

Р. Р. НЕРСЕСЯН

ДЕЙСТВИЕ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА АМИЛОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Действие гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) на некоторые стороны углеводного обмена в центральной нервной системе и периферических органах было изучено в лаборатории Г. Х. Бунятяном с сотрудниками [1—4]. Нами было показано, что ГАМК, введенная внутривентрикулярно куриному эмбриону, 10 мкг вызывала повышение количества гликогена в печени на протяжении всего инкубационного периода, подавляя фосфоролитическую активность и одновременно повышая активность гликогенсинтезирующих ферментов [5].

В настоящей работе перед нами была поставлена цель изучить характер влияния ГАМК на амилолитическую активность разных тканей куриного эмбриона *in vivo* и *in vitro*.

Методика. Опыты ставили на инкубированных яйцах кур породы «Белый леггорн». В опытах *in vivo* с 11-го дня инкубации в желточный мешок куриного эмбриона вводили 10 мкг ГАМК и брали пробы через 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24 часа после его действия. В опытах *in vitro* к реакционной смеси добавляли ГАМК в количестве 0,5—20 мкг.

Были проведены три серии опытов и в каждой из них ставили четыре параллельных опыта, средние данные которых представлены в виде кривых.

Пробы брали из отдельных тканей развивающегося зародыша: желтка, желточного мешка, печени и желчи. Активность амилазы определяли методом Смита и Роя, основанного на декстриногенном свойстве амилазы [6].

Пробы гомогенизировали в дистиллированной воде в холодных условиях с таким расчетом, чтобы каждый мл гомогената соответствовал бы 50—100 мг свежей ткани. Реакционная смесь состояла из одного мл гомогената, 1 мл 0,5 М NaCl, 3 мл фосфатного буфера рН—6,8 и 5 мл 1,2% крахмала. Инкубацию проводили от 10 до 30 мин. при температуре 37°C.

До определения амилазной активности, предварительно выводили адсорбционную кривую на ФЭК М-1 с помощью 1,2% раствора водорастворимого крахмала. Активность фермента определяли количеством расщепившегося крахмала в мг. На основании этой кривой составляли

соответствующую таблицу, в которой концентрация крахмала колеблется в пределах 5—60 мг.

Нашими предыдущими работами было показано, что активность амилазы в желтке куриного яйца выявляется с раннего периода инкубации и претерпевает определенные изменения [7]. Муг в однодневной бластомере обнаружил ряд ферментов: амилазу, липазу, протеиназу, кислую и щелочную фосфатазы и т. д. [8]. Быстрое развитие эмбриона осуществляется благодаря интенсивно протекающему обмену веществ растущего зародыша, который обуславливается своевременным образованием и включением в обменные процессы ферментативных систем.

ГАМК в опытах *in vitro* не оказывает влияния на амилитическую активность в вышеуказанных тканях. Такой же эффект наблюдается через 2—12 час. после введения ГАМК. Поэтому в данной работе приведены результаты опытов *in vivo*, проведенных с различными тканями куриного эмбриона, спустя 18—24 час. после введения ГАМК.

