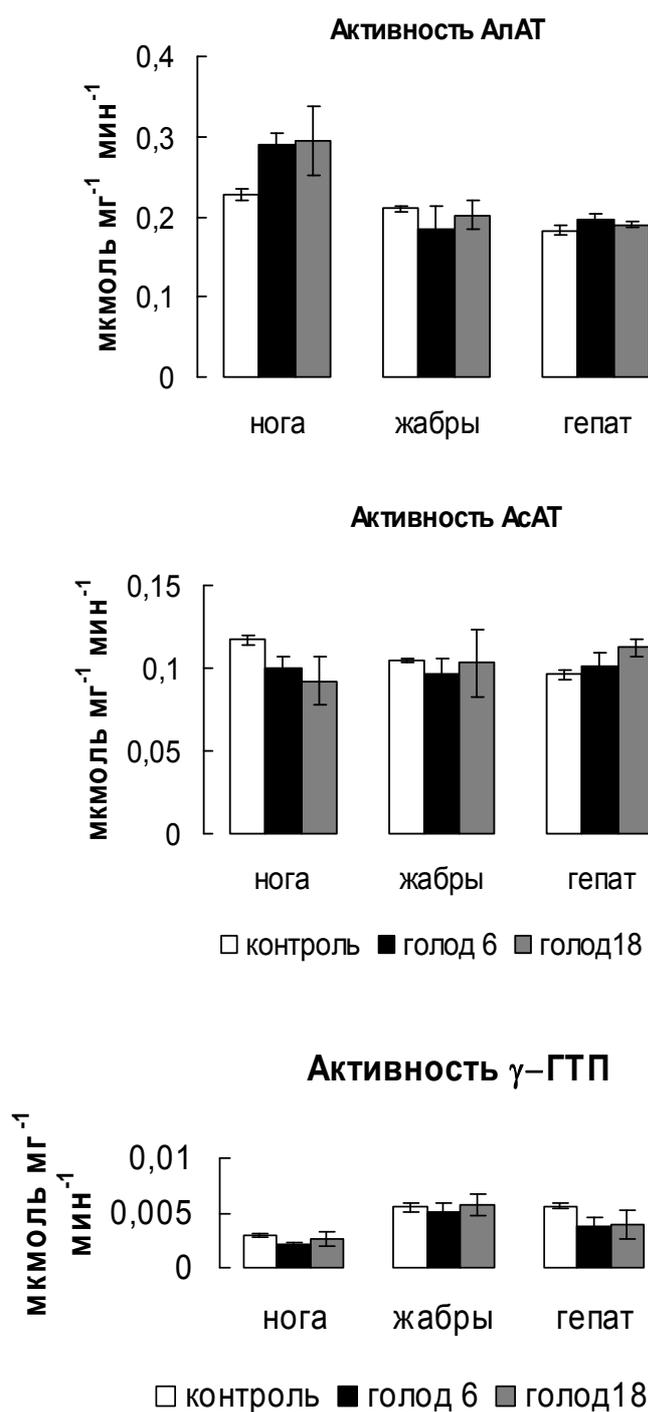


Рис. 3 Активность γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТП) в тканях анадары в условиях экспериментального голодания

Fig. 3 Activity of γ -glutamyl transferase in *Anadara inaequalis* tissues under experimental starvation

Рис. 2 Активности аминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) в тканях анадары в условиях экспериментального голодания

Fig. 2 Alanine and aspartate transaminases activities in *Anadara inaequalis* tissues under experimental starvation

Изменение содержания белка и его метаболитов в жабрах анадары в ходе экспериментального голодания имело иную динамику в сравнении с гепато-панкреасом. На 6-е сут. эксперимента уровень белка понижался на 21.2 % ($p < 0.01$) и затем не претерпевал статистически значимых изменений (табл. 2). Одновременно в органе уменьшалось содержание аминного азота на 48.9 % ($p < 0.001$). Это происходило на фоне тенденции роста уровня мочевины. Активности АлАТ, АсАТ, γ -ГТП и катепсина D в течение опыта не изменялись (рис. 2, 3, 4).

