ыгрывающихся в результате перенесенных экстремально-стрессорных воздействий на организм.

Изыскание соответствующих факторов и поиск методов целенаправленного применения их при отмеченных состояниях организма, в частности при ваготомии, могут внести весомый вклад в достижение эффекта мобилизации механизмов, направленных на форсированное восстановление нарушенных функций данного органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Арчаков А. И., Девяченский В. М.* Биохимия. *33*, 479, 1968.
2. *Зозуля Л. А.* Бюлл. экспер. биол. и мед., *83*, 4, 420—422, 1977.
3. Методы биохимических исследований. Под ред. А А Меньшикова. Л., 1982.
4. *Орбели Л. А.* Физиол. журн. СССР, *35*, 6, 594—600. 1949.
5. *Орбели Л. А.* Вопр. высш. нервн. деят., 44, 8, М.—Л., 1949
6. *Парфенова Н. С.* Бюлл. экспер. биол. и мед., 7, 814—816, 1976.
7. *Шангина К. И., Фолина М. П., Парфёнова Н. С.* Вопр. мед. химии, 4, 505—509, 1981.
8. *Awasthi J. C., Chuang T., Keenan T., Grane T. L.* Biochim. Biophys, Acta. 1, 225, 1971.
9. *Zahler W. L., Fleisher S.* Ibid. 2, 209, 1971.

Поступило 17.I 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 6, стр. 492—497, 1986 УДК 577.15+577.3+591.39

МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА КУР В ОНТОГЕНЕЗЕ

Т. К. ХАЧКАЛЯН, А. А. СИМОНЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Изучалась активность малатдегидрогеназы в субклеточных фракциях мозга кур в онтогенезе. Наблюдалось постепенное повышение активности фермента в цитоплазме и митохондриях в процессе эмбрионального и постэмбрионального развития мозга. Изменений оптимума pH не наблюдалось. Активность малатдегидрогеназы максимальна при pH 7.4 и значительно подавляется при pH 6.0 на всех изученных стадиях развития. Аденинновые нуклеотиды подавляют активность обеих форм фермента на 20—40% в зависимости от стадии развития.

Ամփոփում — *Ուսումնասիրվել է մալատդեհիդրոգենազայի ակտիվությունը հավերի ուղեղի ենթարջյային ֆրակցիաներում օնտոգենեզում։ Դիտվել է ֆերմենտի ակտիվության աստիճանական բարձրացում ցիտոպլազմայում և միտոքոնդրիումներում ուղեղի սաղմնային և հետսաղմնային զարդացման պրոցեսի ընթացքում։ Օպտիմալ pH-ի փոփոխություն չի նկատվել։ Ուսումնասիրված բոլոր փուլերում մալատդեհիդրոգենազայի ամենաբարձր ակտիվությունը դիտվել է pH 7.4-ի դեպքում, որը զգալիորեն ճնշվում է pH 6.0-ի դեպքում։ Ադենինային նուկլեոտիդները, կախված զարգացման աստիճանից, 20—40 %-ով ճնշում են ֆերմենտի երկու ձևերի ակտիվությունը։*

Abstract – The activity of malate dehydrogenase has been investigated in subcellular fractions of hens brain in ontogenesis. During the process of embryonic and postembryonic development of the brain a progressive increase of the activity of the enzyme has been observed in mitochondria and cytoplasm. The optimum pH has not undergone any changes. It has been shown that activity of malate dehydrogenase is maximum at pH 7,4 and is significantly suppressed at pH 6,0 at all investigated stages of development. Adenine nucleotides inhibit the activity of both forms of the enzyme to 20—40 per cent, depending on the stage of development.

Ключевые слова: малатдегидрогеназа, онтогенез.

Митохондриальная и цитоплазматическая малатдегидрогеназы (МДГ) — два структурно разных фермента, широко распространенных в тканях животных. Они отличаются по внутриклеточной локализации, молекулярному весу [10, 13], электрофоретической подвижности, изоферментному составу и по ряду кинетических свойств [11, 16]. Высокая активность двух форм фермента и возможность транспорта малата через митохондриальную мембрану обусловливают участие цитоплазматической и митохондриальной МДГ в переносе восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны: малат—аспартатный шунт—ключевая система в окислении внемитохондриального НАДН.

