

## ПУЛЫ АМИНОКИСЛОТ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЯКУТСКОГО СУСЛИКА *Urocitellus undulatus* НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ГИБЕРНАЦИИ

© 2022 г. М.В. Каранова, Н.М. Захарова

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской области, Институтская ул., 3

E-mail: karanovari@mail.ru

Поступила в редакцию 04.02.2022 г.

После доработки 04.02.2022 г.

Принята к публикации 07.02.2022 г.

В процессе зимней спячки у гибернирующих животных отсутствует явление мышечной атрофии. Механизмы этого феномена пока не известны, но их тонкая регуляция должна быть отражена в статусе свободных аминокислот скелетных мышц. В работе изучен состав свободных аминокислот скелетных мышц якутского суслика в зимний период гибернации при 0°C. В процессе зимней спячки наблюдается увеличение количества аланина, который во время кратковременного пробуждения возвращается к летнему уровню. В начале торпора в скелетных мышцах сусликов обнаруживается аспарагиновая кислота, исчезающая при кратковременном пробуждении. Пулы глицина и таурина не изменяются ни в начале, ни в конце торпора. Пулы незаменимых аминокислот в конце торпора увеличиваются, а при кратковременном пробуждении возвращаются к исходному уровню. Взаимосвязанное увеличение и снижение содержания свободных аминокислот – свидетельство отсутствия преобладания процессов катаболизма над анаболизмом.

*Ключевые слова:* гибернация, торпор, эутермия, скелетные мышцы, аланин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота.

DOI: 10.31857/S000630292202020X

Продолжительное воздействие околонулевых положительных температур на организм не адаптированных к холоду животных изменяет физическое состояние фосфолипидного бислоя мембран (фазовые переходы), изменяет проницаемость для ионов и метаболитов и интенсивность активного транспорта [1, 2]. Выход Ca<sup>2+</sup> из цитозоля при низких температурах многократно увеличивается [3, 4], электрическое сопротивление мембраны возрастает в десятки раз, изменяется активность ферментов, образуются свободные радикалы и т. д. [1, 5]. Степень отрицательного воздействия этих процессов на структурно-функциональное состояние клетки зависит от времени нахождения биологического объекта в условиях низкотемпературного воздействия. Пойкилотермные животные, обитающие в зоне холодного климата, в процессе эволюции выработали тонкие механизмы, позволяющие выживать при низких температурах в течение длительного времени. Гомойотермные животные не имеют таких механизмов, несмотря на термопродукцию, имеющую ограниченные возможности, но среди них существуют гетеротермные, гибернирующие животные, температура тела которых может понижать-

ся при впадении в спячку или в оцепенение [5]. Гибернация, или зимняя спячка, – это состояние временного глубокого угнетения всех жизненных процессов животных (оцепенение, торпор), в котором они переживают неблагоприятный сезон года. При этом тело животного может охлаждаться до очень низких положительных температур [6–8]. Гибернация состоит из серий – баутов, каждый из которых длится две-три недели и включает следующие стадии: вход в гипобиоз (вступление в торпор) → глубокий торпор → выход из торпора (эутермия). Выход из торпора между баутами (межбаутное пробуждение) сопровождается наибольшими затратами энергии по сравнению с другими этапами цикла и длится около суток или менее [7, 9]. В этот период интенсивной метаболической активности животное использует запасы топлива с максимальной скоростью, пока температура тела не достигнет нормального уровня [8–10]. Переход в состояние гибернации возможен вследствие того, что сопряжен с особыми механизмами повышения устойчивости организмов к экстремальным воздействиям внешней среды. Прегибернационный сезон характеризуется усиленным синтезом гликогена; в конце лета

увеличивается количество бурой жировой ткани и запас липидов, являющихся, наряду с гликогеном, основным топливом для скелетных мышц [9].

