

УДК 577.1:577.3

Г. А. ГЕВОРКЯН, Р. А. СТЕПАНЯН, А. А. СИМОНЯН, Л. О. ВОСКАНЯН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЫХАТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ И ДИНАМИКИ ОБРАЗОВАНИЯ АДЕНИН- НУКЛЕОТИДОВ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ КУР В ОНТОГЕНЕЗЕ

Исследовались дыхательный контроль и динамика образования и распада аденин-нуклеотидов и креатинфосфата в сердечной мышце кур в онтогенезе. Показан высокий уровень дыхательного контроля в изолированных митохондриях сердца в различные периоды онтогенетического развития кур.

В нашей предыдущей работе [7] было показано изменение динамики окислительного фосфорилирования (ОФ) в изолированных митохондриях сердца кур в различные периоды их онтогенетического развития. Кроме того, нами проводились эксперименты для изучения различных ферментов—АТФ-азы, сукцинатдегидрогеназы и цитохром-оксидазы в ткани сердца [6]. Было показано, что в последнем периоде эмбрионального развития кур окислительно-восстановительные процессы в миокарде значительно усиливаются, и создаются необходимые предпосылки для нормального развития и вылупления цыпленка из яйца.

В настоящей работе мы задались целью в сравнительном аспекте изучить дыхательный контроль (ДК), а также динамику образования и распада адениннуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ) и креатинфосфата (КФ) в сердце кур в онтогенезе.

Материал и методика. Эксперименты были проведены на 15- и 20-дневных эмбрионах, 5-дневных цыплятах и половозрелых курах белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по дням инкубации.

Методы изолирования интактных митохондрий сердечной мышцы, определения их дыхания и ДК, выявления содержания адениннуклеотидов и КФ в ткани подробно приведены в наших предыдущих работах [4, 5, 7]. Важным критерием полноценности митохондрий является присутствие в них фосфоакцепторного контроля дыхания, т. е. зависимости скорости окисления субстратов от наличия акцептора АДФ. Величина ДК определяется по соотношению скорости дыхания в состояниях 3 и 4 [12]. Нами она определялась по отношению количества поглощенного в присутствии АДФ кислорода к количеству кислорода без добавления АДФ.

Полученные данные обработаны статистически [2].

Результаты и обсуждение. При определении величины ДК в изолированных митохондриях сердца в качестве субстрата мы использовали α -кетоглутарат, глутамат и сукцинат. Результаты опытов, приведенные в табл. 1, показывают, что в отсутствие АДФ дыхание митохондрий сердечной мышцы в различные дни развития куриного эмбри-

Таблица 1

Дыхательный контроль изолированных митохондрий сердца кур в онтогенезе при окислении α -кетоглутарата (0 в мкатамах/мг белка/45 мин), $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Полная инкубационная смесь	Без АДФ	ДК
15	$2,66 \pm 0,13$	$1,65 \pm 0,04$	$1,61 \pm 0,09$
20	$3,58 \pm 0,13$	$2,13 \pm 0,12$	$1,69 \pm 0,12$
5-дневные цыплята	$3,56 \pm 0,17$	$2,56 \pm 0,15$	$1,49 \pm 0,14$
Взрослые куры	$5,50 \pm 0,39$	$3,49 \pm 0,34$	$1,58 \pm 0,06$

Средние данные 4 опытов.

она заметно понижается по сравнению с контролем (субстрат— α -кетоглутарат). При этом величина ДК митохондрий в различные дни как эмбрионального так и постэмбрионального развития почти не меняется.

При окислении глутамата величина ДК по сравнению с α -кетоглутаратом больше (табл. 2). Интересно отметить, что в эмбриональном периоде она не меняется и несколько увеличивается после вылупления.