Нога. Голодание также вызывало понижение содержания глюкозы в ноге анадары, как и других тканях (табл. 1). Это происходило на 18-е сут. эксперимента и составило 33.5 %. Ему предшествовало уменьшение уровня лактата и пирувата, которое отмечали на 6-е сут. наблюдений. В сравнении с исходным состоянием различия достигали 35.3 и 74.6 % ($p < 0.001$) соответственно. Динамика изменения активностей ЛДГ и МДГ, как и в отношении жабр и гепато-панкреаса, была разнонаправленной (рис. 1). Активность ЛДГ повышалась на 61.8 % (18-е сут.), а МДГ понижалась на 44.6 % ($p < 0.01$) (6-е сут.) с последующим восстановлением до исходного уровня.

Уровень белка в ходе экспериментального голодания в ноге анадары повышался на 32.6 % ($p < 0.001$), что совпадало с данными, полученными для гепато-панкреаса (табл. 2).

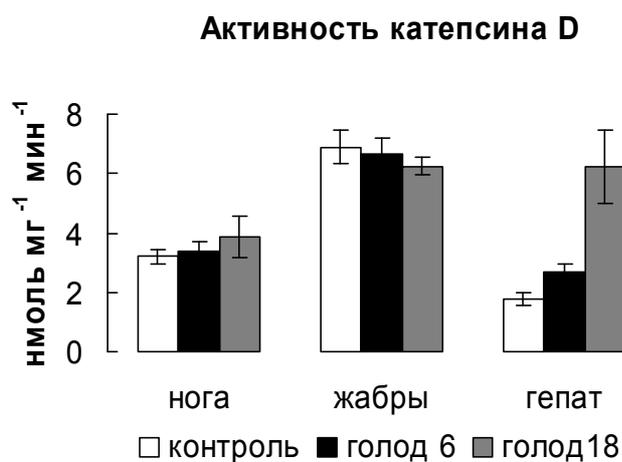
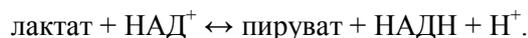


Рис. 4 Активность катепсина D в тканях анадары в условиях экспериментального голодания
Fig.4 Activity of cathepsin D in *Anadara inaequalis* tissues under experimental starvation

Содержание же аминного азота при этом понижалось на 33.4 % ($p < 0.001$), а мочевины не изменялось, оставаясь на уровне исходных величин. Изменение активностей АлАТ и АсАТ в течение опыта не совпадало (рис. 2). Активность АлАТ повышалась на 27.3 % ($p < 0.001$), а АсАТ, напротив, понижалась на 14.5 % ($p < 0.05$). Эти изменения выявлялись уже на 6-е сут. эксперимента и наблюдались на фоне подавления активности γ -ГТП. В сравнении с исходным состоянием моллюска на 6-е сут. голодания активность γ -ГТП была на 27.6 % ($p < 0.05$) ниже (рис. 3). К концу эксперимента она оказалась близкой к исходному состоянию. В отличие от гепатопанкреаса активность катепсина D в ноге анадары не изменялась на протяжении опыта.

Обсуждение. Как показали результаты настоящих исследований, во всех образцах тканей анадары голодание вызывало значительный рост активности ЛДГ. Причём это происходило на фоне понижения содержания лактата и роста уровня пирувата. Это совпадает с данными, полученными для *Anabas scapens* (Cuvier) [28]. Такое соотношение процессов свидетельствует о том, что ЛДГ катализирует пре-

имущественно прямую реакцию окисления лактата в пируват:



Использование же образующегося пирувата тканями в дальнейшем может осуществляться по двум основным путям [5]:

- реакциям глюконеогенеза с последующим образованием глюкозы и гликогена;
- реакциям окислительного декарбоксилирования – аэробный ресинтез АТФ.