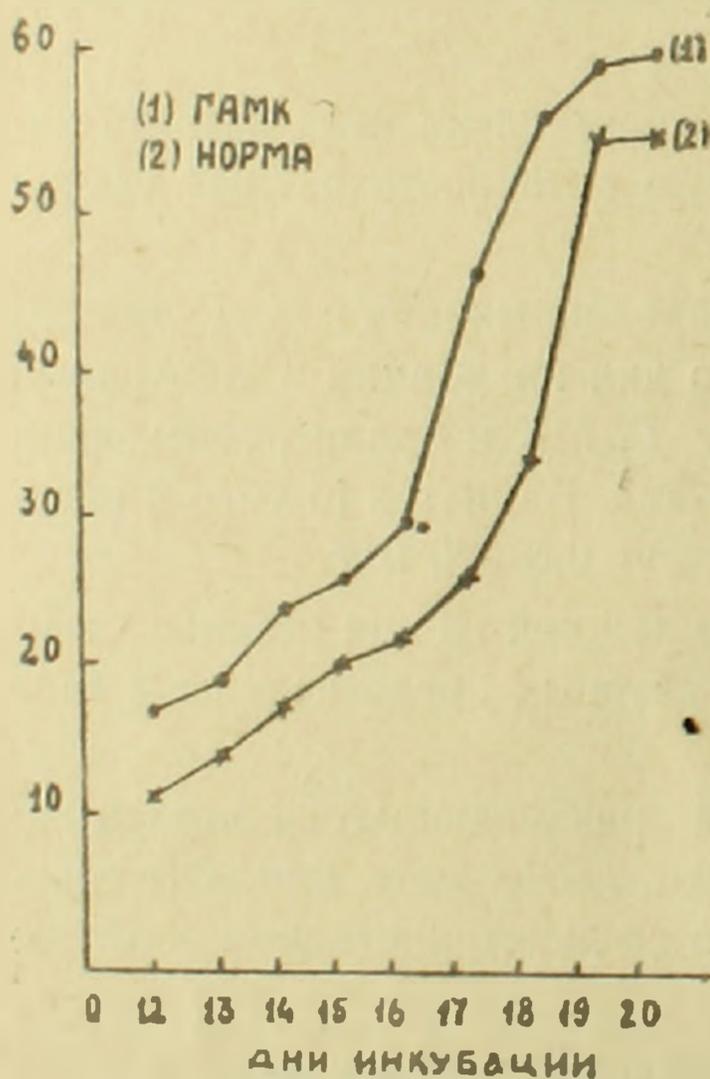


Рис. 1.

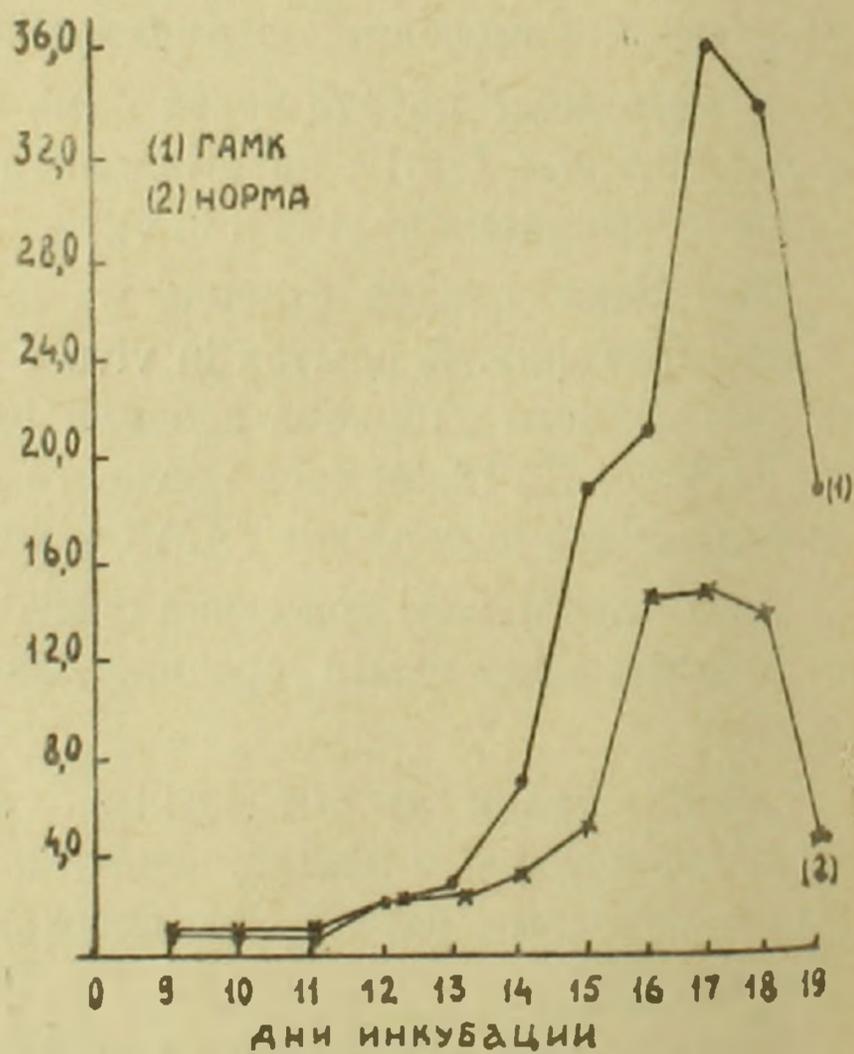


Рис. 2.

