

Г. Т. АДУНЦ, И. Г. АСЛАНЯН

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗЫ
И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ТЕТРАМЕТАФОСФАТАЗЫ В РАЗВИТИИ

Полифосфаты являются важнейшими макроэргическими соединениями, участвующими как во всех обменных процессах организма, так и в осуществлении мышечной работы. При этом освобождающаяся химическая энергия превращается в механическую работу или аккумулируемая энергия с одной молекулы переносится на другую без промежуточного превращения в тепло. В этом отношении изучение полифосфатаз представляет определенный научный интерес.

Количество АТФ в развивающемся курином эмбрионе претерпевает определенное изменение. Работы К. А. Дреля [1] свидетельствуют о том, что на протяжении первых пяти-шести дней развития наблюдается уменьшение содержания АТФ как в целом яйце, так и во всех его элементах. После шестого дня содержание АТФ в эмбрионе и в целом яйце заметно возрастает. После 15 дня инкубации и до конца развития зародыша наблюдается постоянное снижение АТФ. Такое понижение автор объясняет расходом большого количества энергии эмбрионом на выполнение мышечных работ в конце инкубационного периода, чем и объясняется снижение общего содержания макроэргических фосфатных связей.

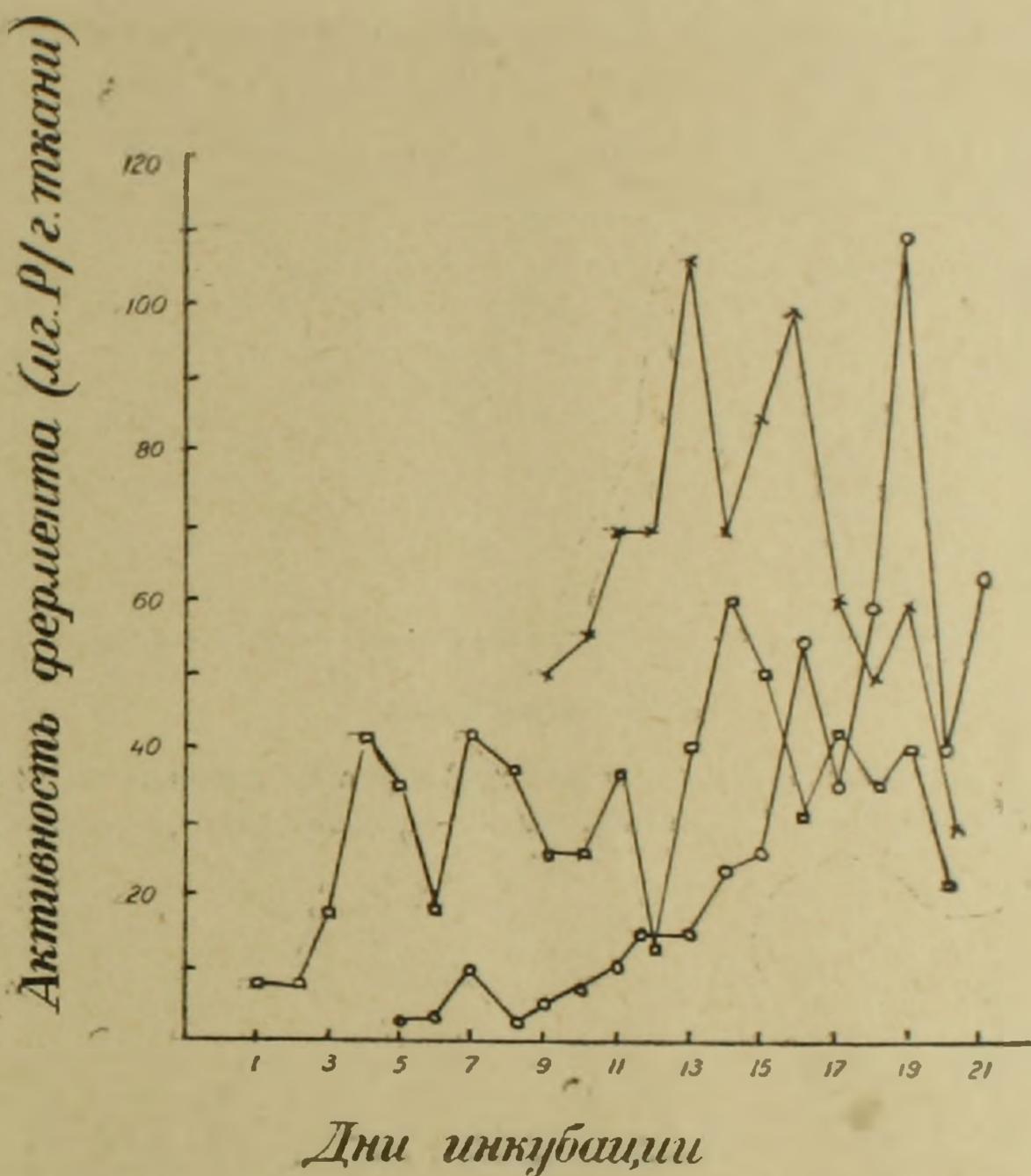
Из наших исследований выяснилось, что значительное количество АТФ выявляется на 13 день инкубации. Однако в первой половине развития эмбриона не удавалось обнаружить даже минимальных количеств АТФ. Необходимо отметить, что нами и Дрелем использованы разные методы определения АТФ. Дрель определял содержание АТФ по количеству фосфорной кислоты, образующейся при 10 минутном гидролизе, мы же осаждали АТФ уксуснокислой ртутью, после чего ставили на 7 минутный гидролиз. Данные, полученные после 13 дня инкубации, совпадают с результатами Дреля.

