

## О СВОЙСТВАХ ТРИМЕТАФОСФАТАЗЫ ТКАНЕЙ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

И. Г. АСЛАНЯН, Г. Т. АДУНЦ, А. А. ГАСПАРЯН

Определялась активность триметафосфатазы в печени, почках, мозге, сердечной и скелетной мышцах, а также в желтке и желточном мешке развивающегося куриного эмбриона и чувствительность этого фермента к  $MgCl_2$  и  $NaF$ . Изучалась активность фермента под действием гидрокортизона и субстрата (триметафосфат  $Na$ ). Установлено, что наивысшей триметафосфатазной активностью обладает желточный мешок. Результаты исследований свидетельствуют об изменениях в свойствах фермента в эмбриональном развитии.

В жизнедеятельности организмов неорганические полифосфаты играют важную роль, являясь не только регуляторами внутриклеточной концентрации важнейших метаболитов, но и резервом активированного фосфата, способного утилизироваться в различных метаболических процессах. До последнего времени было мало известно о биохимических превращениях этих простейших накопителях энергии в живых клетках, какими являются неорганические полифосфаты. Возросший к ним интерес вызвал интенсивное изучение их структуры и метаболизма. В то же время в литературе пока не встречаются сведения о ферментах, участвующих в обмене этих соединений в тканях эмбрионов высших животных. Онтогенетические исследования на куриных эмбрионах представляют особый интерес с точки зрения их изоляции от материнского организма и особенностей энергетического обмена. В связи с этим представляло несомненный интерес изучение динамики активности одного из ферментов, участвующих в обмене неорганических полифосфатов— триметафосфатазы в течение развития куриного эмбриона, а также влияние некоторых общепринятых активаторов и ингибиторов, и изучение возможной индукции синтеза фермента при введении гормона и субстрата в ходе эмбрионального развития.

*Материал и методика.* Объектом исследования служили ткани куриного эмбриона (печень, почки, мозг, сердечная и скелетная мышцы), а также желток и желточный мешок. Триметафосфатазу в пробах определяли по Бергу [1], неорганический фосфат— Лоури и Лопесу [2]. В каждом опыте использовали 8—10 эмбрионов в зависимости от их возраста. Гомогенаты готовили на воде в соотношении 1:10 (в/об). В качестве субстрата использовали триметафосфат  $Na$ , приготовленный на мединаловом буфере, рН 5. Инкубацию проводили в течение часа при температуре  $37^\circ$ . Инкубационная смесь составляла (в мл): 1—гомогената, 2,5—субстрата, 0,5—испытуемого реагента ( $NaF$  и  $MgCl_2$   $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}M$ ). Проводили предварительную прединкубацию с

этими реагентами в течение 15 мин. результаты выражали в мкМР/г ткани. В опытах использовали гидрокортизон фирмы «Рихтер» (Венгрия) и триметафосфат Na, которые вводили в пугу яйца в количестве 2, 5 и 10 мг на 100 г веса. Пробы брали через 3 часа после введения препарата.

**Результаты и обсуждение.** Как известно, ткани растущего и развивающегося организма значительно отличаются от тканей взрослого как по химизму, так и по структуре и функциональным свойствам.

Самой высокой триметафосфатазной активностью, начиная с 8-го дня инкубации до вылупления цыпленка, обладает желточный мешок. В то же время в желтке активность фермента не обнаружена. Сдвиги в активности триметафосфатазы в различных тканях зародыша носят индивидуальный характер. Наивысшей активностью фермента, которая заметно нарастала начиная с 11 дня, отличалась печеночная ткань, затем почки. Мозг и мышцы обладали более низкой активностью триметафосфатазы. Кривые на рис. свидетельствуют о существенных тка-

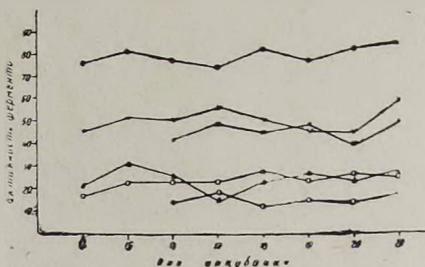


Рис. Активность триметафосфатазы в различных тканях куриного эмбриона в диапазоне, мкМ Р/г ткани. Печень — V. Почки — X. Мозг — ▲. Сердце — O. Мышцы — □. Желточный мешок — ●.

