

## ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ АТФазы В МОЗГЕ КУР ПРИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ

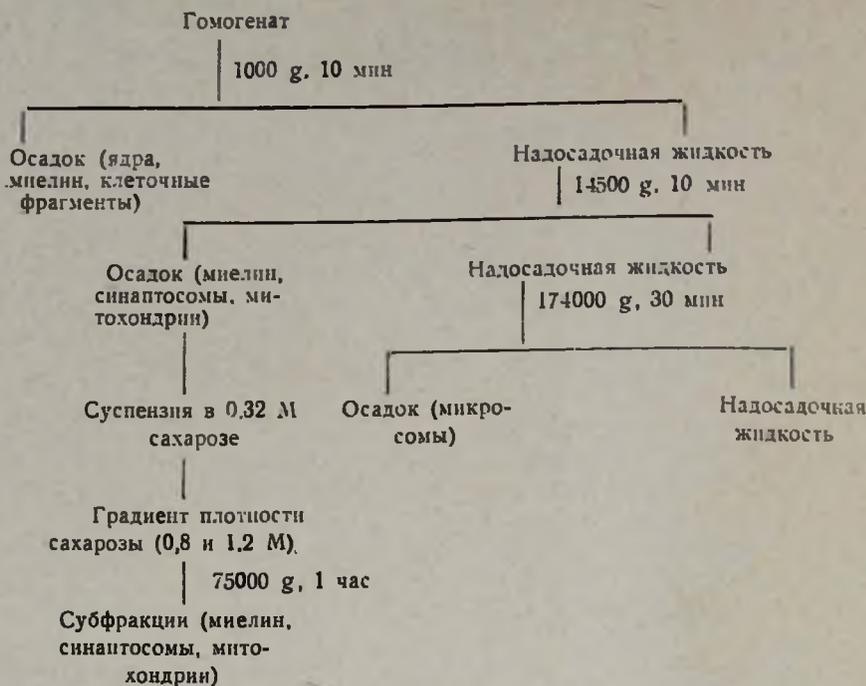
А. А. СИМОНЯН, Р. А. СТЕПАНЯН, Л. О. ВОСКАНЯН

Приводятся результаты исследований распределения АТФазной активности в различных структурных организациях мозга куриного эмбриона в ходе развития. Выявлены закономерности локализации различных АТФаз в этих субклеточных частях.

Для познания закономерностей энергетических процессов в развивающемся мозге необходимо изучать биохимические свойства чистых митохондрий (как энергетических центров клетки) и других субклеточных частиц. Данные литературы по этому вопросу крайне скудны, несистематичны и касаются в основном суммарной митохондриальной фракции, выделенной из целого мозга. В наших предыдущих работах [1—3] показано, что в суммарной митохондриальной фракции, выделенной из головного мозга, АТФазная активность начиная с начала плодного периода (с 13-го дня) развития и до вылупления цыпленка постепенно возрастает. Повышенная активность фермента обнаруживается также у 5-дневных цыплят. У половозрелых кур активность фермента несколько падает. Аналогичным изменениям динамика активности фермента подвергается также в отдельных субмитохондриальных фракциях, выделенных из суммарной митохондриальной фракции методом центрифугирования в растворе 0,25 М сахарозы [2]. В литературе имеются также сведения о том, что АТФаза в клетках куриного эмбриона локализована в основном в цитоплазматических гранулах [4]. Однако в процессе развития имеет место перераспределение активности фермента между растворимой фракцией и гранулами (в последних концентрация его несколько возрастает).

В данной работе мы изучали изменение внутриклеточной локализации АТФазной активности в мозге кур при онтогенетическом развитии.

*Материал и методика.* Опыты ставили на курах белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по дням инкубации. Исследовались 15-, 20-дневные эмбрионы, 5-дневные цыплята и половозрелые куры (для сравнения с эмбрионами). Гомогенизацию ткани мозга проводили в гомогенизаторе типа Поттера [5] с тефлоновым пестиком, время гомогенизации 30 сек. Отдельные субклеточные фракции выделяли в градиенте плотности сахарозы в препаративной ультрацентрифуге типа УЦП-60 по следующей схеме.



Об активности фермента судили по нарастанию неорганического фосфата в следующей инкубационной среде (в миллимолях):  $MgCl_2$ —10 (или  $KCl$ —120,  $NaCl$ —100,  $CaCl_2$ —20), трис- $HCl$  буфер—25 и 1 мг АТФ (Sigma Chem. Co). Общий объем смеси—1 мл, рН 7,4. Время инкубации—30 мин, температура—26°.