У сусликов *Uroditellus undulates* гибернация характеризуется снижением температуры тела с 37–38°C (активное состояние) до 0–4°C (оцепенение), уменьшением частоты сердцебиений до 3–5 уд/мин (при норме 200–300 уд/мин), снижением количества дыхательных движений — до 4–6 вместо 100–200 в норме и 350–400 — в фазе эутермии, снижением скорости кровотока, снижением потребности в кислороде более чем в десять раз [6, 9, 11, 12]. Резкое снижение интенсивности метаболизма до минимального уровня при спячке обеспечивает до 80% экономии энергии [6, 11, 12]. Во время спячки масса скелетных мышц у сусликов и летучих мышей снижается на 14–65% в зависимости от типа мышц и вида, но сохраняется мышечная морфология; в отличие от негибернирующих видов, повышается активность цитратсинтазы [13–15]. У черных медведей *Ursus americanus* количество и размер клеток скелетных мышц остаются постоянными с начала и до конца спячки, а окислительная способность или полностью сохраняется, или незначительно снижается [16]. После 130 дней покоя мышечная сила черного медведя падает только на 23%, что намного меньше, чем это показано для людей при ограниченном постельном режиме или смоделированных условиях космического полета за аналогичный период. У негибернирующих животных в бездействующих мышцах снижается экспрессия многих миофибриллярных белков, включая альфа-актин, легкую цепь миозина и тропонин Т, что приводит к значительной редукации генерации мышечной силы и падению работоспособности [17, 18].

Равновесие аминокислот взрослого организма в норме выполняет функцию создания метаболического фона тканей и органов, который определяет адаптивные возможности организма и их регуляцию [19]. Изменение соотношения аминокислот этого фона сопряжено со значительными перестройками защитно-адаптивных механизмов, и одно из проявлений метаболической адаптации скелетных мышц у гибернирующих животных должно состоять в каком-то изменении состава свободных аминокислот. Показано, что распад белков скелетных мышц способствует циркуляции аминокислот и увеличению азотной нагрузки в оцепенении в большей степени, чем распад коллагена [20], однако нет ни одной работы, посвященной проявлению азотного гомеостаза, — в частности, адаптивному изменению состава свободных аминокислот зимнеявляющихся животных в процессе оцепенения. Представление о механизмах и результатах этой сложной и феноменально скоординированной работы имеет зна-

чение не только для клиники, для поддержания организма в состоянии резко сниженных физиологических функций, но и для понимания молекулярных механизмов гипогравитационной атонии мышц в условиях длительных космических полетов.

Задачей данной работы явилось изучение особенностей изменения состава свободных аминокислот скелетных мышц суслика в начале и в конце торпора, а также в межбютном состоянии кратковременного пробуждения в сравнении с активным летним состоянием.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объект исследования.** В экспериментах использовали половозрелых якутских сусликов *Uroditellus undulatus* мужского пола, массой  $613 \pm 60$  г.

Животных доставляли из Якутии. Во время летней активности их содержали индивидуально в специальном помещении, с соблюдением естественного фотопериода и при достаточном количестве пищи и воды. В период гибернации сусликов содержали в темном помещении при температуре от 0 до 2°C. Регистрацию температуры тела у животных проводили с помощью специализированного датчика RET-2 (Physitemp, США) с точностью  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ .

Опыты проводили на четырех группах сусликов, включая контрольную:

1-я группа ( $n = 6$ ) — бодрствующие активные животные в летний период (июнь), контроль;

2-я группа ( $n = 6$ ) — торпор, 2–3 дня, при ректальной температуре от 0.2 до 0.4°C;

3-я группа ( $n = 6$ ) — торпор, 9–10 дней, при ректальной температуре от 0.2 до 0.4°C;

4-я группа ( $n = 5$ ) — спонтанно пробудившиеся зимние животные; температура 37.6°C.

Перед декапитацией торпидных животных взвешивали и измеряли ректальную температуру, после декапитации измеряли температуру в области сердца. После извлечения миокарда последовательно из каждой группы животных биоматериал гомогенизировали в 0.5 н холодной хлорной кислоте (1 : 9) и центрифугировали при температуре 4°C 20 мин при 20000 об/мин на центрифуге Centricon (США). После осаждения белка супернатант нейтрализовали 2 н КОН и повторно центрифугировали. Последний супернатант до выполнения анализа хранили при  $-20^\circ\text{C}$ .

