

СРАВНИТЕЛЬНАЯ И ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

УДК 577.175.829+591.1

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ И АСПАРАГИНОВАЯ КИСЛОТА В МОЗГЕ АМФИБИЙ *R. TEMPORARIA* КАК НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЕ АДАПТОГЕНЫ

© 2020 г. М. В. Каранова

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Московская область, Россия

e-mail: karanovari@mail.ru

Поступила в редакцию 06.06.2019 г.

После доработки 18.07.2019 г.

Принята к публикации 16.01.2020 г.

Ранее автором было показано, что низкотемпературными адаптогенами мозга пресноводных рыб являются вторичные метаболиты — фосфоэтанолламин (ФЭ) и фосфосерин (ФС), но не таурин, являющийся адаптогеном мышечной ткани и плазмы крови рыб. В данной работе продолжается изучение роли этих метаболитов, а также протеиногенных аминокислот в адаптации пойкилотермных животных к низким температурам. В мозге лягушек *Rana temporaria* выявлены ФЭ и ФС и показаны их количественные изменения зимой по сравнению с летним периодом. Соотношение ФЭ и ФС, в отличие от мозга рыб, в мозге *R. temporaria* почти не различается как летом, так и зимой. К началу зимней спячки *R. temporaria* пулы ФЭ и ФС увеличиваются по сравнению с летним периодом почти одинаково для обоих метаболитов (ФЭ — от 0.22 до 1.65, ФС — от 0.29 до 1.98 мкмоль/г сырой массы). Уровень таурина в мозге лягушек, в отличие от рыб, летом составляет 0.77 мкмоль/г и увеличивается к зиме до 1.37 мкмоль/г. Неожиданным результатом оказалось резкое увеличение к началу зимней спячки уровня аспарагиновой кислоты, от 0.86 до 4.60 мкмоль/г, в зимний период в мозге рыб отсутствующей. В связи с увеличением пулов ФЭ и ФС к началу зимы есть основания предполагать, что эти метаболиты играют роль низкотемпературных адаптогенов в мозге лягушек.

Ключевые слова: мозг амфибий, фосфосерин, фосфоэтанолламин, таурин, температурная адаптация, эволюция

DOI: 10.31857/S0044452920030043

ВВЕДЕНИЕ

Клетки и ткани рыб и амфибий, обитающих в широком диапазоне смены температурного режима внешней среды, обладают способностью к температурной компенсации, т.е. поддержанию уровня метаболизма, достаточного для выживания в широких пределах изменения температуры тела [1, 2]. Этот феномен осуществляется благодаря биохимическим адаптациям, отличающимся на разных стадиях филогенеза и в разных органах [3–8]. Особенно значимые из адаптаций закрепляются на генетическом уровне, участвуя в эволюционных преобразованиях вида.

Мозг пойкилотермных животных является интересным объектом для изучения роли тех или иных адаптогенов в эволюции механизма низкотемпературной адаптации. Ранее в ЦНС пресноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* L. в летний период были обнаружены вторичные метаболиты: свободные фосфосерин (ФС) и фосфоэтанолламин (ФЭ) в соотношении 1:8 [7], а в гемолимфе эти фосфомоноэфиры отсутствовали [4]. Перед нача-

лом зимнего оцепенения пул ФЭ в мозге *L. stagnalis* незначительно (на 15%) увеличивался, но пул ФС не изменялся [7]. Было обнаружено, что в мозге пресноводных костистых рыб данные фосфомоноэфиры являются активными низкотемпературными адаптогенами, причем в процессе сезонного снижения температуры и при воздействии холодным шоком ФЭ аккумулируется значительно больше, чем ФС [8, 9].

Данные об адаптационной роли другого вторичного метаболита, таурина, были получены для органов пресноводных рыб, не выявленного однако в ЦНС моллюсков *L. stagnalis* [8–10]. Перед наступлением зимы таурин в большом количестве аккумулировался в крови и еще более — в мышечной ткани рыб [5], но в мозге значительно снижал свой высокий летний уровень [8, 9]. Напротив, свободные протеиногенные аминокислоты в крови, мышцах и в мозге к началу зимы, в основном, значительно снижали или почти не изменяли свой уровень, за исключением глутамата и аланина в

мышечной ткани, где их количество увеличивалось в 1.5 и 2 раза соответственно [9].

Изучить участие этих веществ в адаптационных низкотемпературных функциях мозга пойкилотермных, в частности, у амфибий — первых и наиболее древних классов наземных позвоночных, представляет несомненный интерес.