На рис. 1 показано изменение активности фермента желтка куриного эмбриона в течение инкубационного периода как в норме, так и под действием ГАМК. В желтке куриного эмбриона, начиная с 12-го дня инкубации, амилазная активность постепенно повышается, достигая максимальной величины 50 мг на 19—20 дни. Под действием ГАМК активность амилазы в желтке также резко повышается с 17-го дня и достигает

максимума на 19—20 дни (60 мг крахмала в течение 10 мин. инкубации). Несмотря на то, что амилазная активность в обоих случаях повышается, тем не менее на протяжении всей инкубации активность фермента под влиянием ГАМК выше, чем в норме.

Из данных, приведенных на рис. 2, видно, что активность амилазы желточного мешка в норме и под действием ГАМК ниже, чем в желтке. В начальном периоде инкубации активность фермента почти отсутствует и только начиная с 15-го дня инкубации она выявляется, составляя к 16—17 дням—15 мг. На 19-ый день активность фермента резко подавляется. Под действием ГАМК амилазная активность желточного мешка, начиная с 14-го дня инкубации, повышается и достигает до максимальной величины на 17—18 дни инкубации, вдвое превышая показатели нормы (34 мг). На 19-ый день отмечается снижение ферментативной активности до 19 мг.

На рис. 3 приведены данные об активности амилазы печени, которая значительно ниже, чем в вышеуказанных органах. В норме активность фермента на 14-ый день инкубации достигает до 12 мг и мало изменяется на протяжении всей инкубации. Под действием ГАМК амилазная активность в начальном периоде подавляется и только на 18—