невых различиях в активности фермента на разных этапах индивидуального развития.

Изучалось также воздействие NaF и  $MgCl_2$  на активность триметафосфатазы в ходе эмбриогенеза (табл. 1 и 2). Выяснилось, что NaF в концентрациях  $10^{-2}$  и  $10^{-3}$  М резко понижает активность фермента желточного мешка, и, в той или иной степени, в печени, почках, мозге и мышцах. В сердечной мышце наблюдается обратная картина: некоторое повышение активности триметафосфатазы на 16, 17, 18-й дни инкубации и понижение — в остальные дни (19, 20, 21-й). Под влиянием  $MgCl_2$  триметафосфатаза желточного мешка и мозговой ткани не претерпевает существенных изменений. В печени зародыша  $MgCl_2$  в концентрации  $10^{-3}$  М более выражено повышает активность фермента во все дни инкубации, а в сердечной мышце — на 18-й день. В почках на 16, 17, 18, 19-й дни инкубации наблюдается тенденция к понижению активности триметафосфатазы, и некоторая активация — на 20-й и 21-й дни. Такое различное действие использованных реагентов на триметафосфатазу органов куриного эмбриона, по-видимому, свидетельствует о тканевой гетерогенности фермента, о модификации ее функций, связанных с процессами развития и дифференцировки тканей зародыша в ходе эмбрионального развития.

Большой интерес представляет выяснение роли гормонов в регуляции активности ферментов. В литературе отсутствуют сведения о ха-

Таблица I

Влияние NaF на активность триметафосфатазы тканей куриного эмбриона,  
мкМ Р/г ткани

NaF, М		Печень	Почки	Мозг	Сердце	Мышцы	Желточный мешок
14-й	Контроль	39				25,3	83
	10 <sup>-2</sup>	14				4,6	11
	10 <sup>-3</sup>	18				8,7	28,2
	10 <sup>-4</sup>	36				24	76
15-й	Контроль	48		30		26,4	86
	10 <sup>-2</sup>	28		24		12	19
	10 <sup>-3</sup>	56		33		17	40
	10 <sup>-4</sup>	44,4		30		25,4	84
16-й	Контроль	49	50,5	35	11	26,4	86,2
	10 <sup>-2</sup>	24	16	4,2	14,6	9,6	17
	10 <sup>-3</sup>	54	51	34	18	18	35
	10 <sup>-4</sup>	46	51	35	11	28	86,2
17-й	Контроль	48,2	46	12	17	25,1	88,3
	10 <sup>-2</sup>	23,2	11	6,4	20,2	4,9	18
	10 <sup>-3</sup>	53	15	5,2	23,6	13,4	35,1
	10 <sup>-4</sup>	47	15	11	16	26,1	88,3
18-й	Контроль	48,2	44,1	24	12	25	86,2
	10 <sup>-2</sup>	16	6,4	15	6,2	17	38
	10 <sup>-3</sup>	23,2	28,2	18	10,5	16	20
	10 <sup>-4</sup>	37	51,4	24	18	20,2	86,2
19-й	Контроль	42,1	54	26,1	13	27	82
	10 <sup>-2</sup>	7,4	5,4	12,3	5,2	20,3	36,3
	10 <sup>-3</sup>	51,1	32	15,4	0	15,2	15
	10 <sup>-4</sup>	42	54	22	11	1,9	82
20-й	Контроль	29,3	51	21	11	35	88,3
	10 <sup>-2</sup>	29,3	21,2	15,4	0	26,4	44,1
	10 <sup>-3</sup>	36	51	10	0	17,1	25,5
	10 <sup>-4</sup>	29,3	51	8	8	0	88,3
21-й	Контроль	67	59	30	25	31	98
	10 <sup>-2</sup>	33,4	5	24	4	31,4	25,4
	10 <sup>-3</sup>	10	71,3	24	14	15	20
	19-3	40	37	38	25	31,4	98