**Концентрацию свободных аминокислот** определяли методом ионообменной жидкостной хроматографии [21], на модульном хроматографе Infinity LC-1260 (Agilent, США). Разделение смеси аминокислот осуществляли на колонке с трехступенчатым градиентом натрий-цитратного буфе-

**Таблица 1.** Пулы заменимых аминокислот и таурина скелетных мышц суслика *U. undulatus* летом и в период гибернации (мкмоль/г сырой массы)

Аминокислоты	Контроль (лето)	Торпор (начало)	Торпор (конец)	Эутермия
ФС	–	–	0.07 ± 0.01*	–
Таурин	6.22 ± 0.49	7.02 ± 0.53	6.91 ± 0.55	6.50 ± 0.44
Аспаргат	0.02 ± 0.002	0.45 ± 0.03	0.90 ± 0.08	0.03 ± 0.003
Сер+тре+глен	3.32 ± 0.29	0.45 ± 0.04	0.77 ± 0.07	2.88 ± 0.30*
Глутамат	0.95 ± 0.09	1.05 ± 0.08	1.14 ± 0.10	1.15 ± 0.10
Глицин	0.57 ± 0.04	0.62 ± 0.05	0.70 ± 0.06	0.57 ± 0.05
Аланин	1.57 ± 0.12	1.97 ± 0.16	2.10 ± 0.18	1.34 ± 0.12
Цистин	–	0.45 ± 0.04	0.60 ± 0.07*	–
γ-Аминомасляная кислота	Сл.	0.11 ± 0.02	0.20 ± 0.02	–
Гистидин	4.28 ± 0.40	3.75 ± 0.32	0.84 ± 0.07	1.65 ± 0.15
Аммиак	1.60 ± 0.17*	1.45 ± 0.16*	0.55 ± 0.05	1.25 ± 0.12
Аргинин	0.04 ± 0.004	0.05 ± 0.006	0.33 ± 0.03	0.05 ± 0.05
Сумма	16.97 ± 1.43	15.92 ± 1.28	14.36 ± 1.24	14.17 ± 1.22

Примечание. Данные получены в 2017, 2018, 2019 и 2021 гг. Контроль – лето, июнь ( $n = 6$ ); торпор (начало) – декабрь, январь, спящие 2–3 дня ( $n = 6$ ); торпор (конец) – декабрь, январь, спящие 9–10 дней ( $n = 6$ ); эутермия – кратковременное пробуждение ( $n = 5$ ). Ректальная температура спящих сусликов – от 0.2 до 0.4°C; температура сердца – от 1.0 до 2.5°C; температура сердца активных зимних животных – в пределах 37.6°C. Сер+тре+глен – один пик, в котором происходило сливание серина, треонина и глутамин.  $P < 0.05$  в сравнении с летним контролем; \* –  $P > 0.05$ .

ра: № 1 – 0.3 н, рН 2.98; № 2 – 0.4 н, рН 3.81; № 3 – 0.45 н, рН 9.97 в градиенте температуры 55–74°C. Стационарная фаза: сульфированный сополимер стирола с дивинилбензолом. Скорость подвижной фазы составляла 0.45 мл/мин. Послеколоночную модификацию аминокислот проводили с нингидрином, интенсивность окрашивания измеряли при 570 нм. Для каждой серии опытов делали хроматограмму стандартной смеси аминокислот, концентрация каждой из вносимых аминокислот 2.5 нмоль. Содержание свободных аминокислот выражали в мкмоль/г сырой массы. Использовали реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США).