Таблица 2

Дыхательный контроль изолированных митохондрий сердца кур в онтогенезе при окислении сукцината (0 в мкатамах/мг белка/45 мин), $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Полная инкубационная смесь	Без АДФ	ДК
15	$2,92 \pm 0,02$	$1,51 \pm 0,10$	$1,93 \pm 0,19$
20	$3,15 \pm 0,06$	$1,74 \pm 0,08$	$1,82 \pm 0,08$
5-дневные цыплята	$4,10 \pm 0,20$	$1,89 \pm 0,04$	$2,18 \pm 0,13$
Взрослые куры	$7,32 \pm 0,94$	$2,75 \pm 0,57$	$2,66 \pm 0,09$

Средние данные 4 опытов.

При использовании сукцината в качестве субстрата окисления процесс поглощения кислорода митохондриями сердца без АДФ в меньшей степени подавляется по сравнению с α -кетоглутаратом и глутаматом (табл. 3). Соответственно уменьшается и величина ДК. При этом в различные дни эмбрионального и постэмбрионального развития эта величина почти не меняется, она заметно снижается у половозрелых кур.

Таким образом, при исключении из реакционной смеси АДФ дыхание в изолированных митохондриях сердца кур в различные периоды их онтогенетического развития заметно подавляется. Интенсивность этого процесса при использовании различных субстратов окисления не одинаковая. Без АДФ поглощение кислорода митохондриями в большей степени подавляется при добавлении глутамата, в меньшей—сукцината.

ДК определяет степень сопряжения ОФ в митохондриальном препарате и отражает способность дыхательной цепи к переходу в отрегу-

Таблица 3
Дыхательный контроль изолированных митохондрий сердца кур в онтогенезе
при окислении сукцината (0 в мкатамах/мг белка/45 мин) $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Полная инкубационная смесь	Без АДФ	ДК
15	$6,64 \pm 0,69$ (20)	$5,43 \pm 0,49$ (20)	$1,22 \pm 0,04$ (20)
20	$7,29 \pm 0,39$ (14)	$5,72 \pm 0,57$ (14)	$1,27 \pm 0,03$ (14)
5-дневные цыплята	$6,89 \pm 0,14$ (11)	$6,85 \pm 0,21$ (11)	$1,01 \pm 0,05$ (11)
Взрослые куры	$3,36 \pm 0,65$ (6)	$4,74 \pm 0,31$ (6)	$0,70 \pm 0,07$ (6)

В скобках число опытов.

лированное состояние, характеризующееся высокой скоростью дыхания и образования богатых энергией соединений. По данным Туракулова и сотр. [9], низкие значения ДК в митохондриях печени 9—10-дневных эмбрионов свидетельствуют о малой сопряженности процессов дыхания и фосфорилирования в ранний период развития кур. На последующих стадиях развития, с образованием богатых энергией соединений, сопряженность цепи переноса электронов увеличивается. Кудзина и Евтодпенко [3] наблюдали снижение ДК и величины H^+ / O , эквивалентной P/O , в митохондриях печени эмбрионов морской свинки, что, как они предполагают, связано с отвлечением части АТФ на синтетические процессы. Скулачевым [8] отмечено разобщение окислительного фосфорилирования в растущих тканях в период активации митотической деятельности, связанное, по его мнению, с увеличением доли свободного окисления.

Полученные нами результаты определения ДК в митохондриях сердечной мышцы кур в эмбриональном и постэмбриональном периодах развития полностью согласуются с этими данными.

В механизме ДК важная роль отводится ионам магния [10, 12]. Сложный характер взаимосвязи между концентрацией ионов магния и величиной ДК показан в работе Бауэра и сотр. [11]. В наших опытах высокий уровень ДК в митохондриях сердечной мышцы кур свидетельствует о прочном сопряжении дыхания и фосфорилирования в изучаемые нами периоды онтогенетического развития.

В следующей серии опытов нами изучалось количественное изменение содержания адениннуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ) в сердечной мышце кур в онтогенезе. Результаты опытов, приведенные в табл. 4, показывают, что содержание АТФ в ткани сердца 15-дневных эмбрионов несколько больше, чем у 20-дневных. Дальнейшее увеличение содержания АТФ наблюдается у 5-дневных цыплят, этот уровень сокращается у половозрелых кур. По ходу развития эмбриона аналогичным изменениям подвергается также содержание АДФ.