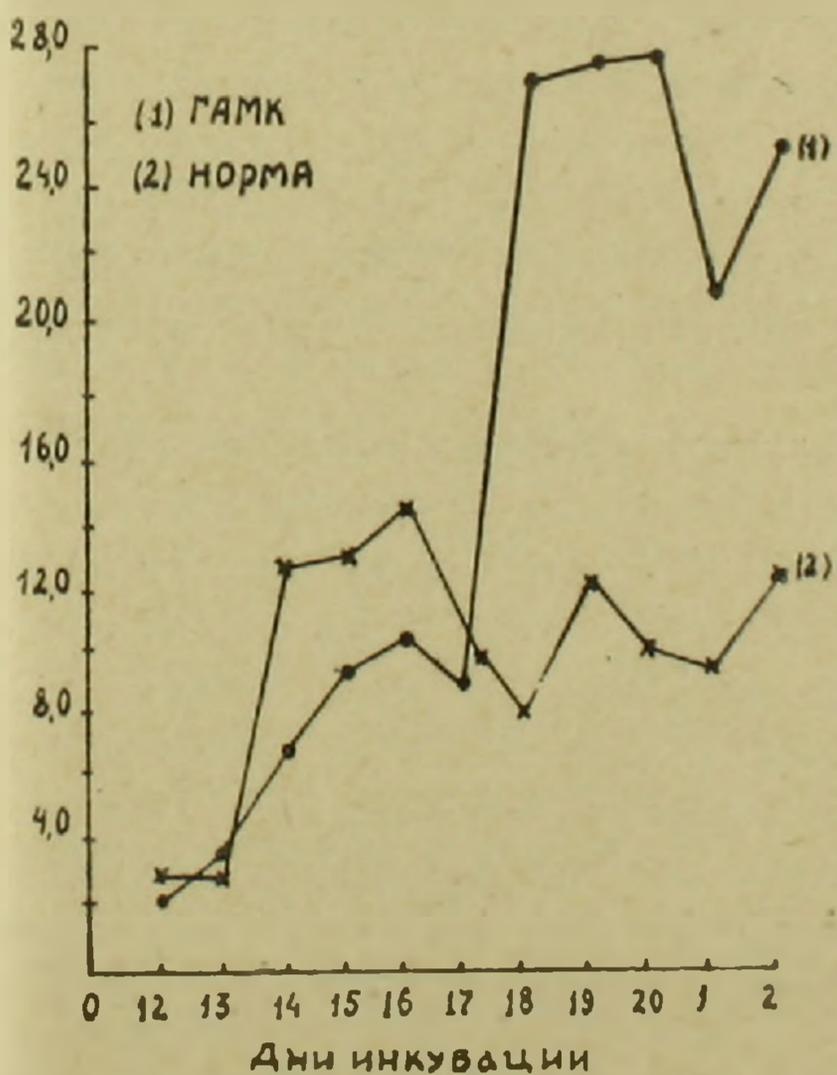


Рис. 3.

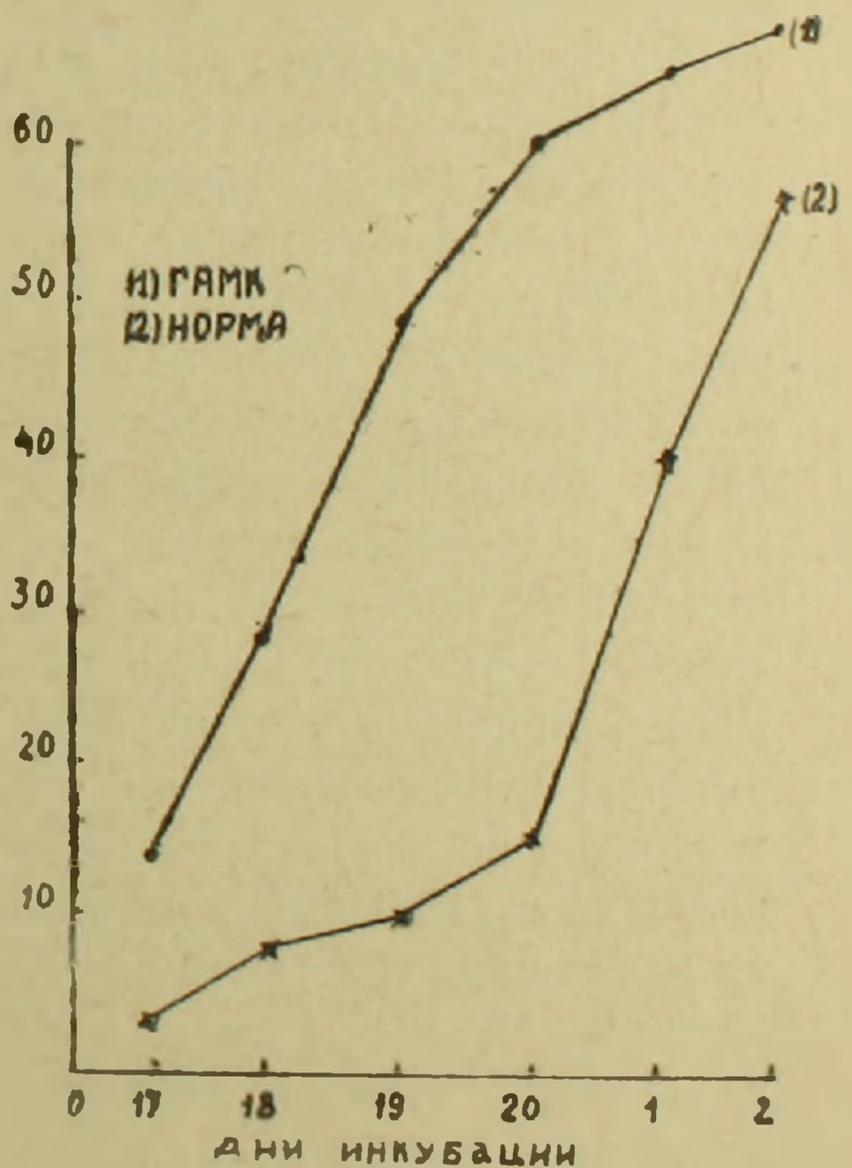


Рис. 4.