Цель исследования: изучение ответов вторичных метаболитов в мозге амфибий на сезонное снижение температуры, вызывающие состояние зимней спячки, и на длительное нахождение в состоянии спячки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект исследования. Поимка лягушек *R. temporaria* осуществлялась в 2015–2017 гг. в неглубоких водоемах окрестностей Пущино (54°50' с. ш., 37°36' в. д.) в середине июня при среднесуточной температуре +17°C. В третьей декаде ноября лягушек ловили при температуре –2°C из водоема, частично покрытого рыхлым, губчатым льдом (шугой). Вес животных составлял 34 ± 5 г. Летних лягушек декапитировали на следующий день после поимки; зимних — спустя несколько дней после отлова, в первых числах декабря; в этот период они находились в аквариуме при температуре +4°C. Другую часть лягушек оставляли в состоянии анабиоза (зимней спячки) при +4°C до начала мая, времени естественного пробуждения *R. temporaria* в природных условиях. Спячку прерывали, переместив животных в помещение с комнатной температурой, где их декапитировали сразу после пробуждения.

Гомогенат мозга центрифугировали при 20000 об/мин × 15 мин, 0°C на центрифуге К-24

(Германия) [9]. Супернатант хранили при температуре –20°C.

Концентрацию свободных аминокислот и фосфомоноэфиров определяли методом ионообменной жидкостной хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот LC-2000 (Германия) в системе, состоящей из трехступенчатого градиента натрий-цитратного буфера [11]. Послеколонная модификация аминокислот проводилась с нингидрином, интенсивность окрашивания измеряли при 570 нм. Для каждой серии опытов делали хроматограмму стандартной смеси 21 аминокислоты, фосфоэтанолamina и фосфосерина, которые, как и аминокислоты, окрашиваются с нингидрином в синий цвет. Содержание свободных аминокислот выражали в мкмоль/г сырой массы.

Результаты экспериментальных исследований представлены как среднее из 3 параллельных проб ($n = 3$), в каждой из которых использовались 2 особи (итого 6 особей) $\pm$ ошибка среднего значения ($M \pm SEM$). Для определения статистической значимости различий средних величин использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вторичные метаболиты. Данные о количестве вторичных метаболитов (фосфомоноэфиров и таурина) в мозге *R. temporaria* в летний период, в начале зимы и после весеннего пробуждения представлены в табл. 1, из которой следует, что летом ФС в мозге *R. temporaria* присутствуют в заметном количестве (0.29 мкмоль/г), — в отличие от рыб, в мозге которых летом ФС отсутствует [8, 9]. Количество ФЭ в летнем мозге лягушек (0.22 мкмоль/г) также намного выше, чем в мозге рыб (0.039 мкмоль/г)

Таблица 1. Вторичные метаболиты в мозге травяной лягушки *R. temporaria* летом, зимой и в мае после окончания спячки (мкмоль/г сырой массы)

Table 1. Secondary metabolites in the brain of the frog *Rana temporaria* in summer, winter and spring after the end of hibernation (μmol/g wet weight)

Вторичные метаболиты/ Secondary metabolites	Июнь/June	Декабрь/December	Май/May
Фосфосерин/Phosphoserine	0.29 ± 0.02	$1.98 \pm 0.15^*$	$1.10 \pm 0.10^*$
Фосфоэтаноламин/Phosphoethanolamine	0.22 ± 0.02	$1.65 \pm 0.15^*$	1.45 ± 0.14
Таурин/Taurine	0.77 ± 0.07	$1.37 \pm 0.12^*$	1.23 ± 0.10
HB1/US1	2.40 ± 0.30	не обнаруживаются/undetected	не обнаруживаются/undetected
HB2/US2	3.20 ± 0.30	не обнаруживаются/undetected	не обнаруживаются/undetected
3-метилгистидин/3-methylhistidine	0.21 ± 0.02	$0.96 \pm 0.11^*$	1.77 ± 0.20

Примечания. Данные представляют среднее из 3 параллельных опытов ($M \pm SEM$), в каждом из которых использовалось 2 особи; * — достоверность значения $p < 0.05$ по отношению к июню. HB1 и HB2 — неидентифицированные вещества. Количество HB1 рассчитано из предположения, что в этом месте элюируется метионинсульфоксид; аналогично, на месте выхода HB2 элюируется этаноламин.