рактуре воздействия того или иного гормона на активность триметафосфатазы в ходе эмбриогенеза. Предметом наших исследований явилось изучение действия гидрокортизона, а также влияние субстрата триметафосфата Na на активность триметафосфатазы различных тканей куриного эмбриона. Пробы брали на 11, 12, 14, 17 и 20-й дни инкубации. Учитывалось, что на 11-й, 12-й дни инкубации в зародыше развивается гормональная система. На 17-й день инкубации начинается интенсив-

Влияние  $MgCl_2$  на активность триметафосфатазы тканей куриного эмбриона.  
мкМ Р/г ткани

$MgCl_2$ , М	Печень	Почки	Мозг	Сердце	Мышцы	Желточный мешок
Контроль	59		21,2		13	64,3
10 <sup>-2</sup>	55,3		14,8		14	59
10 <sup>-3</sup>	73		19		17	72
10 <sup>-4</sup>	59,1		21,2		20,1	55,3
Контроль	59		33,1		21,2	75
10 <sup>-2</sup>	55		37		17	75
10 <sup>-3</sup>	68,4		31,5		23	75
10 <sup>-4</sup>	48		19		18	81,2
Контроль	53	33,4	23,2	18,1	22	66,3
10 <sup>-2</sup>	61	28,6	23,2	13,1	16	59
10 <sup>-3</sup>	66,2	33,4	23,2	17,1	23,2	70
10 <sup>-4</sup>	44	26	40,2	29	17,1	59
Контроль	61	55,2	19	19	32	77
10 <sup>-2</sup>	70,3	45	33,3	21	36,3	66,2
10 <sup>-3</sup>	93,2	40	51,8	26,1	41,1	82,6
10 <sup>-4</sup>	61,2	33,4	25	19	33,4	63,3
Контроль	53	45	23,2	11	31,4	77
10 <sup>-2</sup>	63	45	23,2	25,5	33	72,3
10 <sup>-3</sup>	82	43,1	29	35	28,2	75
10 <sup>-4</sup>	53,4	20	41	6,4	10,1	77
Контроль	53	40,2	26,1	17	22	69
10 <sup>-2</sup>	59	31	22	12	16	60
10 <sup>-3</sup>	59	35,4	23,2	16	26,1	69,1
10 <sup>-4</sup>	49,1	32,2	29	29	22	69,1
Контроль	57,4	36	27	18	22,1	77
10 <sup>-2</sup>	57,4	29,3	22,2	13	14,8	60
10 <sup>-3</sup>	66,2	45,3	22	18	28,2	84,4
10 <sup>-4</sup>	57,4	37,3	27	13	15	79
Контроль	51	39	25	7,8	17,4	69,1
10 <sup>-2</sup>	51	52	23,2	11	15	61,3
10 <sup>-3</sup>	77	70,1	32,2	24,7	24	77
10 <sup>-4</sup>	51	44	25	8	17,4	69,1

ное использование минеральных солей скорлупы для костеобразования, на 20-й, 21-й дни цыпленок завершает свое развитие.

Результаты наших исследований показывают (табл. 3), что на 11, 12, 14-й дни инкубации и субстрат, и гидрокортизон понижают активность триметафосфатазы печени, а на 17-й и 20-й дни фермент существенных изменений не претерпевает. В почках на 20-й день наблюдается понижение активности фермента после введения триметафосфата Na и

гидрокортизона. В сердечной мышце на 14-й день наблюдается повышение активности фермента—резко под влиянием гормона и слабее—при введении субстрата, а на 17-й и 20-й дни заметных сдвигов не наблюдается. В мышцах на 11, 14, 17-й дни инкубации субстрат несколько повышает активность фермента, а гидрокортизон понижает, на 12-й день под влиянием и субстрата, и гормона она понижается. В мозге наблюдается субстратная и гормональная индукция на 11-й и 12-й дни. На 14-й день гидрокортизон несколько понижает активность фермента. В остальные дни изменений не наблюдается. В желточном мешке определенных изменений не отмечалось.