**Статистический анализ** выполняли, используя пакет статистических программ Microsoft Excel 2010. Данные выражали как среднее из трех па-

раллельных проб, в каждой из которых использовались 2 особи ( $n = 6$  или  $n = 5$ ) ± ошибка среднего значения ( $M \pm s.e.m.$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Метаболические процессы, проходящие в скелетных мышцах сусликов *Urocitellus undulates* на разных стадиях гибернации, как показывают данные нашей работы, находят отражение в специфических для скелетных мышц закономерностях изменения количества и состава свободных аминокислот (табл. 1). Состав свободных заменимых аминокислот скелетных мышц в нормальных физиологических и температурных условиях (лето) характеризуется соотношением пулов глутаминовой кислоты и аланина – центральных компонентов аминокислотного обмена – в пользу аланина

( $1.57 \pm 0.12$  и  $0.95 \pm 0.09$  мкмоль/г сырого веса для аланина и глутаминовой кислоты соответственно; соотношение 1.65 : 1). Пул глицина почти в два раза меньше пула глутаминовой кислоты ( $0.57 \pm 0.04$  мкмоль/г). Аспарагиновая кислота обнаруживается летом лишь в следовых количествах ( $0.02$  мкмоль/г), а уровень гистидина, как обычно и у других животных, высок и составляет  $4.28 \pm 0.40$  мкмоль/г. Пул непротеиногенной сульфаминокислоты таурина ( $6.22 \pm 0.49$  мкмоль/г), как и в мышцах других млекопитающих, значительно выше уровня протеиногенных аминокислот.

Во время гипотермии и в периоды промежуточных пробуждений, эутермии, наблюдаются заметные изменения соотношения аминокислот и характерная отрицательная корреляция изменения пулов глутаминовой кислоты и аланина. В начале торпора, уровень аланина увеличивается до  $1.97 \pm 0.16$  мкмоль/г, но уровень глутаминовой кислоты почти не изменяется ( $1.05 \pm 0.08$  мкмоль/г).

Во время кратковременных пробуждений наблюдаются всплески интенсивной метаболической активности, когда температура тела поднимается до  $36^\circ\text{C}$ , сохраняясь в течение 12–24 ч, а затем животное снова входит в торпор (оцепенение). За этот короткий срок происходит значительное изменение соотношения глутамата и аланина: глутамат повышается чуть выше летнего уровня, аланин, наоборот, снижается чуть ниже летнего уровня; их концентрации выравниваются (глу : ала = 1.00 : 1.15).

Обращают на себя внимание ответы аспарагиновой кислоты, которая летом едва обнаруживается, в начале торпидного состояния ее содержание повышается до  $0.45 \pm 0.03$  мкмоль/г, а в конце гипотермии увеличивается еще в два раза. Во время активации анаболических путей, при эутермии, ее количество, как и у других вышеназванных заменимых аминокислот, возвращается к летнему минимуму ( $0.03$  мкмоль/г).

Высокое летнее содержание гетероциклической аминокислоты гистидина, характерное для скелетных мышц, снижается уже в начале торпора до  $0.84 \pm 0.07$  мкмоль/г, чтобы увеличиться в период эутермии, пусть и не на таком уровне, как летом, а лишь до  $1.65 \pm 0.15$  мкмоль/г. Эти наблюдения представляют собой еще одно яркое свидетельство роли гистидина в двигательной активности скелетных мышц, — вероятно, в качестве предшественника содержащегося в большом количестве в мышцах дипептида карнозина.

Интересны не только изменения количества определяемых субстанций, но и отсутствие таких изменений в то время, когда можно было бы ожидать иной результат. Так, таурин, малоактивный вторичный метаболит, в начале зимнего периода в мышцах рыб в несколько раз увеличивает свое содержание, и рассматривается как протектор

пойкилотермных животных при низких температурах [22]. Более того, по мере увеличения срока оцепенения пул таурина увеличивается и в сердце сусликов [неопубликованные данные]. Логично было ожидать, что во время длительного пребывания при околонулевой температуре таурин скелетных мышц сусликов будет, как и у холоднокровных, необходим в качестве антиоксиданта, мембранного протектора, модулятора транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  и т.д., и его концентрация возрастет. Однако таурин остался на прежнем, впрочем, высоком уровне (табл. 1). Следует отметить важную деталь: общая антиоксидантная способность икроножных мышц торпидных животных, по данным авторов работы [23], на 156% выше, чем у летних. Таким образом, роль таурина не связана с антиоксидантным действием — об этом заботятся другие субстанции, среди которых вполне вероятно и аспарагиновая кислота (табл. 1). Можно в связи с этим предположить, что в скелетных мышцах зимнеящих сусликов и, вероятно, у других гетеротермов функция таурина более специализирована и не связана с падением температуры тела.