Notes. Data are presented as $M \pm SEM$ for 3 parallel experiments, with two frogs used in each; * — statistical significance of differences vs. June, $p < 0.05$. US1 and US2 — unidentified substances. The US1 level was calculated from the assumption that methionine sulfoxide was eluted at this point; likewise ethanolamine was assumed to be eluted at the US2 output.

[9]. К началу зимнего периода пулы этих метаболитов в мозге *R. temporaria* возрастают в равной пропорции, приблизительно в 7 раз (табл. 1). В мозге рыб пул ФЭ возрастает в 94 раза [9, 10]. Количество ФС в мозге амфибий зимой немного выше, чем количество ФЭ (1.98 и 1.65 мкмоль/г соответственно, $p < 0.1$). В мозге рыб, напротив, количество ФС в 9 раз ниже ФЭ: 0.41 и 3.66 мкмоль/г соответственно, $p < 0.05$.

Полученные данные показывают, что способность организмов синтезировать в ответ на снижение температуры внешней среды вещества-адаптогены может передаваться в филогенезе, при этом функция этих веществ, возможно, меняется по сравнению с предковыми формами.

Изменяя свой уровень в процессе адаптации, фосфомоноэфиры мозга костистых рыб находятся в реципрокной зависимости с таурином [9], играющим важную роль для выживания организмов, находящихся на более низких филогенетических уровнях, — например, литоральных моллюсков [3]. Роль таурина в мозге амфибий, вероятно, отличается от его роли в мозге рыб, что подтверждается не только более низким уровнем таурина при летних температурах, но и его увеличением в ответ на сезонное похолодание (табл. 1). Уровень таурина в летнем мозге лягушки составляет 0.77 мкмоль/г (у

рыб — 3.90), однако, в отличие от рыб, к началу зимнего оцепенения у лягушек он незначительно повышается, а у рыб, как показано ранее, уровень таурина значительно падает, до 0.9 мкмоль/г [10]. Неясно, является ли случайным совпадение суммарного зимнего уровня ФС, ФЭ и таурина в мозге рыб [9] и в мозге лягушек — около 5.0 мкмоль/г.

Ослабление роли таурина в мозге амфибий, по сравнению с рыбами, подтверждается результатами, полученными для западноамериканской жабы *Bufo boreas* (0.1–0.3 мкмоль/г, в зависимости от сезона) [12]; данных о таурине в мозге гибернирующих лягушек найти не удалось. Длительное гипометаболическое состояние влияет незначительно на количество ФЭ и таурина в мозге *R. temporaria* (табл. 1), однако пул ФС за этот период достоверно уменьшается: от 1.98 в начале спячки до 1.10 мкмоль/г спустя пять месяцев, $p < 0.05$.

Для летнего периода *R. temporaria* характерно также высокое содержание двух неидентифицированных соединений: в начале хроматограммы — НВ1, и в конце — НВ2, в области выхода этаноламина. В зимний период эти вещества не обнаруживаются.

Свободные аминокислоты. При изучении сезонных изменений состава свободных аминокислот

Таблица 2. Сезонные изменения количества свободных аминокислот в мозге лягушки *R. temporaria* (мкмоль/г сырой массы)

Table 2. Seasonal changes in the level of free amino acids in the *Rana temporaria* brain ($\mu\text{mol/g}$ wet weight)

Аминокислоты/Amino acids	Июнь/June	Декабрь/December	Май/May
Аспарагиновая кислота/Aspartic acid	0.86 ± 0.07	$4.60 \pm 0.42^*$	$1.31 \pm 0.17^*$
Треонин/Threonine	1.33 ± 0.10	1.21 ± 0.17	1.65 ± 0.17
Серин/Serine	4.00 ± 0.35	4.19 ± 0.40	4.40 ± 0.56
Глутаминовая кислота/Glutamic acid	2.53 ± 0.21	$1.78 \pm 0.20^*$	$4.60 \pm 0.36^*$
Глицин/Glycine	2.05 ± 0.19	$3.15 \pm 0.24^*$	$4.58 \pm 0.33^*$
Аланин/Alanine	5.44 ± 0.48	$2.48 \pm 0.31^*$	$3.86 \pm 0.33^*$
Валин/Valine	0.96 ± 0.08	$0.52 \pm 0.04^*$	$0.93 \pm 0.10^*$
Метионин/Methionine	0.26 ± 0.02	$0.52 \pm 0.07^*$	$0.04 \pm 0.01^*$
Изолейцин/Isoleucine	0.29 ± 0.02	$0.51 \pm 0.05^*$	$0.06 \pm 0.02^*$
Лейцин/Leucine	0.54 ± 0.05	$1.31 \pm 0.15^*$	$0.09 \pm 0.03^*$
Фенилаланин/Phenylalanine	1.12 ± 0.11	1.03 ± 0.21	0.81 ± 0.12
ГАМК/GABA	4.86 ± 0.45	$6.73 \pm 0.57^*$	7.28 ± 0.76
Гистидин/Histidine	0.62 ± 0.07	$2.13 \pm 0.30^*$	1.96 ± 0.25
NH ₃	5.20 ± 0.5	$2.60 \pm 0.25^*$	2.0 ± 0.3
Лизин/Lysine	1.26 ± 0.13	1.44 ± 0.14	0.80 ± 0.07