Содержание АМФ в сердце кур в те же сроки прогрессивно увели-

Таблица 4

Изменение содержания адениннуклеотидов (в мкмоль/г свежей ткани)
в сердечной мышце кур в онтогенезе, $M \pm m$

Дни развития эмбриона	АТФ	АДФ	АМФ	Сумма	АТФ/АДФ
15	$1,17 \pm 0,02$ (13)	$0,62 \pm 0,02$ (11)	$0,19 \pm 0,009$ (4)	1,98	1,89
20	$0,99 \pm 0,06$ (8)	$0,59 \pm 0,02$ (7)	$0,32 \pm 0,005$ (6)	1,90	1,68
5-дневные цыплята	$1,26 \pm 0,03$ (6)	$1,07 \pm 0,03$ (10)	$0,33 \pm 0,01$ (6)	2,66	1,18
Взрослые куры	$1,26 \pm 0,04$ (6)	$1,18 \pm 0,06$ (6)	$0,47 \pm 0,007$ (6)	2,91	1,07

чивается—с 0,19 мкмоль/г свежей ткани у 15-дневных эмбрионов до 0,47 мкмоль у взрослых кур.

Результаты исследований показали, что сумма трех адениннуклеотидов в эмбриональный период почти не меняется, составляя у 15-дневных эмбрионов 1,98, а у 20-дневных—1,90 мкмоль/г свежей ткани. Однако в сердце 5-дневных цыплят этот показатель резко повышается, достигая 2,66, а у взрослых кур—до 2,91 мкмоль/г ткани.

Как показали полученные данные, соотношение АТФ/АДФ (табл. 4) постепенно уменьшается по ходу развития куриного эмбриона: на 15-й день эмбрионального развития оно составляло 1,89, однако у 5-дневных цыплят снизилось до 1,18, а у взрослых кур—до 1,07.

Исходя из сказанного, можно заключить, что по ходу развития куриного эмбриона содержание АТФ в сердце 20-дневных эмбрионов несколько уменьшается по сравнению с 15-дневными, а у 5-дневных цыплят и взрослых кур—увеличивается. Эти данные говорят о том, что, несмотря на активный синтез, АТФ в сердце эмбриона подвергается одновременно интенсивному распаду. В этом процессе важную роль играет АТФ-азная активность [6]. В опытах Дреля [1] с 15-го дня и до конца развития наблюдалось постоянное снижение этого показателя в целом яйце и эмбрионе, который к этому времени составляет основную массу яйца. В этом периоде эмбрион расходует значительное количество энергии на выполнение мышечной работы, чем, возможно, и объясняется снижение общего содержания макроэргических соединений. Несмотря на то, что содержание АТФ в целом организме зародыша снижается, уровень его в мозгу, как показали наши предыдущие исследования [5], последовательно возрастает. В то же время, как явствует из результатов приведенных опытов, в период вылупления содержание АТФ в сердечной мышце несколько уменьшается по сравнению с ранним эмбриогенезом.

Результаты последней серии опытов, приведенные в табл. 5, показывают количественное изменение КФ в сердечной мышце при онтогенетическом развитии кур. Как видно из этих данных, между 15 и 20-ым днем эмбрионального периода содержание КФ остается неизменным (3,51 мкмоль/г свежей ткани), однако у 5-дневных цыплят—оно замет-

но падает, составляя 3,07 мкмоль/г свежей ткани. У взрослых же кур количество КФ минимальное (2,69 мкмоль).

Т а б л и ц а 5

Изменение содержания креатинфосфата
(в мкмоль/г свежей ткани) в сердечной
мышце кур в онтогенезе

Дни развития эмбриона	КФ
15	3,51 $\pm$ 0,02 (8)
20	3,51 $\pm$ 0,02 (8)
5-дневные цыплята	3,07 $\pm$ 0,19 (12)
Взрослые куры	2,69 $\pm$ 0,19 (12)

Как свидетельствуют полученные данные, в раннем постэмбриональном периоде развития энергия, заключенная в КФ, весьма необходима для энергетических затрат развивающегося цыпленка.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 24.XI 1975 г.