Данные об ответах незаменимых аминокислот, присутствующих в свободном виде у позвоночных животных в минимальном количестве, представлены в табл. 2. При увеличении длительности оцепенения, происходит значительное накопление аминокислот с разветвленным строением алифатической боковой цепи: лейцина, изолейцина и валина. Помимо этого, увеличиваются и пулы метионина, треонина, фенилаланина, тирозина, триптофана.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Соотношение аминокислот метаболического фона, определяющего адаптивные возможности организма и их регуляцию, закреплено эволюционно. Однако перестройка защитно-адаптивных механизмов может менять это соотношение [19]. Изменение состава свободных аминокислот, отмеченное в нашей работе, является одним из ярких проявлений метаболической адаптации скелетных мышц гибернарующих животных (табл. 1). Особый интерес представляет регуляция пулов глутаминовой кислоты и аланина, возможно, отражающая переключение с анаэробного пути гликолиза на аэробный и наоборот. Глутамат и аланин — метаболически взаимосвязанные ключевые аминокислоты, но участвуют в разных путях энергетического обеспечения [24]. Соотношение их количества, при котором уровень аланина, маркера анаэробных процессов, превышает уровень глутамата, является особенностью аминокислотного профиля скелетных мышц суслика и в норме, и во время оцепенения.

**Таблица 2.** Пулы незаменимых аминокислот скелетных мышц суслика *U. undulatus* летом (контроль) и в период гибернации (мкмоли/г сырой массы)

Аминокислоты	Контроль (лето)	Торпор (начало)	Торпор (конец)	Эутермия
Треонин + ?	Выходил в одном пике с серином и неизвестным веществом			
Валин	155 ± 13	205 ± 30*	534 ± 65*	170 ± 20*
Метионин	23 ± 4*	30 ± 4*	44 ± 6*	30 ± 3
Изолейцин	72 ± 8*	90 ± 9*	280 ± 33*	80 ± 10*
Лейцин	130 ± 13	170 ± 16*	350 ± 27	143 ± 14
Тирозин	140 ± 14	130 ± 12	225 ± 20	130 ± 13
Фенилаланин	55 ± 7*	51 ± 6*	85 ± 10*	66 ± 10*
Триптофан	32 ± 4*	40 ± 4	61 ± 7*	40 ± 5*
Лизин	222 ± 20	255 ± 20	451 ± 42	270 ± 25
Сумма	829 ± 79	971 ± 101	2030 ± 210	929 ± 100

Примечание. См. примечания к табл. 1;  $P < 0.05$  в сравнении с летним контролем; \* –  $P > 0.05$ . Информация по незаменимой аминокислоте треонину приведена в табл. 1.

Содержание глицина, известного своими аминокислотными свойствами и участвующего в синтезе с глутаминовой кислотой в синтезе глутамата, также, вероятно, способствует сохранению баланса между катаболизмом и анаболизмом, распадом и синтезом белка.

Аспарагиновая кислота – яркий и интригующий участник адаптации к гипометаболическому состоянию скелетных мышц. Ее мизерное количество в летнее время (табл. 1) может предполагать отсутствие необходимости в этой дикарбоновой аминокислоте в скелетных мышцах в нормальных условиях. Однако неожиданное и многократное возрастание во время гибернации (торпора) и падение до летнего, т.е. минимального, уровня во время кратковременного периода интенсивной метаболической активности (пробуждения) являются доказательством важной роли аспарагиновой кислоты в сохранении метаболической устойчивости мышц. Но в чем эта роль? Известно участие аспартата (как и глутамата) в обезвреживании аммиака; известно, что половина азота, освобожденного при биохимических трансформациях аминокислот, не образует аммиак, так как сразу улавливается аспарагиновой кислотой, транспортирующей и утилизирующей биологически активный азот. Можно предположить, что роль аспарагиновой кислоты во время торпора заключается в связывании токсичного