В связи с определенной ролью НАД-малатдегидрогеназных реакций в клеточном метаболизме изучение их в различных клеточных образованиях представляет значительный интерес. В литературе имеется немало данных о свойствах МДГ различных тканей животных, таких как сердце, печень, почки [4, 5, 9, 11, 16, 17]. Однако очень мало изучен фермент в ткани мозга, особенно у птиц, в том числе и сельскохозяйственных. Имеются скудные данные об изменениях активности фермента в процессе эмбрионального развития животных. В доступной нам литературе мы не нашли работ, касающихся динамики активности МДГ в субклеточных фракциях мозга в ходе онтогенетического развития кур. Имеются лишь данные о МДГ в гомогенатах нервной ткани. Отсутствуют также данные об активности фермента в зависимости от концентрации водородных ионов в среде инкубации на разных стадиях развития организма. Исходя из этого, мы предприняли эксперименты по изучению становления и некоторых сторон регуляции малатдегидрогеназной активности мозга кур ереванской породы в течение их онтогенетического развития. Эта порода получена в Институте физиологии им. Л. А. Орбели АН АрмССР и получила широкое распространение в нашей республике и за ее пределами. Это куры мясо-яичного направления, отличаются высокой жизнеспособностью и перспективны в промышленном птицеводстве [1, 2]. Однако до настоящего времени совершенно не затронуты вопросы изучения биохимических механизмов в отдельных тканях этих кур.

Материал и методика. Опыты проводили на 13-, 17-, 20-дневных эмбрионах, 5-дневных цыплятах и половозрелых курах. Ткань мозга гомогенизировали в 10-кратном объеме 0,25 М сахарозы. Ядерную фракцию осаждали при 1000 g в течение 10 мин, митохондриальную фракцию—20000 g. Полученные митохондрии промывали 0,25 М сахарозой и разрушали добавлением 0,1%-ного раствора тритона Х-100. Активность митохондриальной МДГ определяли в супернатанте, полученном после центрифугиро-

вания обработанных тритоном митохондрий при 100000 g в течение 30 минут. Для получения чистой цитоплазматической фракции, не содержащей микросомных и других частиц, постмитохондриальный супернатант центрифугировали при тех же условиях [3].

Активность МДГ определяли спектрофотометрически в реакционной среде следующего состава: К-фосфатный буфер—0,1 М (pH 7,1), оксалоацетат—0,5 мМ, НАДН—0,2 мМ [15]. Объем смеси — 2 мл. Активность фермента определяли по изменению содержания НАД при 340 нм на спектрофотометре марки «Specord UV Vis» и выражали в мкмолях НАД/мг белка/мин [3]. Белок определяли по методу Лоури и сотр. [12].

В отдельной серии опытов изучали влияние pH среды и адениновых нуклеотидов на активность МДГ. Адениновые нуклеотиды использовали в конечной концентрации 2 мМ.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали (рис. 1), что активность НАД—МДГ в митохондриях мозга куриных эмбрионов прогрессивно возрастает по мере их развития. В мозге зре-

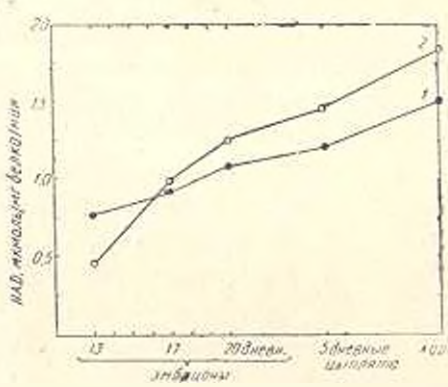

Рис. 1. Изменение активности МДГ в субфракциях мозга кур в онтогенезе. 1—митохондриальная МДГ, 2—цитоплазматическая МДГ.

лых кур активность фермента в два раза выше, чем у 13-дневных эмбрионов. Примерно такую же динамику активности МДГ в гомогенатах мозга при развитии других пород кур наблюдали Пасантес-Моралес [15] и Соломон [19].

Уровень малатдегидрогеназной активности в цитоплазме в начале плодного периода (13-й день) значительно ниже, чем в митохондриях. Но быстрое повышение активности цитоплазматического фермента в плодном периоде приводит к тому, что в конце эмбриогенеза и у зрелых кур она достигает большей величины по сравнению с активностью митохондриальной формы.

Онтогенетические исследования показали, что по мере созревания кур повышается уровень окисления глюкозы через цикл трикарбоновых кислот [15]. Таким образом, устойчивое повышение активности МДГ мозга, вероятно, связано с изменениями в метаболизме развивающегося организма, в частности, с постэмбриональным сдвигом в сторону аэробных путей окисления.

В литературе приводятся разные данные, касающиеся влияния pH среды на активность различных МДГ. Цитоплазматический фермент из почек быка проявляет максимальную активность при pH 7,8—8,0, митохондриальный—при 9,0 (в трис-HCl буфере) и 7,8 (в К-фосфатном буфере) [8]. Мы получили четкую зависимость активности обеих форм

фермента от pH с оптимумом при 7,4. Повышение и понижение pH среды неодинаково влияют на активность МДГ мозга кур в онтогенезе (рис. 2). В кислой среде она резко падает (на 40—60%), а при значениях pH ниже оптимального не изменяется у эмбрионов (рис. 2, а) и лишь на 20—30% снижается у цыплят и взрослых кур (рис. 2, б, в).

