

УДК 577.1 : 577.3

БИОХИМИЯ

Р. Б. Бадалян, А. А. Симонян, А. П. Акопян

### Некоторые сдвиги в энергетическом метаболизме в печени кур в онтогенезе

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 8/XI 1975)

В предыдущих работах <sup>(1)</sup> мы показали, что при использовании глутамата в качестве субстрата, дыхание в интактных митохондриях печени кур усиливается с начала плодного периода эмбрионального развития до 17-го дня. Из этих же опытов видно, что динамика соотношения окисления и фосфорилирования (Р/О) в печени до вылупления также постепенно снижается. Аналогичные результаты в отношении поглощения кислорода в ткани печени уток получены В. И. Махинько с соотр. <sup>(2)</sup>. Исходя из полученных результатов, мы нашли целесообразным изучить количественные сдвиги образования макроэргов, а также креатинфосфата в печени кур в различные периоды их онтогенетического развития. Помимо этого определяли содержание свободного фосфата, сухого остатка и митохондриального белка.

Для определения аденозинтрифосфата (АТФ) замороженную жидким азотом печень (1 г) растирали в фарфоровой ступке и заливали 4 объемами 5%-ного ТХУ <sup>(3)</sup>. Экстракцию проводили 15 минут на холоду при частом помешивании. Осадок удаляли центрифугированием. К трихлоруксусному центрифугату добавляли ртутный реактив из расчета 2 мл 20%-ного  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Hg}$  в 2%-ном  $\text{CH}_3\text{COOH}$  на 2 мл центрифугата. Ртутный осадок компонентов адениновой системы отделяли центрифугированием. Осадок размешивали в 0,3 мл воды и в течение 10 минут разлагали сероводородом на холоду. Затем суспензию аэрировали в течение 3 минут и взвесь удаляли центрифугированием. Для хроматографического анализа использовали бумагу FN-1. Применяли нисходящую хроматографию. В качестве растворителя использовали изоамиловый спирт и 2,5%-ный цитрат (1:1). Выявление АТФ производили ультрахемископом.

Определение креатинфосфата проводили по методу А. М. Алексеевой <sup>(4)</sup>. Белок определяли по Лоури и соотр. <sup>(5)</sup>, неорганический фосфат—по Лоури и Лопес <sup>(6)</sup>. Для определения сухого остатка брали навеску митохондрий, соответствующую 50 мг свежей ткани и высушивали до постоянного веса.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что высокое содержание АТФ отмечается в печени 15-дневных эмбрионов (0,70 мкмоль/г влажной ткани). С возрастом (у 20-дневных эмбрионов) количество АТФ сокращается почти в два, а у 5-дневных цыплят в три раза, оставаясь в дальнейшем на том же уровне у половозрелых кур.

Как показывают эти данные в конце эмбрионального развития усиливается процесс распада макроэргов, что обеспечивает необходимый баланс энергии для синтетических реакций в клетках, подготавливая цыпленка к вылуплению. Не лишено основания предположение о том, что энергия высвобождается уже на уровне первичных макроэнергетических соединений, не доходя до образования АТФ. Это предположение подтверждается нашими прежними и литературными данными. По нашим данным (7) в конце эмбрионального развития кур в митохондриях печени усиливаются окислительно-восстановительные процессы. В этом периоде вдвое сокращается и запас гликогена в печени (8,9). О. Ю. Никитина (9) считает, что такое снижение уровня гликогена в печени и других тканях связано с большими энергетическими затратами к моменту вылупления.

Таблица 1

Количественные изменения содержания АТФ  
(мкмоль/г влажной ткани) в печени кур в онтогенезе,  $M \pm m$

Дни развития	АТФ
15	$0,70 \pm 0,05$ (6)
20	$0,38 \pm 0,03$ (6)
5-дневные цыплята	$0,24 \pm 0,02$ (6)
Взрослые куры	$0,20 \pm 0,01$ (6)

С генерацией макроэргов в ткани тесно связаны количественные сдвиги содержания креатинфосфата и интенсивность креатинкиназной реакции в ткани по ходу развития эмбриона. В наших опытах самым высоким содержанием креатинфосфата отличается печень 15-дневных эмбрионов, заметно сокращаясь в период вылупления—в 20-ый день (табл. 2). По сравнению с 5-дневными цыплятами у кур количество креатинфосфата заметных изменений не претерпевает.