аммиака для его использования в синтезе аминокислот и протеинов, необходимых для функционирования тех органов, которые находятся в активном состоянии, несмотря на общее оцепенение животных. В связи с этим следует обратить внимание и на увеличение орнитина во время оцепенения, участвующего в синтезе мочевины, и на снижение количества аммиака, несмотря на активно идущие в это время процессы протеолиза (табл. 1). Во время оцепенения понижены и процессы катаболизма, однако без регуляторных механизмов они бы шли стихийно. В конце торпора происходит накопление незаменимых аминокислот, указывающее на активно идущие процессы распада протеинов (табл. 2). Красиво выглядит фаза эутермии, когда аминокислоты, снизившие количество в торпоре (гистидин, треонин + серин), а также увеличившие свое количество (аланин, аспартат, аргинин, незаменимые аминокислоты), возвращаются к исходному летнему уровню. Участие в синтезе белка заменимых и незаменимых аминокислот во время пробуждения кажется бесспорным, компенсируя непрерывно протекающий во время гибернации протеолиз.

Полученные данные являются биохимической иллюстрацией роли свободных аминокислот в отсутствии мышечной атрофии у зимнеящих во время длительного состояния гипобиоза. Гибер-

наторы используют специфические, единые для всех зимнеящих механизмы для поддержания запасов азота и доставки аминокислот, необходимых для синтеза белка в органах, которые продолжают функционировать, хотя и в экономном режиме [20]. Имеются данные, что серин-треонинкиназа, сывороточная и глюкокортикоид-регулируемая киназа 1 (SGK1), повышены во время спячки и способствуют защите от потери мышечной массы путем понижения регулируемого уровня протеолиза и аутофагии и через увеличение синтеза белка [25]. Представленные в данной статье данные не противоречат высказанной в работе [26] гипотезе о том, что резистивные свойства торпидных мышц летучих мышей против атрофии могут быть достигнуты, главным образом, путем относительно постоянного протеолиза в сочетании с колебательной анаболической активностью, соответствующей частоте возбуждений, возникающих во время спячки.

### ВЫВОДЫ

Перестройка защитно-адаптивных механизмов зимнеящих сусликов сопряжена с изменением соотношения свободных аминокислот скелетных мышц.

Выявлено увеличение содержания свободного аланина во время торпора.

Обнаружено многократное повышение уровня аспартата в торпидный период и его падение до летнего уровня при эутермии, незначительное изменение уровня глицина на всех стадиях и отсутствие изменения уровня таурина.