Примечания. Тирозин, цистеин, аргинин, пролин, триптофан не обнаружены. ГАМК — γ -аминомасляная кислота. Данные представляют среднее из 3 параллельных опытов ($M \pm SEM$), в каждом из которых использовались 2 особи. * — достоверность значения $p < 0.05$ по отношению к июню.

Notes. Tyrosine, cysteine, arginine, proline, tryptophan were undetected. GABA — γ -aminobutyric acid. Data are presented as $M \pm SEM$ for 3 parallel experiments, with 2 frogs used in each. * — statistical significance of differences vs. June, $p < 0.05$.

мозга *R. temporaria* (табл. 2) выявлен принципиально новый факт: аккумуляция к началу зимнего периода (начало оцепенения) большого количества аспарагиновой кислоты, количество которой увеличилось от 0.86 (летом) до 4.60 мкмоль/г — зимой (табл. 2). В мозге зеленой лягушки *R. esculenta*, обитающей в Японии южнее ареала обитания *R. temporaria*, пул аспарагиновой кислоты зимой возрастает значительно меньше: в зависимости от отдела мозга, в среднем, на 20–50%, и лишь в верхних холмах четверохолмия (optic lobe) и в обонятельной доле головного мозга (olfactory lobe) — на 90–100% [13].

Необходимость в накоплении аспарагиновой кислоты в мозге при гибернации в условиях охлаждения внешней среды до +7 °C наблюдается и у рептилий, в частности, у варанов *Varanus griseus* [14], однако эта низкотемпературная аккумуляция осуществляется в меньшей степени, чем у *R. temporaria*. В мозге гибернирующего варана, как и в зимнем мозге *R. temporaria*, увеличивается не только пул аспарагиновой кислоты, но и ГАМК, а пул глутаминовой кислоты, так же, как у *R. temporaria*, снижается [14]. Сравнение лягушки с вараном обнаруживает в их мозге при снижении температуры большее сходство в характере изменения уровня и соотношения свободных аминокислот, чем сравнение с японской лягушкой *R. esculenta*.

В мозге рыб аспартат выявляется в летний период в очень небольшом количестве, а зимой не обнаруживается вообще [8]. Уровень аспартата в летнем мозге моллюска в 10 раз меньше, чем уровень наиболее активных в метаболизме аминокислот, аланина и глутамата, и в процессе падения сезонной температуры этот низкий уровень не изменяется [7]. В мозге гибернирующих млекопитающих (сусликов, ежей) аспарагиновая кислота при нормальных температурах присутствует в существенном количестве [15, 16]. В течение 1 мес гибернации ее уровень в мозжечке сусликов снижается более чем в 2 раза, а уровень ГАМК повышается [15]. В мозге ежей зимой во время спячки при +5° C высокий уровень летнего аспартата также падает в 2 раза, а пул ГАМК примерно в такой же пропорции возрастает [16].

В мировой литературе принято считать, что значительная аккумуляция тех или иных субстанций при снижении температуры в естественных, природных, условиях, предполагает их адаптогенную, или протекторную, роль [17]. Исходя из этого мнения, можно предположить, что накопление аспарагиновой кислоты к началу зимы в мозге бесхвостой амфибии *R. temporaria* может свидетельствовать о ее роли низкотемпературного адаптогена для данного вида животных и в данных климатических условиях.

Уровень глутаминовой кислоты в мозге *R. temporaria* к началу зимы уменьшается до 1.78, по сравнению с летним, 2.53 мкмоль/г, $p < 0.05$ (табл. 2).

Снижается пул глутамата и в мозге рыб, но в шесть раз [9]. Однако у гибернирующих зеленых лягушек *Rana esculenta*, обитающих в более южных широтах, вопреки ожиданию, уровень этого активного метаболита увеличивается в большинстве отделов мозга на 20–30% и только в продолговатом мозге — почти на 100% [13].