Գ. Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ռ. Ա. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Լ. Հ. ՈՍԿԱՆՅԱՆ

ՇՆՁԱՌԱԿԱՆ ԿՈՆՏՐՈՒԻ ԵՎ ԱԴԵՆՆԵՆՈՒԿԼԻՈՏԻԴԵՆԵՐԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՅԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՎԵՐԻ ՍՐՏԱՄՍԿԱՆՈՒՄ՝ ՕՆԹՈԳԵՆԵԶՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել են շնչառական կոնտրոլը և ադենիննուկլիեոտիդների ու կրեատինֆոսֆատի առաջացման ու քայքայման դինամիկան հավերի սրտամկանում օնթոգենետիկ զարգացման տարբեր շրջաններում (15, 20 օրական սաղմ, 5 օրական ճուռ և անուստում հավ)։ Ցույց է տրվել, որ սրտամկանի միտոքոնդրիաններում շնչառական կոնտրոլը (օքսիդացման սուբստրատ՝ սուկցինատ, գլուտամատ և α -կետոգլուտարատ) ինչպես սաղմնային, այնպես էլ հետսաղմնային զարգացման տարբեր շրջաններում բավականին բարձր է, որը վկայում է շնչառության և ֆոսֆորիլացման սերտ կապի մասին։

Ապացուցվել է, որ ԱՏՖ-ի պարունակությունը 5 օրական ճտերի սրտամկանում, 15 և 20 օրական սաղմերի համեմատությամբ, որոշ չափով բարձր է։ Սաղմի զարգացման ընթացքում ԱՏՖ/ԱԴՖ-ի գործակիցը աստիճանաբար փոքրանում է։ ԱՏՖ-ի, ԱԴՖ-ի և ԱՄՖ-ի գումարային պարունակությունը սրտամկանում հաստատուն է սաղմնային զարգացման ընթացքում և մեծանում է միայն ձվից դուրս գալուց հետո՝ 5 օրական ճտերի հյուսվածքում։ Կրեատինֆոսֆատի քանակությունը 5 օրական ճտերի հյուսվածքում, սաղմերի համեմատությամբ, որոշ չափով պակասում է։

Բերված տվյալները հաստատում են նախկինում մեր կատարած հետազոտությունների արդյունքներն այն մասին, որ հավի սաղմնային զարգացման վերջում և վաղ հետսաղմնային շրջանում հյուսվածքներում օքսիդո-

վերականգնման պրոցեսները արագանում են, նպաստում օրգանիզմի նորմալ զարգացմանը և ձվից ճտի դուրս գալուն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дрель К. А. Укр. биохим. журн., 33, 6, 871, 1961.
2. Закутинский Д. И., Селиванова Л. И. Биологическая оценка препаратов для профилактики и лечения лучевой болезни. Медгиз, 97, 1960.
3. Кудзина Л. Ю., Евтодженко Ю. В. Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция. М., 93—97, 1968.
4. Симосян А. А. Некоторые стороны энергетического обмена в онтогенезе кур. Ереван, 1970.
5. Симосян А. А. Докт. дисс., Ереван, 1973.
6. Симосян А. А., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. ДАН АрмССР, 1, 46, 1976.
7. Симосян А. А., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. Биол. журн. Армении, 29, 2, 97, 1976.
8. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. М., 1962.
9. Туракулов Я. Х., Хамидов Д. Х., Мирахмедов А. К., Львович Н. А., Атабеков А. Ю. Онтогенез, 4, 4, 394, 1973.
10. Чанс В. Регуляция клеточного обмена. 111, М., 1962.
11. Bauer C., Von Korff R. Blochim. et Biophys. acta, 131, 280, 1967.
12. Chance B., Williams G. Advances Enzymol., 17, 65, 1956.