Неорганический фосфат определяли по Лоури и Лопеса [6] в модификации Пелла-Лохмена [7]. Данные, полученные в опытах, пересчитывали на мг белка, который определяли по Лоури и сотр. [8].

*Результаты и обсуждение.* Результаты исследований показали, что в контрольных опытах (без добавления отдельных ионов) в чистых митохондриях ткани мозга, выделенных в градиенте плотности сахарозы, у 20-дневных эмбрионов активность АТФазы возрастала до 70% по сравнению с 15-дневными, но оставалась почти на таком же уровне у 5-дневных цыплят (рис. 1). Во всех стадиях развития по сравнению с контролем активность фермента в присутствии ионов  $Mg$  достоверно ( $P < 0,001$ ) возрастала.

Высокой  $Na^+$ -,  $K^+$ -АТФазной активностью (активность фермента, полученная при добавлении ионов  $Mg$ ,  $Na$ ,  $K$  с вычетом величины активности в присутствии только  $Mg^{2+}$ ) обладают митохондрии 20-дневных, затем 15-дневных эмбрионов ( $P < 0,001$ ). Параллельно с миелинизацией и завершением становления отдельных гранул ткани мозга у 5-дневных цыплят и зрелых кур активность  $Na^+$ -,  $K^+$ -АТФазы в митохондриях почти полностью исчезала. Как показывают результаты наших исследований, в эмбриональный период развития митохондрии ткани мозга, выделенные в градиенте плотности сахарозы, достоверно обладают  $Na^+$ -,  $K^+$ -АТФазной активностью. По-видимому, в этот пе-

риод этой АТФазе можно приписать важную роль в функциональной деятельности митохондриальных гранул и ткани мозга в целом.

Представляет интерес исследование АТФазной активности в синаптосомальной фракции мозга в ходе онтогенетического развития. Данные, приведенные на рис. 2, показывают, что в синаптосомальной фрак-

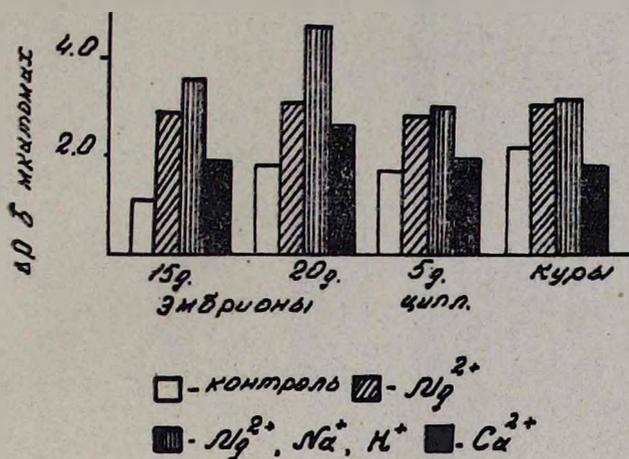


Рис. 1. Активность различных АТФаз в митохондриях мозга кур в онтогенезе.

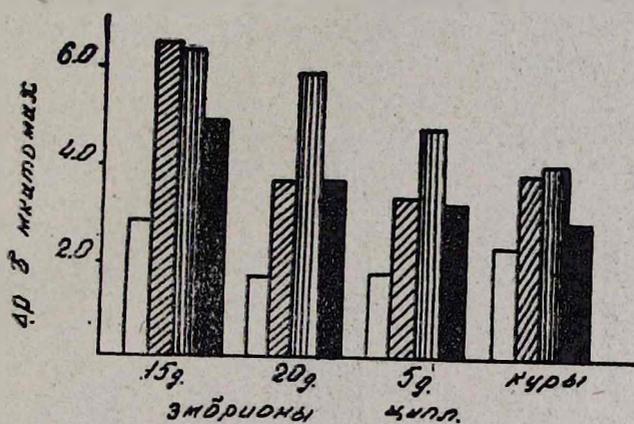


Рис. 2. Активность различных АТФаз в синаптосомах мозга кур в онтогенезе.

ции повышенная активность различных АТФаз наблюдается в ранний эмбриональный период (у 15-дневных эмбрионов). У 20-дневных, по сравнению с 15-дневными, активность фермента наглядно снижается, (в большей степени активность Mg<sup>2+</sup>-АТФазы). Дальнейшее падение ее наблюдается в синаптосомальной фракции у 5-дневных цыплят. Она остается на том же уровне у зрелых птиц.