Опыты проводили на эмбрионах белых кур породы Леггорн. Активность АТФ-азы определяли методом Дю-боис-Поттера [2]. Гомогенаты готовили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер в среде CaCl_2 (для стабилизации фермента). Исследовали желток, желточный мешок и мышечную ткань куриного эмбриона в процессе развития.

Как показали наши исследования, активность АТФ-азы в желтке проявляется с первых же дней развития, возрастает к 4—5 дню и доходит до 40 мг%. В последующие дни наблюдается понижение активности фермента. На 17 день активность фермента достигает максимума

(60 мг%), а в конце инкубации наблюдается понижение активности АТФ-азы (кривая 1).

Желточный мешок обладает высокой АТФ-азной активностью. С 13 по 19 день инкубации активность фермента в желточном мешке колеблется в пределах 60—100 мг%. В последующие дни инкубации активность АТФ-азы заметно понижается (кривая 1).

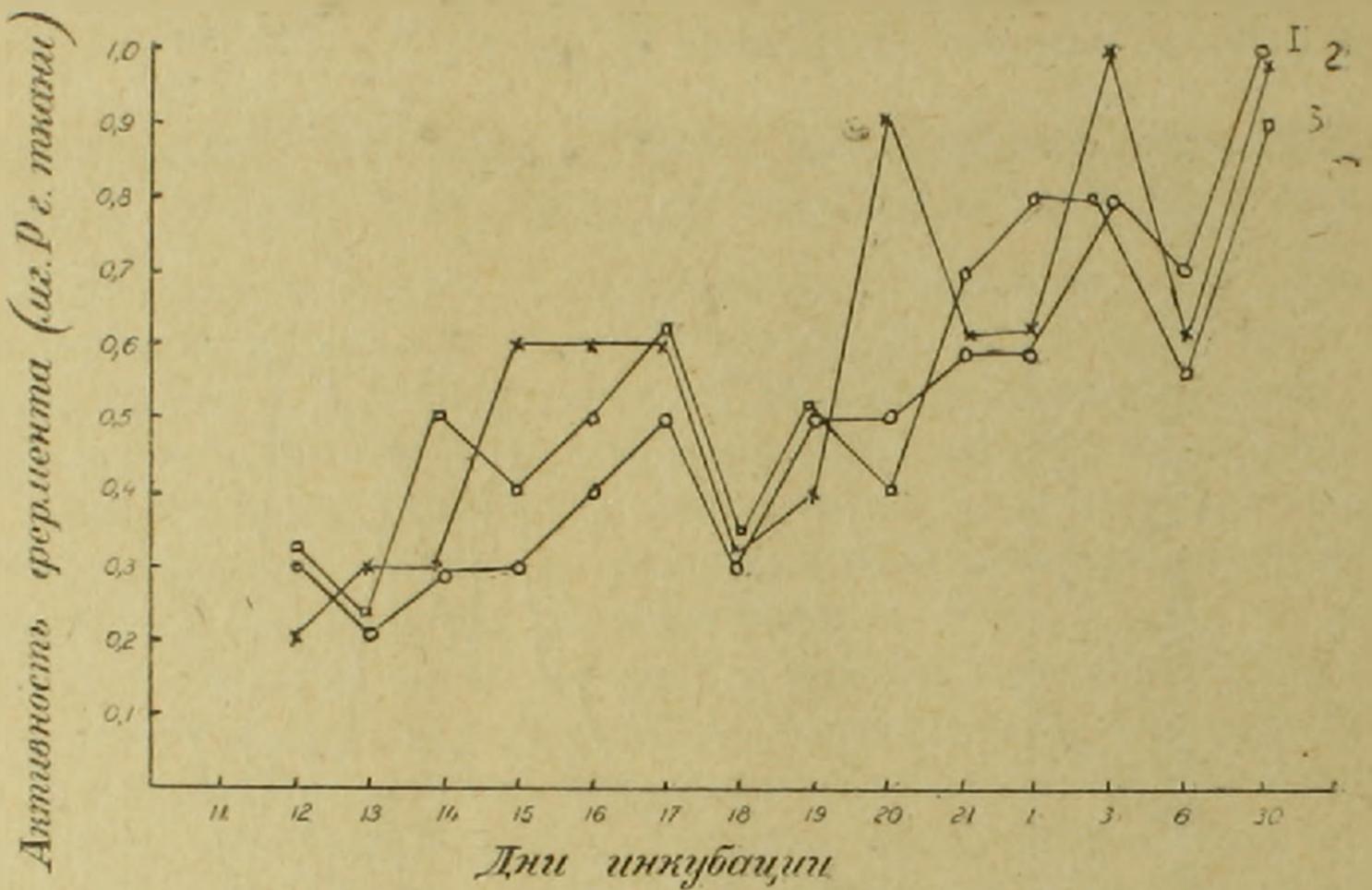


Кривая 1. Активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) в течение развития куриного эмбриона. 1○—желток, 2×—желточный мешок, 3□—зародыш.

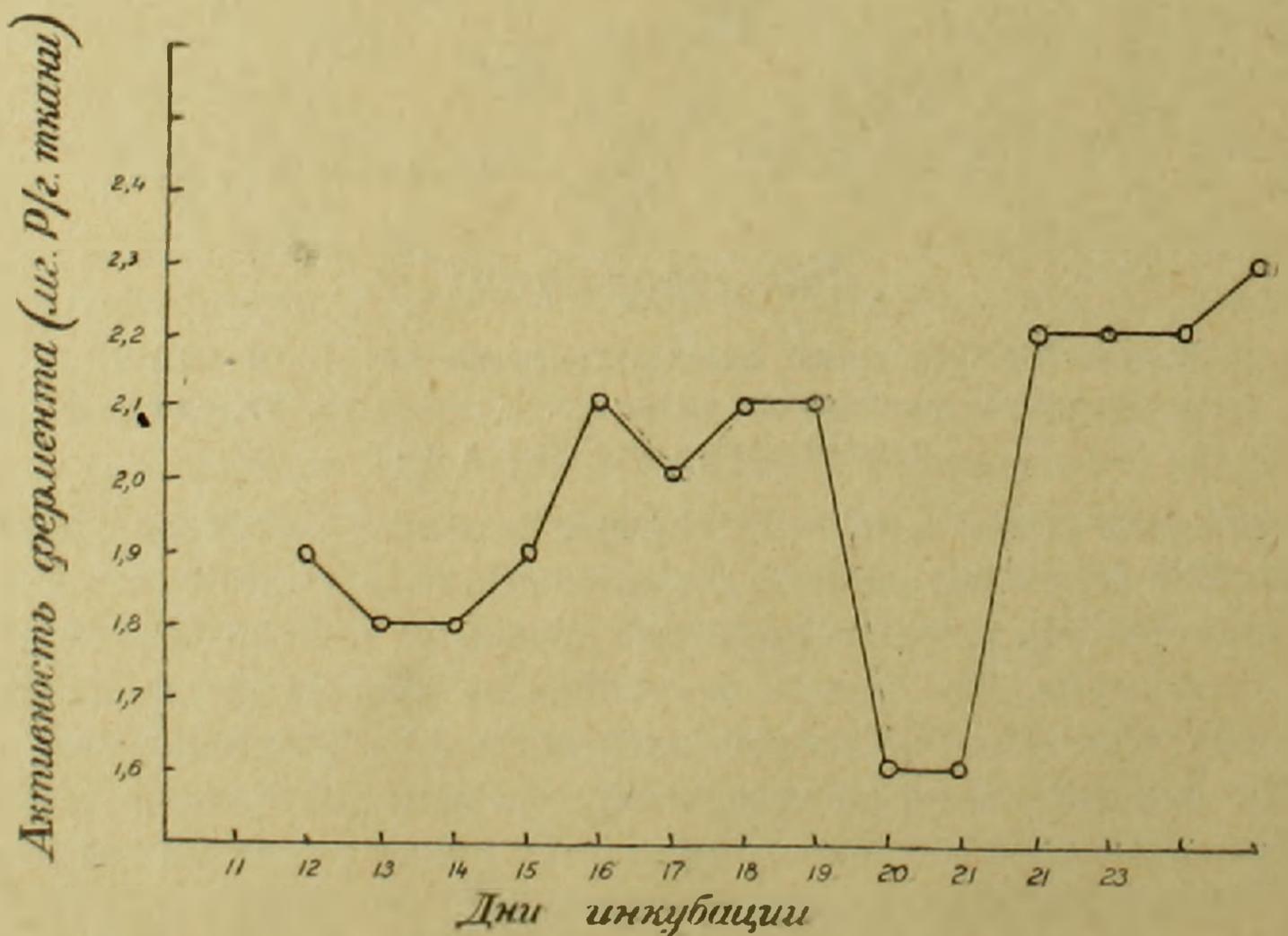
Мышечная ткань в первой половине развития эмбриона проявляет слабую АТФ-азную активность. В последующие дни активность фермента повышается параллельно развитию зародыша и на 12 день достигает своего максимума. На 20 день инкубации активность фермента падает (кривая 1). Как видно из кривой, активность АТФ-азы мышечной ткани в разные дни инкубации не подвергается резким колебаниям, возрастание ферментативной активности протекает плавно, чего нельзя сказать в отношении желтка и желточного мешка.