20 дни замечается резкое повышение активности фермента (26—27 мг). К моменту вылупления цыпленка отмечается незначительное понижение ферментативной активности. Следует отметить, что ГАМК в опытах *in vivo* и *in vitro* не оказывает сколько-нибудь заметного воздействия на амилазную активность мышечной ткани. В норме мышечная ткань

куриного эмбриона обладает слабой амилазной активностью на протяжении всего инкубационного периода [7]. По этой причине в настоящей работе мы не приводим результатов исследований, проведенных в этом направлении.

На рис. 4 приведены данные активности амилазы желчи с 17-го дня инкубации в норме и под действием ГАМК.

Наши предыдущие работы показали, что желчь куриного эмбриона, кур и овец обладает амилазной активностью [9—10]. В норме она очень низка и только в момент вылупления цыпленка повышается, составляя 55 мг крахмала. Под действием ГАМК в курином эмбрионе отмечается увеличение секреции желчи и одновременно повышается активность амилазы в ней (в 5—6 раз по сравнению с нормой), при этом высокий уровень амилазной активности наблюдается до конца инкубации и у 1—2-дневных цыплят. Если в норме на 20-ый день активность фермента составляет 15 мг, то под действием ГАМК она доходит до 60 мг крахмала.

Процесс желчевыделения у птиц отличается от других животных тем, что у последних имеется два желчных протока: через один желчь из печени поступает через 12-перстную кишку, через другой—в желчный пузырь. У куриных эмбрионов часть желчи впадает в желток [11]. Процесс желчевыделения у птиц регулируется нервной системой. Интересно отметить, что с 17-го дня инкубации, когда начинается секреция желчи, активность амилазы повышается как в желчи, так и в других тканях: желтке, желточном мешке и печени. Возможно, в этих тканях активность фермента тесно связана с секрецией желчи. Значительное увеличение активности амилазы желчи под действием ГАМК, по-видимому, обуславливается стимулированием синтеза амилазы. Вопрос этот подлежит дальнейшему изучению.

Из литературы известно, что организм куриного эмбриона способен отвечать на некоторые воздействия адаптивным усилением синтеза отдельных ферментов. Гардон и Родер [12] определяли активность аденозин-дезаминазы в теле куриного эмбриона, затем через определенные интервалы времени вводили в яйца аденозин. Во всех случаях имело место увеличение количества фермента. Если введение аденозина не повторялось, повышение активности фермента прекращалось. Показали также, что при повторном введении глюкозы наблюдается усиление синтеза аскорбиновой кислоты эмбрионом. Все это свидетельствует о том, что организм куриного эмбриона соответственно реагирует на постороннее воздействие.

В ы в о д ы

1. 0,5—20 мкг ГАМК в опытах *in vitro* не оказывает заметного влияния на амилазную активность различных тканей куриного эмбриона: желток, желточный мешок, мышцы, печень.

2. При введении 10 мкг ГАМК в желточный мешок и взятии проб после 2—12 час. активность амилазы в вышеуказанных тканях не изменяется через 14—24 час. После введения ГАМК в желточный мешок наблюдается следующее:

а) в желтке куриного эмбриона амилаза активируется с 12-го дня инкубации и доходит до своего максимума на 19-ый день инкубации;

б) активность амилазы желточного мешка увеличивается вдвое на 17—18 дни инкубации;

в) в норме печень эмбриона обладает более слабой амилазической активностью, чем вышеуказанные ткани. Под действием ГАМК активность фермента возрастает примерно вдвое;

г) в желчи куриного эмбриона амилазная активность выявляется на 17-ый день инкубации, под действием ГАМК активность фермента увеличивается примерно 5—6 раз. Это говорит о возможном участии ГАМК в синтезе фермента желчи у эмбрионов.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 18.V 1965 г.