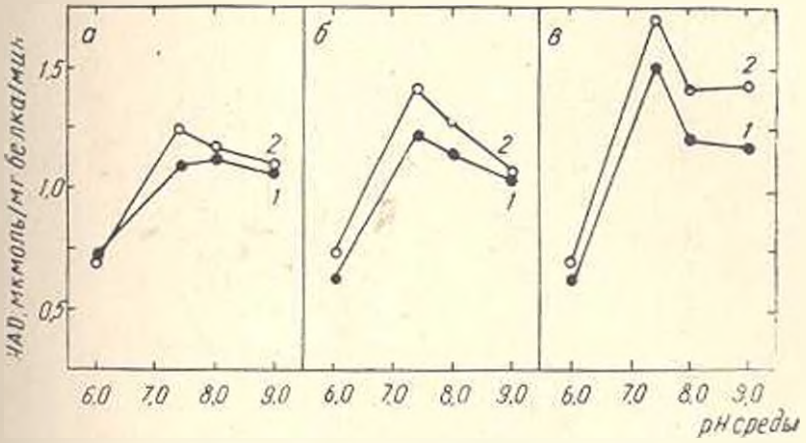

Рис. 2. Влияние pH среды на активность МДГ мозга кур в онтогенезе. а—20-дневные эмбрионы, б—5-дневные цыплята, в—половозрелые куры. 1—митохондриальная МДГ, 2—цитоплазматическая МДГ.

По данным некоторых авторов [21], изменение pH влияет на диссоциацию димерных молекул фермента: при низких значениях pH для сохранения димерной формы фермента необходимо повышение концентрации белка.

В отдельной серии экспериментов мы изучали влияние адениновых нуклеотидов на малатдегидрогеназную активность митохондриальной и цитоплазматической фракций мозга кур в конце эмбриогенеза (20-дневные эмбрионы), в раннем постнатальном периоде (5-дневные цыплята) и зрелом возрасте.

Известно, что некоторые НАД-зависимые дегидрогеназы чувствительны к адениновым нуклеотидам [18, 20]. АТР, АДР и АМР являются конкурентными ингибиторами МДГ [6, 14, 20], в концентрации 2 мМ они ингибируют активность очищенного фермента митохондрий сердца быка на 50—60% [14]. По данным Спрот и сотр., АТР, АДР и АМР ингибируют МДГ из M. luteus соответственно на 40,70 и 15% [20].

Как показали наши эксперименты (рис. 3), активность цитоплазматической и митохондриальной МДГ мозга кур также подвергается влиянию адениновых нуклеотидов, однако они теряют не более 40% своей активности. Надо отметить, что в исследованных нами возрастных группах наблюдаются некоторые различия: к ингибиторам более чувствительны ферменты мозга эмбриона.

В литературе нет единого мнения о механизме действия адениновых нуклеотидов на МДГ. Некоторые исследователи считают, что они ингибируют митохондриальную МДГ печени цыпленка образованием фермент—ингибитор непродуктивных комплексов (так называемые dead-end комплексы) [6], причем нуклеотиды и НАДН конкурируют за один

и тот же связывающий центр [20]. Диксон и Уэбб считают ингибирование МДГ адениновыми нуклеотидами частично конкурентным [7], однако вопрос о механизме действия этих эффекторов пока остается открытым.