Как показали результаты наших исследований (рис. 3), по сравнению с отдельными субклеточными фракциями мозга самой высокой активностью АТФазы обладает миелин. Если рассмотреть активность

фермента в динамике на отдельных стадиях эмбрионального и постэмбрионального развития в миелине, то можно заметить, что по сравнению с 15-дневными, у 20-дневных эмбрионов и 5-дневных цыплят ак-



Рис. 3. Активность различных АТФаз в миелине кур в онтогенезе.

тивность фермента в миелине наглядно падает. В этих условиях активность фермента, наоборот, самая низкая в микросомальной фракции у 15-дневных эмбрионов (рис. 4).

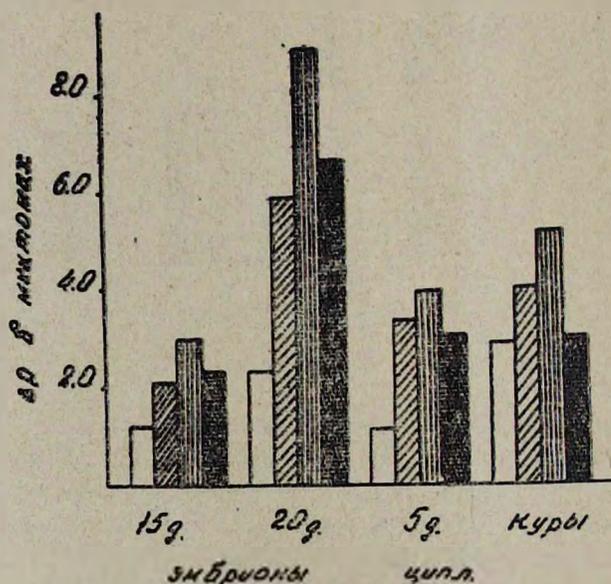


Рис. 4. Активность различных АТФаз в микросомах мозга кур в онтогенезе.

Таким образом, резюмируя результаты наших экспериментов, можно сказать следующее. В ходе эмбрионального и постэмбрионального

развития кур имеет место перераспределение активности различных типов АТФазы между отдельными субклеточными организациями мозга. Отмеченная динамика перераспределения активности различных АТФаз в субклеточных частицах развивающегося мозга, по-видимому, связана со становлением, дифференциацией и функциональной зрелостью отдельных гранул нервной системы.

Повышение активности АТФазы в митохондриях по ходу эмбрионального развития, по нашим [9] и литературным [10, 11] данным, тесно связано с увеличением их размеров и количества крист. Аналогичные изменения активность фермента претерпевает и у млекопитающих животных. Так, по данным Самсона и сотр. [11], у крыс в трехнедельный период после рождения активность некоторых окислительных ферментов возрастает в три раза; это авторы связывают с увеличением числа и размеров митохондрий и с возрастанием количества митохондриального белка.

Повышение активности АТФазы в ходе эмбриогенеза животных тесно связано также с общим возрастанием интенсивности окислительных реакций в последние периоды эмбрионального развития. Так, отдельные компоненты цепи переноса электронов ( $a$ ,  $c+c_1$ ,  $CoQ$ ) в митохондриях мозга кур появляются уже на 4-й день инкубации [12, 13], однако активность цитохромоксидазы [14] и других ферментов, участвующих в реакциях окислительного фосфорилирования, достигает максимума только в конце эмбрионального развития и в ранний постэмбриональный период. По данным Пигаревой [15], с возрастом у кроликов содержание флавопротеидов и цитохромов в митохондриях мозга также значительно увеличивается. Причем этот процесс происходит медленно в период с 1 по 15-е сутки и интенсивно в период с 15-х по 30-е сутки постнатального развития. В наших опытах в отдельных субфракциях ткани мозга (митохондрии, синаптосомы, микросомы) наблюдается увеличение активности  $Na^+$ -,  $K^+$ -АТФазы, что у различных животных совпадает с развитием синаптических структур мозга. Последнее рассматривается как доказательство участия фермента в передаче нервных импульсов и изменении специфических функций мозга в результате снижения количества АТФ [15, 16].

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 24.V 1978 г.