Ռ. Ռ. ՆԵՐՍԻՍՅԱՆ

ԳԱՄԿԱ-ԱՄԻՆՈԿԱՐԱԳԱԹԹՎԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՎԻ ՍՍՂՄԻ ՏԱՐԲԵՐ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ԱՄԻԼՈԻԾԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Փորձերը զրվել են հավերի «Սպիտակ լեզոտն» ցեղի ինկուբացված ձվերի վրա: Ամիլազա ֆերմենտի ակտիվությունը որոշվել է ինչպես նորմալում, այնպես էլ դամմա-ամինոկարադաթթվի (ԳԱԿԹ) ազդեցության տակ, թե in vitro, թե in vivo փորձերում, հետևյալ հյուսվածքներում՝ դեղնուց, դեղնուցային պարկ, մկան, լյարդ և լեզի:

Ինկուբացիայի 11-րդ օրը հավի սաղմի դեղնուցային պարկի մեջ ներարկվել է 10 մկգ ԳԱԿԹ և նմուշները վերցրվել են նրա ներգործությունից 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24 ժամ հետո: In vitro փորձերում սեղանային խառնուրդին ավելացվել է 0,5—20 մկգ ԳԱԿԹ:

Ստացված տվյալներից պարզվել է հետևյալը՝

1. In vitro փորձերում ԳԱԿԹ-ն ոչ մի ազդեցություն չի գործում վերը նշված հյուսվածքների ամիլազա ֆերմենտի ակտիվության վրա:

2. 10 մկգ ԳԱԿԹ-ն (in vivo) վերը նշված հյուսվածքների ամիլազա ֆերմենտի ակտիվության վրա ազդում է միայն ներարկումից 14—24 ժ. հետո, ընդամենն նկատվում է հետևյալը.

ա) հավի սաղմի դեղնուցում ամիլազա ֆերմենտը ակտիվանում է 12-րդ օրից մինչև 19-րդ օրը.

բ) դեղնուցային պարկի ամիլազան ակտիվանում է կրկնակի անգամ ինկուբացիայի 17—18-րդ օրերի ընթացքում:

գ) նորմալում հավի սաղմի լյարդը օժտված է ավելի թույլ ամիլոլիտիկ ակտիվությամբ, քան վերը նշված հյուսվածքները: ԳԱԿԹ-ի ազդեցության տակ ֆերմենտի ակտիվությունը բարձրանում է մոտավորապես կրկնակի անգամ.

դ) Ինկուբացիայի 17-րդ օրից դրսևորվում է հավի սաղմի լեղու ամիլազային ակտիվությունը, որը մինչև ճտի դուրս գալը մոտավորապես 5—6 անգամ ակտիվանում է ԳԱԿԹ-ի ազդեցության տակ:

ե) ԳԱԿԹ-ն ինչպես in vivo, այնպես էլ in vitro փորձերում ոչ մի ազդեցություն չի գործում սաղմի մկանային հյուսվածքների ամիլազայի ակտիվության վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунягич Г. X. ДАН СССР, 132, 1431, 1960.
2. Buniatian H. Ch., Jn. studies in the Role of Gamma-aminobutyric acid in Carbohydrate metabolism. Armenian Academy Press, Erevan, 1961.
3. Мовсисян С. Г. Диссертация, Ереван, 1962.
4. Казарян Б. А. Диссертация, Ереван, 1963.
5. Нерсисян Р. Р. Известия АН АрмССР (биол. н.), XVIII, 3, 1965.
6. Smith B. and Roe J. J. Biol. Chem. 179, 53, 1949.
7. Адунц Г. Т. и Нерсисян Р. Р. Вопросы биохимии, 2, 153, 1961.
8. Moog F. Ann. N. I. Acad. Sci., 55, 57, 1952.
9. Адунц Г. Т., Нерсисян Р. Р. и Чалабян Г. А. Известия АН АрмССР (биол. н.), XIII, 10, 1960.
10. Адунц Г. Т. и Нерсисян Р. Р. Известия АН АрмССР (биол. н.), XIV, 8, 47, 1961.
11. Ли В. В. Труды Ин-та физиологии АН КазССР, 2, 91, 1959.
12. Gordon M. W., Roder M. J. Biol. Chem., 200, 859, 1953.