Следует отметить, что активность МДГ во всех исследованных тканях подавлялась. Это означает, что реакции глюконеогенеза были мало эффективны, а ресурс пирувата использовался в направлении реакций окислительного декарбоксилирования. Эти процессы реализовались на начальных этапах голодания, то есть организм моллюска покрывал дефицит питательных субстратов за счёт ресурса тканевого лактата. Известно, что анадара в сравнении с другими видами двустворок, отличается повышенным тканевым содержанием данного соединения [4]. Это позволяет ей при отсутствии пищи не использовать продолжительный период времени организменный и тканевый ресурсы углеводов. В настоящих экспериментах понижение содержания уровня глюкозы в тканях анадары отмечали только на 3-ей неделе голодания. При этом в гепатопанкреасе и ноге оно не превышало 40 %.

Достаточно неожиданным был рост содержания белка в ноге и гепатопанкреасе моллюсков в условиях экспериментального голодания. Опубликованные материалы не дают однозначного ответа по данному вопросу. В ряде работ также отмечается увеличение белковых ресурсов в тканях гидробионтов, но только на начальных этапах голодания [11, 19]. Это совпадает с настоящими результатами. У анадары повышение уровня белка в тканях происходило в течение первых 6-ти сут. эксперимента.

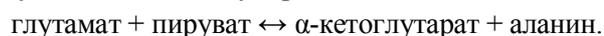
В дальнейшем изменения не были выражены. Большинство же работ, исследующих влияние депривации пищи на белковый метаболизм, подчеркивают преобладание белкового катаболизма у гидробионтов в условиях голода [14, 23, 24, 25].

Известно, что стресс-синдром является первой стадией адаптации организма к экстремальным воздействиям, в том числе к отсутствию пищи [3]. В ответ на действие стрессорных факторов концентрация в плазме некоторых белков, которые ещё называют белками острой фазы, увеличивается и, следовательно, их синтез является составной частью метаболического ответа на стресс [3]. Так, некоторые авторы отмечают увеличение количества эритроцитов и содержания гемоглобина в начальный период голодания гидробионтов [6, 18]. По-видимому, депривация пищи и приводила к развитию подобных процессов в тканях моллюсков, но они реализовались не на всех уровнях. Как уже отмечалось, в жабрах анадары содержание белка несколько понижалось.

Процесс адаптации моллюска к голоданию, по-видимому, шел и по пути активного использования аминокислот, как потенциального источника энергии. Содержание аминного азота во всех исследованных органах понижалось. При этом уровень мочевины в тканях не изменялся, а в некоторых случаях уменьшался (гепатопанкреас). Это означает, что снижение тканевого пула аминокислот не было связано с процессами дезаминирования. Донором аминокислот, вероятно, выступает гепатопанкреас, так как только в этом органе отмечался существенный рост активности катепсина D. Известно, что аминокислоты могут быть использованы в углеводном обмене, а также при синтезе протеинов острой фазы. Такой механизм рассматривается в работе ряда авторов [16, 17].

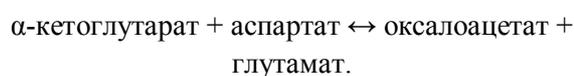
В нашем случае происходил рост активностей АлАТ в ноге и АсАТ в гепатопанкреасе, который наблюдался в первые 6 сут.

голодания. Известно, что АлАТ катализирует сукциниатиокиназную реакцию:



При этом, по-видимому, реакция протекает в обратном направлении. Необходимо учесть, что реакции катализируемые трансаминазами, легко обратимы, так как их константы равновесия близки к единице. Об этом свидетельствует также понижение активности γ -ГТП, которая обеспечивает отщепление глутаминовой кислоты от пептидов и способствует тем самым превращению глутамата в α -кетоглутарат. Это означает, что в условиях экспериментального голодания АлАТ, используя ресурс аланина, может поддерживать процессы окислительного декарбоксилирования и как следствие аэробного ресинтеза АТФ в ткани.