**ԱՏՅԱԶԱՅԻ ՆԵՐՔԶԶԱՅԻՆ ՏԵՂԱԿԱՅՈՒՄԸ ՀԱՎԵՐԻ ՈՒՋԵՂՈՒՄ  
ՕՆՏՈԳԵՆԵՏԻԿ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՅՔՈՒՄ**

Ա. Ա. ՄԻՄՈՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Լ. Հ. ՈՍԿԱՆՅԱՆ

Հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ սախարոզայի խտության գրադիենտում հավի սաղմի գլխուղեղից անշատված ենթաբջջային առանձին գոյացությունները՝ միտոքոնդրիաները, սինապտոսոմները, միելինը և միկրոսոմներն օժտված են ԱՏՖազային տարբեր ակտիվությամբ և սաղմնային ու հետսաղմնային զարգացման տարբեր փուլերում ենթարկվում են որոշ փո-

փոխութիւնների: Միտոքոնդրիաններում ինչպես  $Mg^{2+}$ , այնպես էլ  $Ca^{2+}$  ակտիվացող ԱՏՖազայի ակտիվութիւնը 20 օրական սաղմերի մոտ, 15 օրականների չամեմատութիւնը, բավական աճում է: 5 օրական ձտերի և հասուն հավերի միտոքոնդրիաններում ֆերմենտի ակտիվութիւնը որոշ չափով իջած է:

Ի տարբերութիւն 5 օրական ձտերի և հասուն հավերի, 15, 20 օրական սաղմերի միտոքոնդրիաններն օժտված են զգալի  $Na^+$ ,  $K^+$ -ԱՏՖազային ակտիվութիւնով: Միկրոսոմների ֆրակցիայում ԱՏՖազային ակտիվութիւնը, զարգացման տարբեր շրջաններում, նույնպես ընթանում է նշված դինամիկայով: Սինապտոսոմների և միելինային ֆրակցիայում ֆերմենտի ամենաբարձր ակտիվութիւնը դիտվում է 15 օրական սաղմերի մոտ: Հետագա փուլերում ֆերմենտի ակտիվութիւնը այդ ֆրակցիաներում որոշ չափով իջնում է:

Միտոքոնդրիաններում ԱՏՖազային ակտիվութիւնի աճը զարգացման ընթացքում, ըստ երևույթին, կապված է միտոքոնդրիանների չափերի և նրանց միջի խտրոցների երկարութիւնի և մակերեսի մեծացման հետ: Ֆերմենտի ակտիվութիւնի նման դինամիկան ուղղակիորեն կապված է նաև էմբրիոգենեզի վերջում բջջում օքսիդացման ռեակցիաների ընդհանուր խթանման, ներվային չլուսվածքի և նրա առանձին բաղադրամասերի դիֆերենցման հետ:

## THE INTRACELLULAR LOCALIZATION OF ATP-ase IN HENS BRAIN DURING ONTOGENETIC DEVELOPMENT

A. A. SIMONIAN, R. A. STEPANIAN, L. O. VOSKANIAN

The results of investigations of the ATP-ase activity distribution in different structural compounds of hens brain during its development have been presented. Some regularities of different ATP-ases localization in those subcellular units have been revealed.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Симомян А. А. Докт. дисс., Ереван, 1973.
2. Симомян А. А., Степанян Р. А. Вопросы биохимии мозга, 6, 231, 1971.
3. Симомян А. А. Некоторые стороны энергетического обмена в онтогенезе кур. Ереван, 1970.
4. Steinbach H. B., Moog F. J. Cell. Compar. Physiol., 26, 3, 175, 1945.
5. Potter V. R., Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 114, 2, 495, 1936.
6. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
7. Pell J. L., Loughman B. C. Biochem. J., 65, 709, 1957.
8. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
9. Симомян А. А., Абрамян К. С., Ростомян М. А., Степанян Р. А. Биологический журнал Армении, 24, 2, 33, 1973.
10. Глезер И. И. Журн. невропат. и психиатрии, 8, 1189, 1963.
11. Samson F. E., Balfour W. M., Jacobs S. J. Amer. J. Physiol., 199, 693, 1960.
12. Mahler H., Wittenberger M., Brang L. J. Biol. Chem., 233, 770, 1958.
13. Brand L., Dard C., Mahler H. B. J. Biol. Chem., 235, 2456, 1960.
14. Симомян А. А., Мовсесян С. Г. ДАН АрмССР, 3, 178, 1973.
15. Пугарева Э. Д. Биохимия развивающегося мозга, М., 1972.
16. Abdel-Latif A. A., Abood L. G. J. Neurochem., 11, 9, 1964.