Сопоставляя эти результаты с нашими другими данными в отношении содержания креатинфосфата в других тканях эмбриона, можно заметить, что аналогичная картина содержания креатинфосфата обнаруживается в мозгу и сердце по ходу развития (10). Как видно из этих данных в конце эмбрионального развития весьма важное значение приобретает и креатинфосфат, как богатый источник дополнительной энергии для выполнения необходимых жизненных функций развивающегося организма.

На основании полученных данных мы нашли целесообразным определить также количественные сдвиги свободного фосфата, белка и сухого остатка в изолированных митохондриях печени кур в различные периоды их онтогенетического развития.

Таблица 2

Количественные изменения содержания креатинфосфата (мкмоль/г влажной ткани) в печени кур в онтогенезе,  $M \pm m$

Дни развития	Креатинфосфат
15	$3,21 \pm 0,15$ (6)
20	$1,95 \pm 0,08$ (4)
5-дневные цыплята	$2,40 \pm 0,30$ (4)
Взрослые куры	$2,21 \pm 0,39$ (5)

Данные, приведенные в табл. 3, показывают, что количество свободного фосфата в митохондриях печени возрастает с 15-го дня эмбрионального развития, достигая своего максимума у 5-дневных цыплят.

Таблица 3

Количественные сдвиги содержания свободного фосфата (мкатомах/г влажной ткани) в митохондриях печени кур в онтогенезе,  $M \pm m$

Дни развития	$P_{\text{несорг.}}$
15	$3,30 \pm 0,02$ (4)
20	$5,10 \pm 0,10$ (4)
5-дневные цыплята	$5,25 \pm 0,08$ (4)
Взрослые куры	$3,13 \pm 0,11$ (4)

По сравнению с цыплятами, у кур количество свободного фосфата заметно понижается.

В следующей серии опытов мы исследовали количественные изменения содержания митохондриального белка печени кур в онтогенезе. Результаты опытов показывают, что на ранних стадиях эмбрионального развития содержание митохондриального белка небольшое и у 15-дневных эмбрионов составляет 9,39 мг/г влажной ткани (табл. 4). Прирост белка в митохондриях уже в период вылупления, у 20-дневных эмбрионов составляет почти 40%, а у 5-дневных цыплят—60% по сравнению с 15-дневными эмбрионами. Дальнейшего усиления интенсивности процесса синтеза митохондриального белка у половозрелых кур не отмечается, наоборот, наступает спад по сравнению с ранним постэмбриональным периодом.

Сухой остаток митохондрий в эмбриональный период, начиная с 15-го дня, не меняется (табл. 5). Некоторое увеличение сухого остатка наблюдается у 5-дневных цыплят и половозрелых кур. Как явствует из приведенных данных, количество сухого остатка в митохондриях печени после вылупления резко увеличивается и в ткани 5-дневных цыплят доходит примерно до уровня, присущего взрослым особям.

Таблица 4

Изменение содержания митохондриального белка печени кур в онтогенезе,  $M \pm m$

Дни развития	Белок в мг/г влажной ткани
15	$9.39 \pm 0.21$ (4)
20	$12.93 \pm 0.35$ (4)
5-дневные цыплята	$15.00 \pm 1.08$ (4)
Взрослые куры	$12.63 \pm 1.09$ (4)

Таблица 5

Количественные сдвиги сухого остатка митохондрий печени кур в онтогенезе,  $M \pm m$

Дни развития	Сухой остаток мг/г влажной ткани
15	$150 \pm 0.98$ (4)
20	$150 \pm 1.18$ (4)
5-дневные цыплята	$180 \pm 3.14$ (4)
Взрослые куры	$190 \pm 2.18$ (4)

При сопоставлении данных содержания митохондриального белка и сухого остатка при пересчете на 1 г влажной ткани, нетрудно заметить, что это соотношение довольно стабильно в конце эмбрионального развития и в раннем постэмбриональном периоде. Однако у взрослых кур соотношение белка и сухого остатка печени заметно снижается. Результаты, проведенных нами опытов подтверждаются и литературными данными, полученными у эмбрионов других птиц (11). Наши данные свидетельствуют о высоком уровне процессов синтеза белка в ткани печени кур в отмеченные периоды развития.