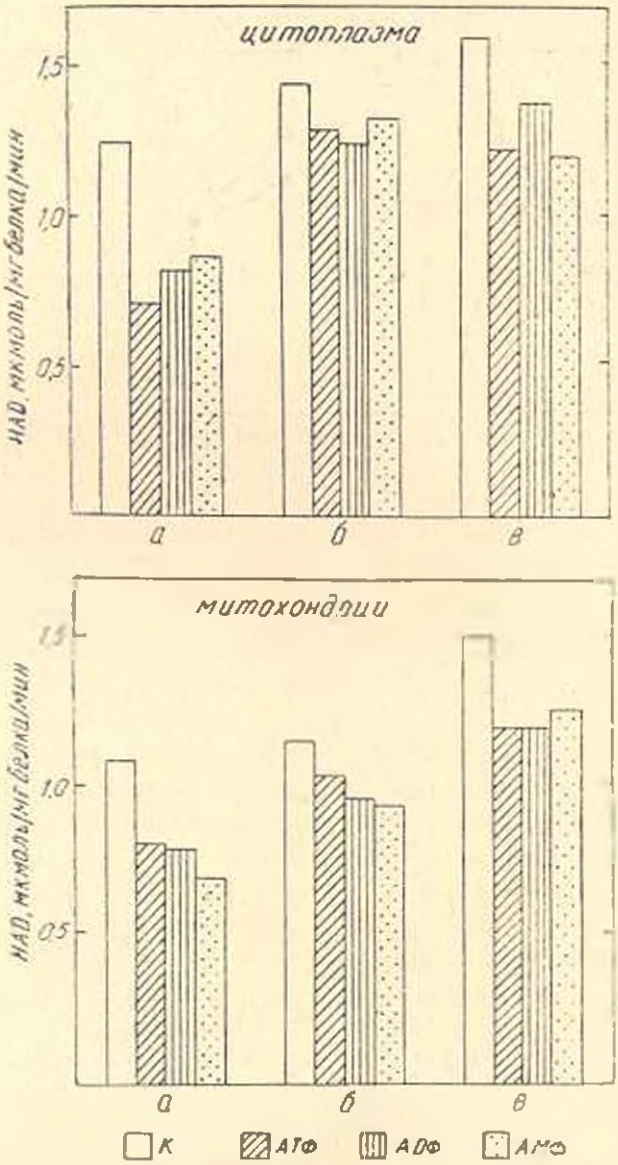

Рис. 3. Влияние адениновых нуклеотидов на активность МДГ мозга кур в онтогенезе. а — 20-дневные эмбрионы, б — 5-дневные цыплята, в — половозрелые куры.

Что касается физиологической роли адениновых нуклеотидов как ингибиторов МДГ, то здесь мнения разделяются. Санвал считает, что они могут быть использованы только для кинетических исследований и их ингибирующее влияние вряд ли имеет физиологическое значение [18]. Так как ингибирующие эффекты обнаружены в отношении всех

трех нуклеотидов, трудно определить их специфическую регуляторную роль.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Карапетян С. К.* Биологические основы повышения продуктивности и пути интенсификации птицеводства в Армянской ССР. Ереван, 1962.
2. *Карапетян С. К., Гукасян М. Н.* Ереванская порода кур. М., 1976.
3. Методы биохимических исследований. Л., 1982.
4. *Baro J., Cortes A., Bozal J.* Int. J. Biochem., *13*, 463—469, 1981.
5. *Busquets M., Baro J., Cortes A., Bozal J.* Int. J. Biochem., *10*, 823—835, 1979.
6. *Casado F., Cortes A., Bozal J.* Int. J. Biochem., *11*, 437—447, 1980.
7. *Dixon M., Webb E. C.* Ennymes, London, 1966.
8. *Dupourque D., Kun E.* Eur. J. Biochem., *6*, 151—155, 1968.
9. *Elduque A., Cortes A., Bozal J.* Int J. Biochem., *13*, 1027—1031, 1981.
10. *Grow K. E., Draggins T. J., Balt R. D., Hardman M. J.* J. Biol. Chem., *257*, 14217—14225, 1982.
11. *Kito G. B., Kaplan N. O.* Biochem., *5*, 3966—3980, 1966.
12. *Lowry O. H., Rozebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* J. Biol. Chem., *193*, 265—275, 1951.
13. *Mann K. G., Vestling C. S.* Biochem. Biophys. Acta, *159*, 567—569, 1968.
14. *Oza N. B., Shore J. D.* Arch. Biochem. and Biophys., *154*, 360—365, 1973.
15. *Pasantes-Morales H., Klethi J., Urban P. F., Mandel P.* J. Neurochem., *19*, 1183—1185, 1972.
16. *Phyllis G., Greenfield E. J.* J. Exp. Zool., *174*, 115—123, 1970.
17. *Rinaudo M. T., Giunta C.* Enzymologia, *33*, 201—210, 1967.
18. *Sanwall B. D.* J. Biol. Chem., *244*, 1831—1837, 1969.
19. *Solomon J. B.* Biochem. J. *70*, 4, 1958.
20. *Sprott G. D., McKellar R. C., Shaw K. M., Giroux J., Martin W. G.* Can. J. Microbiol., *25*, 192—200, 1979.
21. *Wood D. C., Hodges C. T., Harrison J. H.* Biochem. and Biophys. Res. Communs. *82*, 943—950, 1978.

Поступило 4.I 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 6, стр. 497—502, 1986 УДК 581.175

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИТОГОРМОНОВ С ПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ КЛЕТОК КОРЕШКОВ КУКУРУЗЫ

Г. Т. КАЗАРЯН, Г. Н. ХАЧАТРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Аннотация — Исследованы изменения мембранного потенциала клеток корешков кукурузы при действии увеличивающихся концентраций гиббереллина, ауксина и кинетина. Показано, что добавление первых порций фитогормонов приводит к преходящей гиперполяризации мембраны, по-видимому, связанной с активацией электрогенных насосов клетки, последующее увеличение концентрации фитогормонов вызывает частичное ингибирование активных систем переноса. По своему действию на величину МП фитогормоны составляют ряд: кинетин>ауксин>гиббереллин.