В настоящей работе впервые обнаружено зимнее увеличение у *R. temporaria* пулов незаменимых аминокислот (метионина, изолейцина и лейцина) (табл. 2). В отличие от лягушек, в мозге рыб уровень большинства незаменимых аминокислот (валина, изолейцина, лейцина, лизина) к началу зимней спячки значительно уменьшается [9].

ВЫВОДЫ

1. Впервые в мозге амфибий показано наличие вторичных метаболитов, ФЭ и ФС, — уровень которых растет одновременно с сезонным понижением температуры. Таким образом, явление низкотемпературной аккумуляции фосфомоноэфиров, ранее наблюдавшееся в мозге рыб [8, 9], характерно также для настоящих амфибий. 2. Аккумуляция большого количества аспарагиновой кислоты в процессе низкотемпературной адаптации в мозге амфибий, возможно, связана с работой защитно-адаптационной системы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает признательность В.Я. Лысанской за помощь в выполнении анализа аминокислот и к.б.н. В.К. Утешеву — за доставку лягушек.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания: “57.1. Моделирование структурных и физических параметров белков, нуклеиновых кислот и их комплексов. Изучение свойств наноразмерных ансамблей биологических макромолекул” (тема: 0116-2014-0001).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Storey K.B., Storey J.M. Molecular Physiology of Freeze Tolerance in Vertebrates. *Physiol. Reviews.* 97 (2): 623–665. 2017.
2. Storey K.B., Storey J.M. Biochemical Adaptation to Extreme Environments. From: *Integrative Physiology in the*