Из неорганических полифосфатаз определенный интерес представляют три- и тетраметафосфатазы. Из наших работ [3, 4] выяснилось, что куриный эмбрион обладает три- и тетраметафосфатазной активностью. В периоде развития зародыша активность фермента претерпевает определенные изменения.

Цель настоящей работы исследовать изменение тетраметафосфатазной активности в разных частях головного мозга и печени куриного эмбриона. Методика определения дана в нашей предыдущей работе [3, 4].
Различные отделы головного мозга куриного эмбриона: полушария,



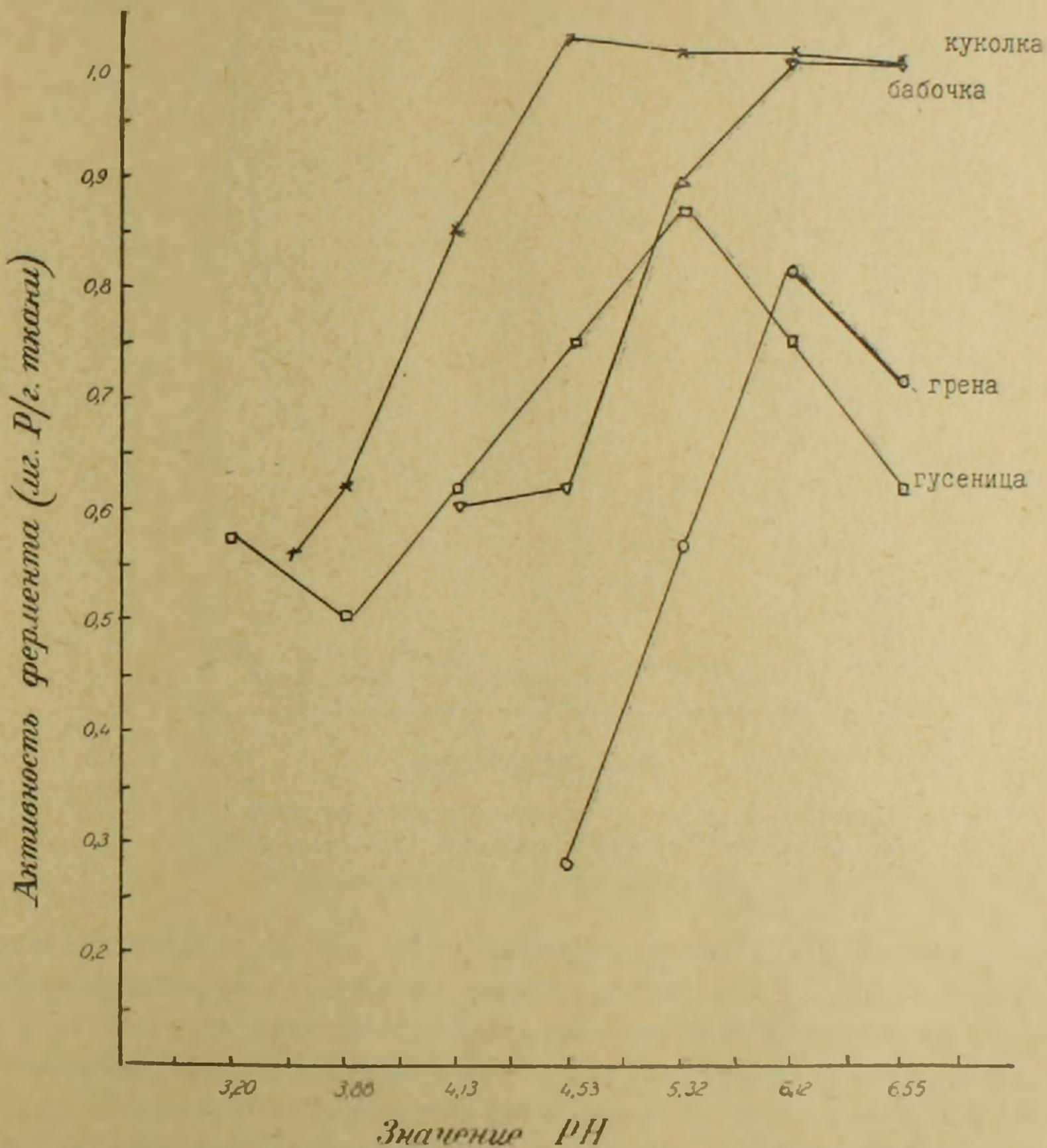
Кривая 2. Активность кислой тетраметафосфатазы в разных частях мозга куриного эмбриона. 1 — полушария, 2 — средний мозг, 3 — мозжечок.