Рост активности АсАТ, также может быть направлен на продукцию субстратов, усваиваемых в гликолитических процессах. Данный фермент катализирует фумаратредуктазную реакцию, направленную на продукцию оксалоацетата:



Последний может быть трансформирован в двух направлениях:

- при участии фосфоенолпируваткарбоксикиназы он превращается в фосфоенолпируват и задействуется в гликолитических процессах, то есть в направлении реакций окислительного декарбоксилирования;
- при участии МДГ превращается в малат и затем используется митохондриями.

В настоящих исследованиях активность МДГ подавлялась во всех тканях моллюска. Это означает, что оксалоацетат был задействован преимущественно в гликолитических процессах.

Таким образом, на начальных этапах голодания (6 сут.) в тканях анадары развивается группа реакций, задействующих тканевые

ресурсы лактата и аминокислот в процессах окислительного декарбоксилирования. Это отодвигает использование углеводных резервов организма на более поздние этапы голода-

ния. Предполагаемая метаболическая схема рассмотренных выше процессов представлена на рис. 5.

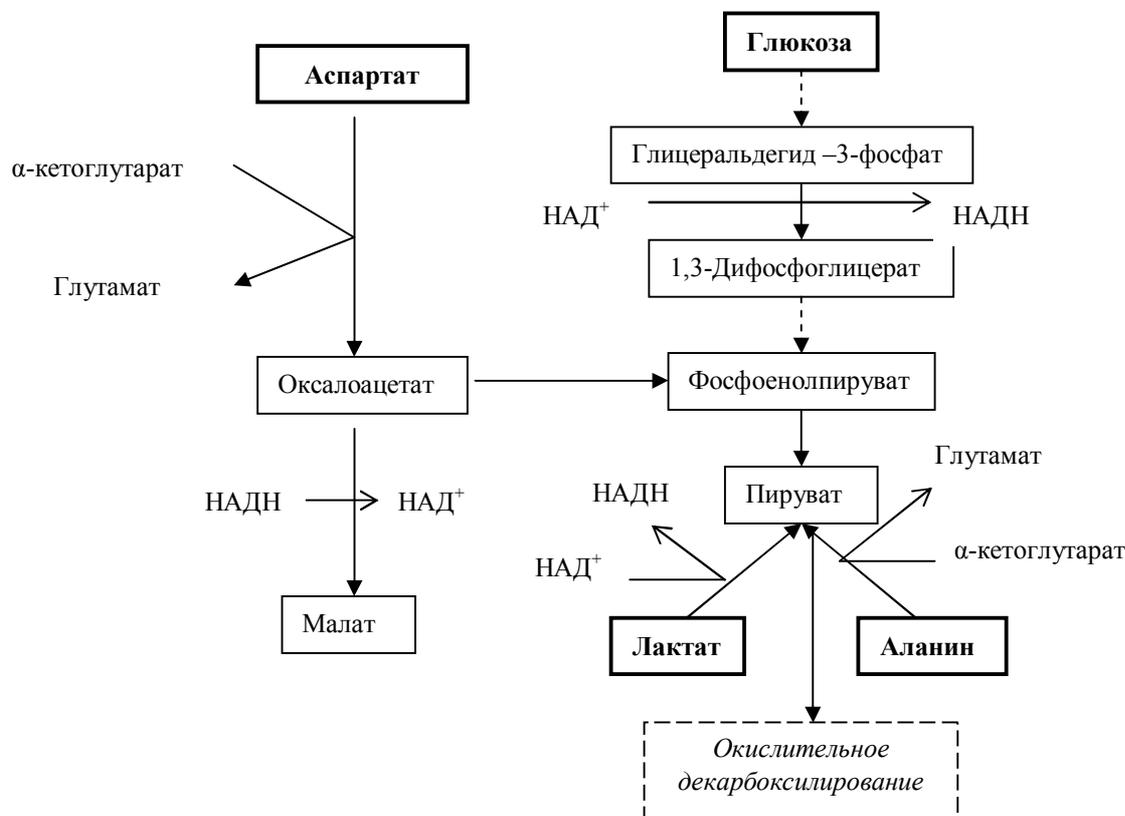


Рис. 5 Предполагаемая метаболическая схема процессов реализуемых в тканях *Anadara inaequalvis* Br. в условиях экспериментального голодания