В совокупности вышесказанного можно заключить следующее: содержание АТФ в ткани печени куриного эмбриона по ходу развития сокращается, начиная с 15-го дня развития до вылупления цыпленка. Высоким содержанием креатинфосфата отличается печень 15-дневных эмбрионов. С возрастом эмбриона содержание креатинфосфата в ткани сокращается и достигает своего постоянного уровня у 5-дневных цыплят

и взрослых кур. Содержание митохондриального белка и сухого остатка печени по ходу развития вплоть до вылупления цыпленка увеличивается. Такой закономерности подвергается также свободный фосфат.

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР.

Ի. Բ. ԲԱԴԱԼՅԱՆ, Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ա. Պ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ

### Էներգետիկ փոխանակության մի էանի տեղաշարժերը հավերի լյարդում օնտոգենեզում

Ուսումնասիրվել են ադենուլինեոֆոսֆատի (ԱՏՖ), կրեատինֆոսֆատի, ազատ ֆոսֆատի, ինչպես նաև միտոքոնդրիալ սպիտակուցի և շոր նյութի պարունակության քանակական տեղաշարժերը հավերի լյարդում օնտոգենետիկ զարգացման տարբեր փուլերում: Յույց է տրվել, որ հավի սաղմի զարգացման 15-րդ օրից սկսած ԱՏՖ-ի քանակն աստիճանաբար կրճատվում է մինչև ճտի ձվից դուրս գալը:

Կրեատինֆոսֆատի բարձր պարունակությամբ աչքի է ընկնում 15 օրական սաղմի լյարդը: Հասակին զուգընթաց կրեատինֆոսֆատի քանակությունը աստիճանաբար պակասում է՝ հասնելով իր կայուն մակարդակին 5 օրական ճտերի և հասուն հավերի լյարդում:

Միտոքոնդրիալ սպիտակուցի և շոր նյութի պարունակությունը լյարդում սաղմի զարգացման ընթացքում աճում է մինչև ձվից ճտի դուրս գալը: Նման փոփոխության ենթարկվում է նաև ազատ ֆոսֆատը:

### ЛИТЕРАТУРА — ԴՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> А. А. Симонян, «Известия АН АрмССР» (сер. биол.) т. 18, № 9 (1965). <sup>2</sup> В. И. Махинько, Р. Г. Перепелица, Л. М. Потапенко, С. А. Шейн, Материалы симпозиума по основным проблемам возрастной физиологии и биохимии, Изд. ХГУ, 1965. <sup>3</sup> Т. В. Венкстерн, А. А. Боев, «Биохимия», т. 22, № 6, (1957). <sup>4</sup> А. М. Алексеева, «Биохимия», т. 16, № 97 (1951). <sup>5</sup> O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. Rintzll, J. Biol. Chem., 193, 265(1951). <sup>6</sup> O. H. Lowry, J. A. Lopez, J. Biol. Chem., 162, 421 (1946). <sup>7</sup> А. А. Симонян, Некоторые особенности энергетического обмена в онтогенезе кур. Изд. АН АрмССР, Ереван, 1970. <sup>8</sup> Л. Г. Лейбюк, Сахар крови, Изд. АН СССР, М., 1962. <sup>9</sup> О. Ю. Никитина, «Укр. биохим. журн», т. 35, № 2, (1963). <sup>10</sup> А. А. Симонян, Особенности энергетического метаболизма в мозгу и печени кур в онтогенезе, Диссерт. докт. наук, Ереван, 1973. <sup>11</sup> В. И. Махинько, А. А. Пешикова, Труды ИИИ биологии и биол. факультета ХГУ, 29, 325 (1961).