Кривая 3. Активность кислой тетраметафосфатазы в печени куриного эмбриона.

средний мозг, мозжечок обладают разной тетраметафосфатазной активностью. Наибольшая активность (1,0 мг%) наблюдается в среднем мозге, наименьшая — в полушариях (0,2 мг%). В этом отношении мозжечок

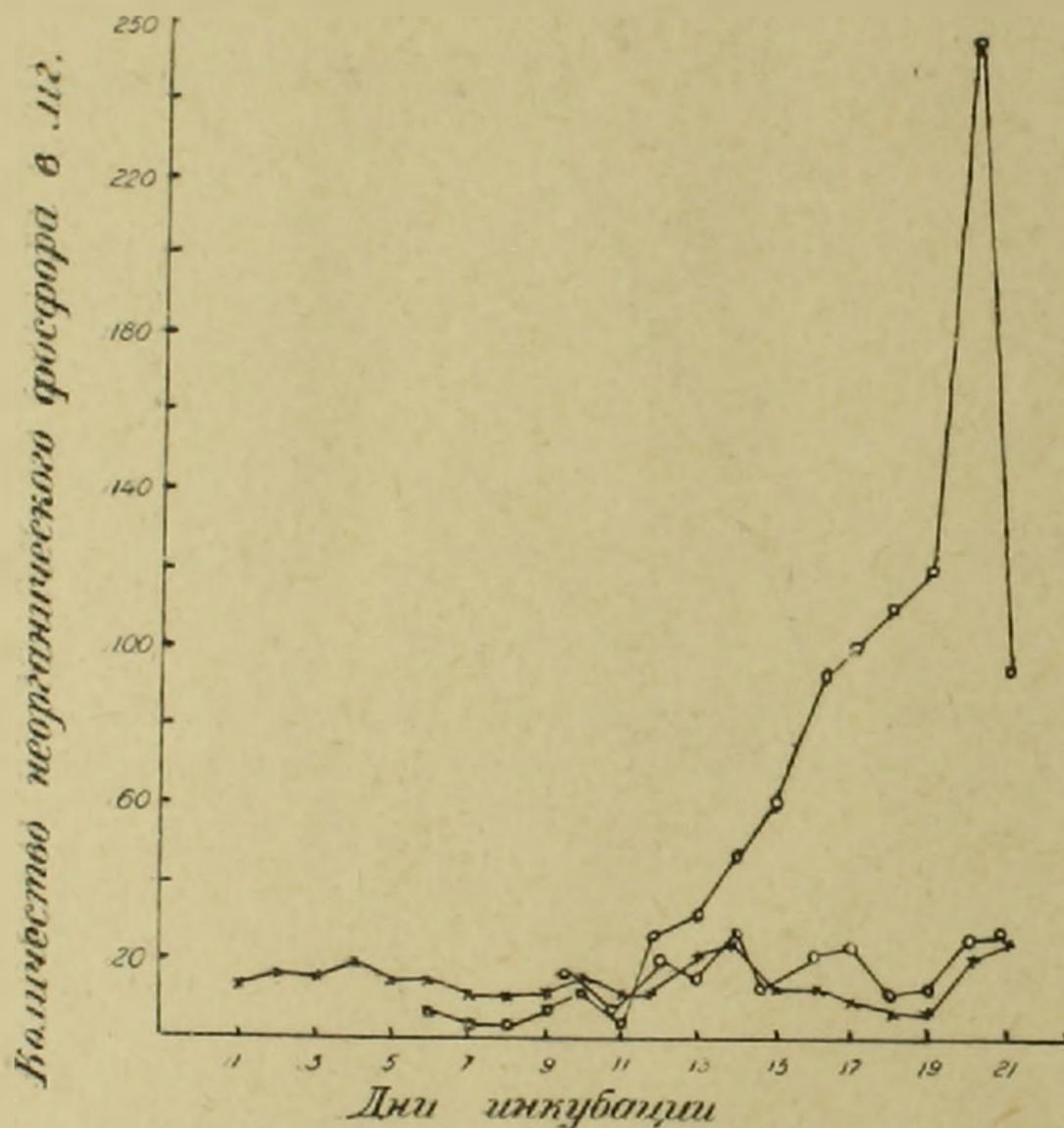
занимает промежуточное положение. У 6 дневных цыплят активность тетраметафосфатазы понижается во всех трех отделах мозга, доходя до 0,7; 0,6; 0,5 мг%, у 30-дневных цыплят снова повышается. В печени куриного эмбриона активность тетраметафосфатазы намного выше по сравнению с отдельными частями головного мозга. С 11 до 19 дня развития эмбриона активность фермента повышается, с 19 дня до вылупления цыпленка—резко понижается. От однодневных до 30 дневных цыплят активность тетраметафосфатазы повышается, доходя до своего максимума.