Fig. 5 The prospective metabolic processes in *Anadara inaequalvis* Br. tissues under experimental starvation conditions

Выводы. 1. На начальных этапах голодания (6 сут.) анадара использует ресурс тканевого лактата в направлении реакций окислительного декарбоксилирования. Об этом свидетельствует значительный рост активности ЛДГ на фоне снижения содержания лактата и повышения уровня пирувата в тканях. **2.** Процесс адаптации анадары к голоданию идёт по пути использования резерва аминокислот в процессах биосинтеза белка. Это отражает уменьшение уровня аминного азота во всех исследованных тканях и рост содержания белка при отсутствии выраженных изменений концентрации мочевины в органах моллюска.

3. Использование аминокислот как источника энергии тканями анадары в условиях голодания происходит по пути фумаратредуктазной и сукцинаттиокиназной реакций, которые позволяют дополнительно получать гликолитические метаболиты. Об этом свидетельствует рост активности АлАТ и АсАТ в ряде тканей. Донором аминокислот выступает гепатопанкреас; в отличие от других тканей депривация пищи вызывает в нём значительный рост активности катепсина D.

1. Камышиников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 501 с.
2. Мильман Л. С., Юровецкий Ю. Г., Ермолаева Л. П. Определение активности важнейших ферментов углеводного обмена // Методы биологии развития. – М.: Наука, 1974. – С. 346 – 364.
3. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. – М.: Наука, 1981. – 278 с.
4. Солдатов А. А., Андреевко Т. И., Головина И. В. Особенности организации тканевого метаболизма у двусторчатого моллюска-вселенца *Anadara inaequalis* Bruguiere // Доп. НАН України. – 2008. – N 4. – С. 161 – 165.
5. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии. – Т. 3. – М.: Мир, 1981. – С. 1157-1878.
6. Borah S., Yadav R. N. S. Biochemical and haematological responses to starvation in an air breathing fresh water teleost *Heteropneustes fossilis* (Bloch) // Indian J. Fish. – 1996. – **43**, № 3. – P. 307 – 311.
7. Bowen K.L., Johannsson O.E., Smith R., Schlechtriem C., Arts M.T. RNA/DNA and protein Indices in Evaluating Growth and Condition of Aquatic Organisms: A Review // Ann. Conf. Great Lakes Res. – 2005. – **48**. – P. 34 – 39.
8. Carefoot T. H., Qian P-Y., Taylor B. E., West T. G., Osborne J. Effect of starvation on blood-glucose and tissue-glycogen levels in the northern abalone *Haliotis kamtschatkana* // J. Shellfish Res. – 1992. – **11**, № 2. – P. 551.
9. Comoglio L. I., Gaxiola G., Roque A., Cuzon G., Amin O. The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* // J. Shellfish Res. – 2004. – **23**, № 1. – P. 243 – 249.
10. Foster G. D., Moon T. W. Hypometabolism with fasting in the yellow perch (*Perca flavescens*): A study of enzymes, hepatocyte metabolism, and tissue size // Physiol. Zool. – 1991. – **64**, № 1. – P. 259 – 275.
11. Frolov A.V., Pankov S. L. The effect of starvation on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis* // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. – 1992. – **72**, N 2. – P. 343 – 356.
12. Gao L., Chen L., Song B. Effect of starvation and compensatory growth on feeding, growth and body biochemical composition in *Acipenser schrenckii* juveniles // J. Fish. China. – 2004. – **28**, № 3. – P. 279 – 284.
13. Gao L., Chen L., Zhao X. Zhuang P. Starvation and compensatory growth of *Acipenser schrenckii* juveniles - effects on digestive organs structure and digestive enzymes activity // J. Fish. Sci. China. – 2004. – **11**, № 5. – P. 413-419.
14. Guderley H., Lapointe D., Bedard M., Dutil J-D. Metabolic priorities during starvation: enzyme sparing in liver and white muscle of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. // Comp. Biochem. Physiol., – 2003. – **135A**, № 2. – P. 347 – 356.
15. Hall J.R., Short C.E., Driedzic W. R. Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose // J. Exp. Biol. – 2006. – **209**, № 22. – P. 4490 – 4502.
16. Kim K-I., Grimshaw T.W., Kayes T.B., Amundson C.H. Effect of fasting or feeding diets containing different levels of protein or amino acids on the activities of the liver amino acid-degrading enzymes and amino acid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquaculture. – 1992. – **107**, N 1. – P. 89 – 105.
17. Okuma E., Watanabe K., Abe H. Distribution of free D-amino acids in bivalve mollusks and the effects of physiological conditions on the levels of D- and L-alanine in the tissues of the hard clam, *Meretrix lusoria* // Fish. Sci. – 1998. – **64**, N 4. – P. 606 – 611.
18. Oubella R., Maes P., Paillard C., Auffret M. Experimentally induced variation in hemocyte density for *Ruditapes philippinarum* and *R. decussates* (*Mollusca, Bivalvia*) // Dis. Aquat. Org. – 1993. – **15**, N 3. – P. 193 – 197.
19. Qian Y., Chen H., Sun J. Effects of starvation on the hematological and blood biochemical indices in cultured *Lateolabrax japonicus* // J. Fish. Sci. China. – 2002. – **9**, № 2. – P. 133 – 137.
20. Rooker J.R., Holt G.J. Application of RNA: DNA ratios to evaluate the condition and growth of larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) // Mar. Freshwat. Res. – 1996. – **47**, № 2. – P. 12-18.
21. Sanchez-Paz A., Garcia-Carreño F., Hernandez-Lopez J., Muhlia-Almazan A., Yepiz-Plascencia G. Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2007. – **340**, № 2. – P. 184 – 193.
22. Santini G., Bianchi T., Chelazzi G. Metabolic responses to food deprivation in two limpets with different foraging regimes, revealed by recording of cardiac activity // J. Zool. – 2002. – **256**, № 1. – P. 11 – 15.
23. Shikata T., Shimeno S. Effects of feed restriction and starvation on fatty acid synthesis and oxidation of glucose and alanine in carp hepatopancreas // Fish. Sci. Tokyo. – 1997. – **63**, № 2. – P. 301 – 303.
24. Shoemaker C. A., Klesius P. H., Lim C., Yildirim M. Feed deprivation of channel catfish, *Ictalurus*