Таблица 3

Изменение активности триметафосфатазы в различных органах куриного эмбриона после введения триметафосфата Na и гидрокортизона, мкМ Р/г ткани

Органы	Дни инкубации														
	11-й			12-й			14-й			17-й			20-й		
	контроль	субстрат	гидрокортизон	контроль	субстрат	гидрокортизон	контроль	субстрат	гидрокортизон	контроль	субстрат	гидрокортизон	контроль	субстрат	гидрокортизон
Желток	0	3,1	6,5	0	4,9	0,3	0	9,3	0	0	9,9	0	0	0	0
Печень	31	25	9,3	28	20	18	39	16	30	58,8	63	63	41,5	45,9	41,5
Почки										47,2	56	56	33	15	21
Сердце								5,3	12	53	18	16	16	15	14
Мышцы	8,4	17,4	5,7	12	3	4	10,6	11	0,3	15	19,4	13	24	19	28
Мозг	0,3	7	12	0,3	11	8,4	10	9,3	4,4	15,2	10	18	17	21,4	20
Желточный мешок	68,4	29	38	43,4	57	47	79	70	66	58	66	56	79	66	69

Приведенные в настоящей работе данные свидетельствуют как о тканевой специфичности триметафосфатазы, так и об определенных изменениях ее свойств в ходе эмбрионального развития. Вероятно, под влиянием внутриклеточных и интегрированных эффектов в условиях постоянного изменения функционального состояния развивающегося эмбриона происходит адекватная регуляция активности отдельных молекулярных форм фермента.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 31.V 1978 г.

ՀԱՎԻ ՍԱԳՄԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՏՐԻՄԵՏԱՖՈՍՖԱՏԱԶՄՅԻ  
ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ի. Հ. ԱՍԼԱՆՅԱՆ, Գ. Թ. ԱԿՈՒՆՅ. Ա. Հ. ԿԱՍՊԱՐՅԱՆ

Որոշվել է տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը լյարդում, երիկամներում, ուղեղում, սրտամկանում և կմախքամկաններում, ինչպես նաև հավի վարկացող սաղմի ղեղնուցում և ղեղնուցապարկում:

Որոշվել է նաև նշված ֆերմենտի զգայունությունը  $MgCl_2$  և  $NaF$  նկատմամբ: Ուսումնասիրվել է այդ ֆերմենտի ակտիվությունը հիդրոկորտիզոնի և սուբստրատի ( $Na$ -ի սրիմետաֆոսֆատ) ազդեցության ներքո:

Նշվել է, որ տրիմետաֆոսֆատազային ամենաբարձր ակտիվությամբ աչքի է ընկնում սաղմի դեղնուցապարկը:

Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են սաղմնային զարգացման շրջանում ֆերմենտի հատկությունների փոփոխման մասին:

## ON PROPERTIES OF TRIMETAPHOSPHATASE CHICK EMBRIO TISSUES

I. G. ASLANYAN, G. T. ADUNTZ, A. A. GASPARYAN

The activity of trimetaphosphatase in the liver, kidney, brain, heart and skeletal muscles, yolk, yolk sack of developing chick embryo have been determined; the sensitivity of this enzyme to  $MgCl_2$  and  $NaF$  has been investigated. Yolk sack has turned to possess the maximal trimetaphosphatase activity. The investigation results indicate that in embryonal development changes of enzyme properties take place.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Балаховский С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. М., 1953.
2. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., 162, 3421, 1946.