Кривая 4. Активность тетраметафосфатазы на разных стадиях развития тутового шелкопряда.

Неорганические полифосфаты, как макроэргические соединения, имеют большое значение для животных, стоящих на более низких ступенях эволюционного развития. В этом отношении представляет интерес тутовый шелкопряд. Как известно, тутовый шелкопряд при своем развитии проходит четыре стадии: стадию гусеницы, куколки, бабочки и грены.

Целью настоящей работы явилось также изучение активности три- и тетраметафосфатазы при разных значениях рН на всех стадиях развития тутового шелкопряда. Представляло интерес выяснить, при каком значении рН проявляется максимальная активность фермента в каждом отдельном цикле развития тутового шелкопряда. Выяснилось (кривая 4), что тутовый шелкопряд в своем развитии не выявляет триметафосфатазной активности. Поскольку тутовый шелкопряд обладает только тетраметафосфатазной активностью, а триметафосфатаза, как таковая, отсутствует в течение всего цикла развития, то это подтверж-

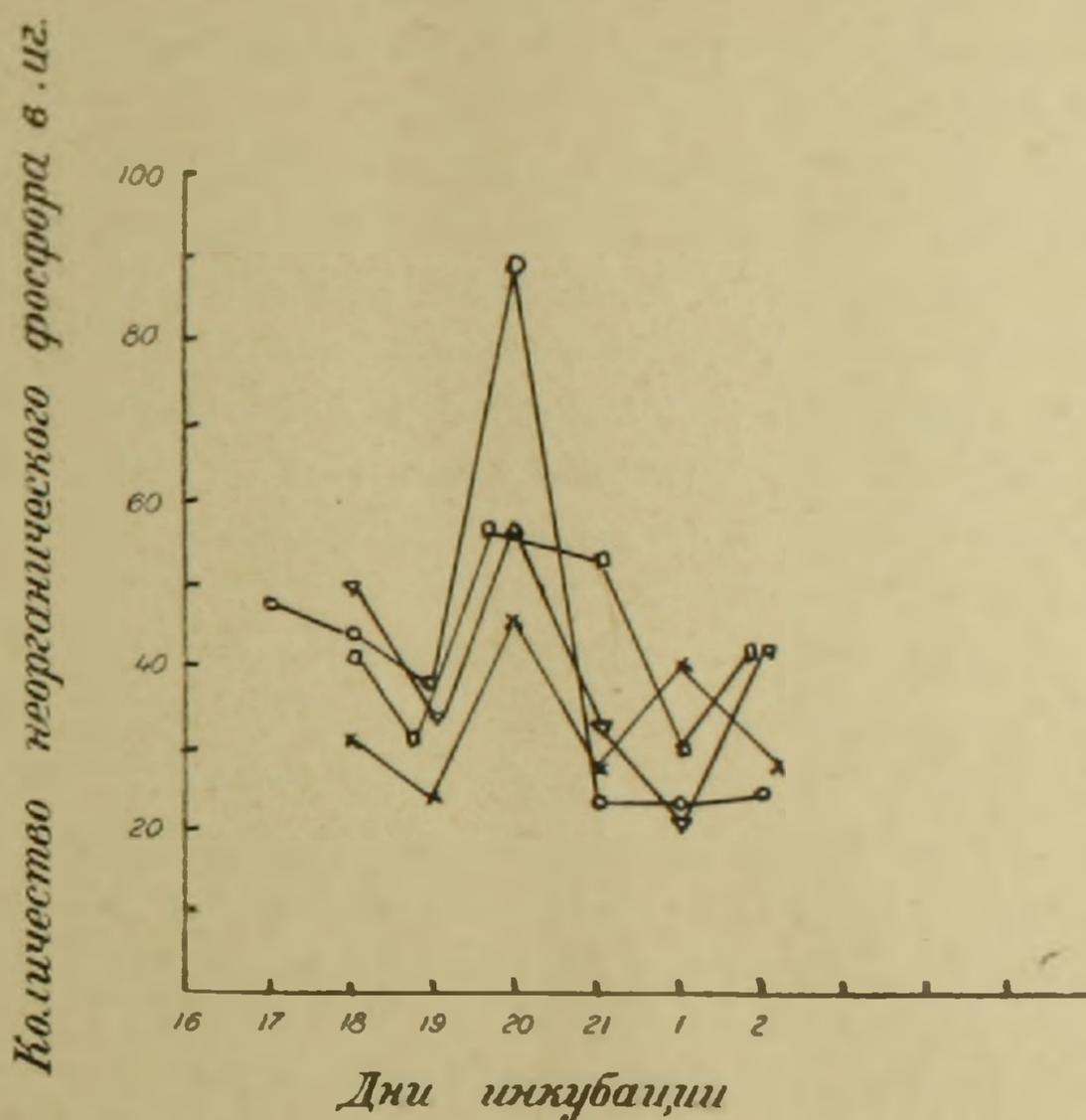


Кривая 5. Количество неорганического фосфора в течение развития куриного эмбриона. 1X — желток, 2O — желточный мешок, 3□ — зародыш.

дает существующее в литературе мнение [7], что неорганические полифосфаты (три и тетра.) расщепляются различными ферментными системами: тетраметафосфат-тетраметафосфатазой, триметафосфат-триметафосфатазой. Тетраметафосфатаза в разных стадиях развития тутового шелкопряда проявляет не одинаковую активность: отмечается последовательное повышение активности фермента, начиная от стадии куколки кончая стадией грены. Одновременно выяснилось, что наивысшая активность фермента в стадии куколки проявляется при рН=4,93—6,99, в стадии бабочки 6,12—6,99, в стадии гусеницы 5,32, в стадии грены 6,12. Такая зависимость максимально проявляемой ферментативной активности от рН среды, по-видимому, обусловлена определенными изменениями в структуре фермента при процессах метаморфоза.