- punctatus* (Rafinesque), influences organosomatic indices, chemical composition and susceptibility to *Flavobacterium columnare* // J. Fish Dis. – 2003. – **26**, № 9. – P. 553 – 561.
25. Soundarapandian P., Kannupandi T., Samuel M.J. Effect of starvation on biochemical composition of freshwater prawn juveniles of *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edwards) // Indian J. Exp. Biol. – 1997. – **35**, № 5. – P. 502 – 505.
26. Suneetha K-B., Folkvord A., Johannessen A. Responsiveness of selected condition measures of herring, *Clupea harengus*, larvae to starvation in relation to ontogeny and temperature // Environ. Biol. Fish. – 1999. – **54**, № 2. – P. 191 – 204.
27. Thor P. Elevated respiration rates of the neritic copepod *Acartia tonsa* during recovery from Starvation // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2003. – **283**, № 1-2. – P. 133 – 143.
28. Vijayaraghavan S., Rao J.V.R. Starvation stress effects on tissue lactate and lactate dehydrogenase activity in *Anabas scandens* (Cuvier) // Comp. Physiol. Ecol. – 1986. – **11**, № 4. – P. 233 – 236.
29. Wen X., Ku Y., Zhou K. Starvation on changes in growth and fatty acid composition of juvenile red swamp crawfish, *Procambarus clarkii* // Chin. J. Oceanol. Limnol. – 2007. – **25**, № 1. – P. 97 – 105.
30. Wu L., Liu Yu., Wang X., Deng H. The effects of starvation and refeeding on metabolism in shrimp (*Marsipenaes japonicus*) // J. Dalian Fish. Univ. – 2007. – **22**, № 2. – P. 109 – 112.