Зарегистрировано значительное увеличение содержания незаменимых аминокислот в конце торпора.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность А.В. Петрову и В.В. Меркулову за помощь в выполнении хроматографического анализа аминокислот, А.С. Аверину и С.С. Поповой – за выделение биоматериала.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Отлов и содержание животных, доставленных в лабораторию, осуществляли в соответствии с правилами, принятыми II Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (1986).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. М. Белоус и В. А. Бондаренко, *Структурные изменения биологических мембран при охлаждении* (Наук. думка, Киев, 1982).
2. N. D. Ozernyuk and S. K. Nechaev, *Biol. Bull.* **29** (4), 373 (2002).
3. A. S. Efremova and V. P. Zinchenko, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology* **2** (4), 372 (2008).
4. A. E. Alekseev, A. F. Korystova, D. A. Mavlyutova, and Y. M. Kokoz, *Biochem. Mol. Biol. Int.* **33** (2), 365 (1994).
5. N. A. Azzam, J. M. Hallenbeck, and B. Kachar, *Nature* **407**, 317 (2000).
6. F. Geiser, *Annu. Rev. Physiol.* **66**, 239 (2004).
7. L. C. H. Wang and T. F. Lee, in *Handbook of Physiology* (Oxford Univer. Press, 1996), v. 4, pp. 507–531.
8. N. M. Zakharova, *Biol. Sci.* **6**, 1401 (2014).
9. G. R. Izrailova, R. A. Khalilov, and A. A. Adieva. *Biol. Sci. Fund. Res.* **11**, 1046 (2014).
10. F. van Breukelen and S. L. Martin, *J. Appl. Physiol.* **92** (6), 2640 (2002).
11. K. L. Drew, M. B. Harris, J. C. LaManna, et al., *J. Exp. Biol.* **207**, 3155 (2004). DOI: 10.1242/jeb.01114
12. Z. El. Hachimi, M. Tijane, G. Boissonnet, et al., *Comp. Biochem. Physiol. B: Comp. Biochem.* **96** (3), 457 (1990). DOI: 10.1016/0305-0491(90)90039-v
13. J. M. Steffen, D. A. Koebel, X. J. Musacchia, et al., *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Syst. Environ. Physiol.* **99**, 815 (1991).
14. S. J. Wickler, D. F. Hoyt, and F. Van Breukelen, *Am. J. Physiol.: Regul. Integr. Comp. Physiol.* **261**, R1214 (1991).
15. C. J. Cotton and H. J. Harlow, *Physiol. Biochem. Zool.* **83**, 551 (2010). DOI: 10.1086/650471
16. D. B. Tinker, H. J. Harlow, and T. D. Beck, *Physiol. Zool.* **71**, 414 (1998).
17. R. J. Isfort, R. T. Hinkle, M. B. Jones, et al., *Electrophoresis* **21**, 2228 (2000).
18. Y. Seo, K. Lee, K. Park, et al., *J. Biochem.* **139** (1), 71 (2006).
19. S. Bröer and A. Bröer, *Biochem. J.* **474**, 1935 (2017). DOI: 10.1042/BCJ20160822
20. A. Sarah, A. M. Rice, G. ten Have, and J. A. Reisz, *Nat. Metab.* **2** (12), 1459 (2020). DOI: 10.1038/s42255-020-00312-4
21. D. H. Spachman, W. H. Stein, and S. Moore, *Anal. Chem.* **30** (7), 1190 (1958).
22. M. V. Karanova, *J. Evol. Biochem. Physiol.* **45** (1), 67 (2009).

23. R. S. James, J. F. Staples, and J. C. L. Brown, *J. Exp. Biol.* **216**, 2587, (2013). DOI: 10.1242/jeb.080663
24. O. L. Pisarenko, A. V. Baranov, E. V. Pomerantsev, et al., *Int. J. Cardiol.* **23**, 43 (1989).
25. E. A. Ivakine and R. D. Cohn, *Exp. Physiol.* **99** (4), 632 (2014).
26. K. Lee, H. So, T. Gwag, et al., *J. Cell. Physiol.* **222**, 313 (2010).

## **Pools of Amino Acids of Skeletal Muscle in Yakutian Ground Squirrel *Urocitellus undulatus* During Different Hibernation Stages**

**M.V. Karanova and N.M. Zakharova**

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

In the process of hibernation, the muscle mass of hibernators is preserved, but muscle atrophy is absent. The mechanisms of this regulation are not yet known, but their fine regulation should be reflected in the status of free amino acids of skeletal muscle. The paper studied the skeletal muscles concentration of free amino acids in the Yakut ground squirrel in the winter hibernation period at 0°C has been studied. In the process of winter hibernation, there is an increase in the amount of alanine, which during short-term awakening returns to summer levels. At the beginning of the torpor in the skeletal muscles in ground squirrels, aspartic acid is found, which disappears with a short-term awakening. The pools of glycine and taurine do not change either at the beginning or at the end of the torpor. Pools of essential amino acids at the end of the torpor increase, and with a short-term awakening they return to their original level. The interrelated increase and decrease in the content of free amino acids is evidence of the absence of the predominance of the processes of catabolism over anabolism.

*Keywords: hibernation, torpor, euthermia, skeletal muscle, alanine, glutamic acid, aspartic acid*