Как из наших [5], так и из литературных данных [6] известно, что развивающийся куриный эмбрион обладает высокой фосфатазной ак-

тивностью. В результате дефосфорилирования фосфатазами от фосфорорганических соединений отщепляется неорганический ортофосфат. Отсюда и следует, что в тканях, обладающих высокой фосфатазной активностью, количество неорганического фосфора должно быть выше. Поэтому нами исследовалось изменение содержания неорганического фосфора в разных частях развивающегося эмбриона: в желтке, желточном мешке, в зародышевой ткани, печени, мозгу, сердце и желудке. В желтке и в желточном мешке содержание неорганического фосфора в течение всего периода развития куриного эмбриона неизменно остается на низком уровне. По-видимому, в течение развития эмбриона в желтке не



Кривая 6. Количество неорганического фосфора в течение развития куриного эмбриона. 1 — Δ печень, 2 — X мозг, 3 — O сердце, 4 — □ желудок.

происходит процессов фосфорилирования и дефосфорилирования и, как показали наши исследования, желток не обладает фосфатазной, фосфорилазной активностью и не имеет место возрастание неорганического фосфора. В зародыше до 11 дня развития также не наблюдается определенных изменений. С 12 дня инкубации количество неорганического фосфора увеличивается до 20 дня. В период вылупления цыпленка содержание последнего резко падает (кривая 5). В печени, мозге, сердце и в желудке содержание неорганического фосфора с 19 дня развития эмбриона повышается и доходит до своего максимума на 20 день инкубации. На 21 день количество последнего понижается, оставаясь у однодневных цыплят на низком уровне. Наибольшее содержание неорганического фосфора наблюдается в сердце, наименьшее — в желудке. Печень и мозг занимают промежуточное положение (кривая 6).