Поступила 26 марта 2009 г.

Особливості реорганізації тканинного метаболізму у двостулкового молюска *Anadara inaequalis* (Bruguere, 1789) в умовах експериментального голодування. Т. І. Андреевко, О. О. Солдатов, І. В. Головина. Досліджено в експериментальних умовах вплив голодування на спрямованість метаболічних процесів у тканинах двостулкового молюска - вселенця *Anadara inaequalis* (Чорне море). Тривалість експерименту – 18 діб. Визначено динаміку вмісту ряду білкових (загальний білок, амінокислоти, сечовина) і вуглеводних (глюкоза, лактат, піруват) субстратів і метаболітів, а також вивчені активності 6-ти ферментів (лактат- і малатдегідрогеназ, аланін- і аспаратамінотрансфераз, γ -глутамілтрансспептидази, катепсина D) у нозі, зябрах і гепатопанкреасі молюска. Показано, що на початкових етапах голодування (6 діб) анадара використовує ресурс тканинного лактату в напрямку реакцій окисного декарбоксилування. Про це свідчить значне зростання активності лактатдегідрогенази на фоні зниження вмісту лактату і підвищення рівня пірувату в тканинах. Процес адаптації анадари до голодування йде шляхом використання резерву амінокислот у процесах біосинтезу білка. Це відображає зменшення рівня амінного азоту у всіх досліджених тканинах і підвищення вмісту білка при відсутності виражених змін концентрації сечовини в органах молюска. Використання амінокислот як джерела енергії тканинами анадари в умовах голодування відбувається шляхом фумаратредуктазної і сукцинаттіокиназної реакцій, які дозволяють додатково одержувати гліколітичні метаболіти. Про це свідчить збільшення активностей аланін- і аспаратамінотрансфераз у деяких тканинах. Донором амінокислот виступає гепатопанкреас. На відміну від інших тканин, депривація їжі викликає в ньому значно зростання активності катепсину D.

Ключові слова: голодування, *Anadara inaequalis* (Bruguere, 1789), тканинний метаболізм, білки, амінокислоти, глюкоза, активності ферментів

Characteristics of tissue metabolism reorganization in bivalve mollusk *Anadara inaequalis* (Bruguere, 1789) under experimental starvation conditions. T. I. Andreenko, A. A. Soldatov, I. V. Golovina. The effect of starvation on the orientation of metabolic processes in bivalve mollusk *Anadara inaequalis* (Black sea) was investigated under experimental conditions. The experiment lasted up to 18 days. Changes in the contents of some protein (protein, amino acids, urea) and carbohydrate (glucose, lactate, pyruvate) substrates and metabolites, and also the activity of six enzymes (lactate and malate dehydrogenase, alanine and aspartate transaminases, γ -glutamyl transferase, katepsin D) in foot, gills and hepatopancreas of the mollusk were investigated. It was shown that during initial stages of starvation (6 day) *A. inaequalis* used a resource of tissue lactate in a direction of oxidative decarboxylation reactions. Significant increase in activity of lactate dehydrogenase on a background of lactate content reduction and rise in pyruvate level in tissues was determined. The process of *A. inaequalis* adaptation to starvation involves using the amino acids reserves during tissue biosynthesis. It reflects the reduction of amino acids level in all studied tissues and rise in protein contents in the absence of pronounced changes in urea concentration in mollusk organ. Using of amino acids as an energy source for tissue during starvation occurs in the form fumarate reductase and succinate thiokinase reactions which allow to obtain additionally glycolytic metabolites. Increase in activities of alanine and aspartate transaminases in some confirm that. Hepatopancreas is found to be a donor of amino acids. In contrast to other tissues, food deprivation causes significant rise in katepsin D activity in hepatopancreas.

Key words: starvation, *Anadara inaequalis* (Bruguere, 1789), tissue metabolism, protein, amino acids, glucose, enzyme activity