- Proteomics and Post-Genomics Age. Edited by: W. Walz. Humana Press Inc., Totowa, N.J. 169–200. 2010.
3. *Karanova M.* Influence of Low Temperature on the Evolution of Amino Acids Pools Adaptive Modifications in Poikilothermic Animals (review). *Int. J. Biochem. Biophys.* 1 (2): 33–40. 2013.
 4. *Каранова М.В., Гахова Э.Н.* Биохимическая стратегия выживания пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* при околонулевых температурах. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 43 (3): 258–264. 2007. [*Karanova M.V., Gakhova E.N.* Biochemical strategy of survival of the freshwater mollusc *Lymnaea stagnalis* at near-zero temperatures. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 43 (3): 310–317. 2007].
 5. *Каранова М.В.* Состав свободных аминокислот крови и мышц ротана *Perccottus glehni* в период подготовки и завершения гибернации. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* Т. 45 (1): 59–67. 2009. [*Karanova M.V.* Free amino acid composition in blood and muscle of the gobi *Perccottus glehni* at the period of preparation and completion of hibernation. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 45 (1): 67–77. 2009].
 6. *Каранова М.В., Андреев А.А.* Свободные аминокислоты и редуцирующие сахара бокоплава *Gammarus lacustris* (Crustacea, Amphipoda) в начальной стадии подготовки к зимнему сезону. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 46 (4): 279–283. 2010. [*Karanova M.V., Andreev A.A.* Free amino acids and reducing sugars in the freshwater shrimp *Gammarus lacustris* (Crustacea, Amphipoda) at the initial stage of preparation to winter season. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 46 (4): 335–340. 2010].
 7. *Каранова М.В., Ивлиева Н.А.* Пул фосфоэтанолamina и фосфосерина в мозге моллюска *Lymnaea stagnalis* L. в летний период и перед началом зимней спячки. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 52 (2): 113–117. 2016. [*Karanova M.V., Ivlicheva N.A.* Pool of phosphoethanolamine and phosphoserine in the brain of the snail *Lymnaea stagnalis* L. in summer and before winter dormancy. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 52 (2): 127–132. 2016].
 8. *Каранова М.В.* Идентификация фосфоэтанолamina и фосфосерина в мозге эвритермной прудовой рыбы *Perccottus glehni* (Eleotridae, Perciformes, Dyb. 1877). *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 101 (4): 400–407. 2015. [*Karanova M.V.* Identification of phosphoethanolamine and phosphoserine in the brain of the pond fish *Perccottus glehni* (Eleotridae, Perciformes, Dyb. 1877). *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 46 (7): 803–807. 2016].
 9. *Каранова М.В.* Влияние сезонного снижения температуры и холодового шока на состав свободных аминокислот и фосфомоноэфиров в разных органах ротана-головешки *Perccottus glenii* (Eleotridae). *Вопросы ихтиологии.* 58 (4): 486–495. 2018. [*Karanova M.V.* Impact of seasonal temperature decrease and cold shock on the composition of free amino acids and phosphomonoesters in various organs of amur sleeper *Perccottus glenii* (eleotridae). *Journal of Ichthyology.* 58 (4): 570–579. 2018.]
 10. *Каранова М.В.* Эффект холодового шока на ответы фосфомоноэфиров и свободных аминокислот органов ротана *Perccottus glehni*, богатых фосфолипидами. *Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 103 (1): 89–97. 2017. [*Karanova M.V.* Effects of Cold Shock on Responses of Phosphomonoesters and Free Amino Acids in Phospholipid-Rich Organs in the Amur Sleeper *Perccottus Glehni*. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 48 (5): 528–533. 2018.]
 11. *Spachman D.H., Stein W.H., Moore S.* Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.* 30 (7): 1190–1206. 1958.
 12. *Baxter C.F., Baldwin R.A., Lu P., Imaki H., Sturman J.A.* Taurine in Toad Brain and Blood Under Different Conditions of Osmolality: An Immunohistochemical Study. *Neurochemical Res.* 18 (4): 425–435. 1993.
 13. *Watanabe M., Shimada M., Watanabe H., Nakanishi M.* Amino acid content in several brain regions of the active and hibernating frog, *Rana esculenta*. *Comp. Biochem. Physiol.* 978 (3): 605–610. 1990.
 14. *Raheem K.A., Mosallamy N.El.* Metabolism of hibernating reptiles. Changes of free amino acids in the blood, liver and brain. *Comp. Biochem. Physiol.* 64 (B): 305–308. 1979.
 15. *Бекшоков К.С., Эмирбеков Э.З., Эмирбекова А.А.* Реакция нейромедиаторного пула аминокислот древних структур мозга на низкие температуры у гетеротермов. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Приложение. S6:* 42–46. 2004. [*Bekshokov K.S., Emirbekov E.Z., Emirbekova A.A.* Reaksiya nejromediatornogo pula aminokislot drevnih struktur mozga na nizkie temperatury u geterotermov [Response of neurotransmitter pool of amino acids of ancient brain structures to low temperatures in heterotermes]. *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki. Prilozhenie. S6:* 42–46. 2004 (in Russ.).]
 16. *Al-Badry K.S., Taha H.M.* Hibernation hypothermia and metabolism in hedgehogs—changes in free amino acids and related compounds. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 72 (3): 541–547. 1982.
 17. *Озернюк Н.Д.* Температурные адаптации. М.: Изд-во Московского ун-та. 2000. [*Ozernyuk N.D.* Temperature adaptacii [Temperature adaptations]. М.: Izd-vo Moskovskogo un-ta. 2000 (in Russ.).]

Secondary Metabolites and Aspartic Acid in the Brain of the Frog *Rana Temporaria* as Low-Temperature Adaptogens

M. V. Karanova

Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

e-mail: karanovari@mail.ru

Previously, we have demonstrated that such secondary metabolites as phosphoethanolamine (PE) and phosphoserine (PS) are low-temperature adaptogens specific to the brain of freshwater fish, in contrast to taurine which serves as an adaptogen in fish muscles and blood plasma. Here, we carry on investigating the role of PE, PS, taurine and proteinogenic amino acids in adaptation of poikilothermic animals to low temperatures. PE and PS were discovered in the brain of the frog *Rana temporaria*, and their pools were shown to increase by the beginning of hibernation compared to the summer period almost in a similar manner (PE – from 0.22 to 1.65, PS – from 0.29 to 1.98 $\mu\text{mol/g}$ wet weight). Unlike the fish brain, in the *R. temporaria* brain, the PE/PS ratio is almost indistinguishable in winter compared to summer. In contrast to fish, in the *R. temporaria* brain the taurine level increases from 0.77 in summer to 1.37 $\mu\text{mol/g}$ in winter. The level of aspartic acid, which is missing in the fish brain during winter, in the *R. temporaria* brain sharply increases by the beginning of hibernation from 0.86 to 4.60 $\mu\text{mol/g}$. Thus, there is ground to believe that such secondary metabolites as PE, PS, taurine and proteinogenic aspartic acid play the role of low-temperature adaptogens in the brain of anuran amphibians.

Keywords: amphibian brain, aspartic acid, phosphoethanolamine, phosphoserine, taurine, low-temperature adaptation, evolution