Գ. Ք. ԱՓՈՒՆՑ, Ի. Գ. ԱՍԼԱՆՅԱՆ

ԱՌՆՆՈՋԻՆՏՐԻՖՈՍՖԱՏԱԶԱՅԻ ԵՎ ԱՆՕՐԳԱՆԱԿԱՆ ՏԵՏՐԱՄԵՏԱՖՈՍՖԱՏԱ-
ԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ՄԵՋ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր փորձերը դրվել են լեզորն ցեղի հավերի ինկուբացվող ձկների վրա: Ադենոզինտրիֆոսֆատազայի ակտիվությունը հավի զարգացող սաղմում ենթարկվում է մի շարք փոփոխությունների: Ադենոզինտրիֆոսֆատազայի (ԱՏՓ-ազայի) ակտիվությունը հանդես է գալիս դեղնուցում սաղմի զարգացման առաջին օրերից սկսած և 4—5-րդ օրերում հասնում է 40 մգ⁰%-ի: Հետագա օրերի ընթացքում նկատվում է ֆերմենտի ակտիվության նվազում, իսկ 17-րդ օրում այն հասնում է մաքսիմումի:

Դեղնուցային պարկն օժտված է բարձր ԱՏՓ-ազային ակտիվությամբ, ինկուբացիայի 13-րդ օրից մինչև 19-րդ օրը ֆերմենտի ակտիվությունը ենթարկվում է մի շարք փոփոխությունների, տատանվելով 60—100 մգ⁰%-ի սահմաններում: Սաղմի զարգացման վերջին օրերին ֆերմենտի ակտիվությունը նկատելիորեն նվազում է: Սաղմնային հյուսվածքում ֆերմենտի ակտիվությունը սաղմի զարգացման զուգընթաց բարձրանում է, 12-րդ օրում հասնելով իր մաքսիմումին, իսկ սաղմի զարգացման վերջում ֆերմենտի ակտիվությունը նվազում է:

Տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը հավի սաղմի զարգացման տարբեր էտապներում ենթարկվում է մի շարք փոփոխությունների: Լյարդը զարգացման 12-րդ օրից սկսած ցուցաբերում է ֆերմենտի մեծ ակտիվություն, 19—20-րդ օրերում ֆերմենտի ակտիվությունը ճնշվում է, իսկ 1—30 օրական ձտերի մոտ նորից բարձրանում է: Տետրամետաֆոսֆատազային մեծ ակտիվությամբ է օժտված միջին ուղեղը, թույլ ակտիվությամբ՝ ուղեղի կիսագնդերը, իսկ ուղեղիկը բռնում է միջին տեղը:

Տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը շերամի որդի զարգացման տարբեր էտապներում տարբեր է: Ֆերմենտը շերամի որդի զարգացման հարսնյակ ստադիայում իր մաքսիմալ ակտիվությունը ցուցաբերում է pH=4,93—6,99-ի, թիթեռի ստադիայում՝ pH=6,12—6,99-ի, թրթուրի ստադիայում՝ pH=5,32-ի, իսկ շերամի ձվերի ստադիայում՝ pH=6,12-ի դեպքում: Ֆերմենտատիվ ակտիվության առավելագույն չափով արտահայտվող այդպիսի կախումը միջավայրի pH-ից՝ ըստ երևույթին պայմանավորված է կերպարվարության պրոցեսների ժամանակ ֆերմենտի կառուցվածքում տեղի ունեցող որոշակի փոփոխություններով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дрель К. А. Укр. биох. журнал 6, 871, 1961.
2. Du-Bois K. P. and Potter V. K. J. Biol. chem. 150, 185, 1943.
3. Бунятян Г. Х., Адуни Г. Т. Вопросы биохимии, т. I, 149, Ереван, 1960.
4. Адуни Г. Т., Асланян И. Г. Известия АН Арм. ССР (биол. науки), т. XIV, 4, 1961.
5. Адуни Г. Т. Вопросы биохимии, т. 2, 139, Ереван, 1961.
6. Moog F. J., Anat. Rec. 113, 96, 1952.
7. Berg G. J., Histochem. Cytochem 8, 92, 1960.