

УДК 577.3 : 577.1

БИОХИМИЯ

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

Сдвиги в активности различных АТРаз в митохондриях
печени под влиянием детергентов в онтогенезе птиц

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 25/1 1976)

В предшествующих наших работах (^{1,2}) было показано, что общая АТРазная активность в ткани печени последовательно повышается с 13-го дня эмбрионального развития кур вплоть до вылупления цыпленка. Это послужило основанием изучить изменение активности различных АТРаз, активируемых двухвалентными катионами, а также 2,4-динитрофенолом (ДНФ) в изолированных митохондриях (МХ) печени кур в различные периоды их онтогенетического развития под воздействием детергентов. В качестве детергентов использовали трехкратное замораживание и тритон X—100.

Опыты проводили на 15, 20-дневных эмбрионах, 5-дневных цыплятах и половозрелых (годовалых) курах белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по срокам инкубации яиц. Для опытов объединяли печень 15—20 эмбрионов или цыплят.

Методы выделения МХ печени, определения их чистоты и целостности, АТРазной активности приведены в наших предыдущих работах (³⁻⁷). Полученные результаты опытов пересчитаны на 1 мг митохондриального белка, который определяли по методу Лоури и сотр. (⁸). Для выделения активности различных АТРаз катионы использовали в ммольях (в конечной концентрации, общий объем смеси 2 мл): Mg^{2+} — 10, Ca^{2+} — 40, ДНФ добавляли в конечной концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М. Время инкубации 30 мин, температура 26°. Тритон X-100 использовали в количестве 0,9 мг на 2—3 мг митохондриального белка. Замораживание МХ проводили при $-35^{\circ}C$.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что как в контрольных опытах, так и при воздействии детергентов АТРазная активность в изолированных МХ печени возрастает с 15-го дня эмбрионального развития до вылупления цыпленка. Приведенные нами результаты опытов согласуются с литературными данными, полученными на других тканях. По данным Сперелакиса (⁹) удельная активность АТРазы мембран ин-

тактного сердца также постепенно повышается по ходу развития куриного эмбриона.

При обработке тритоном X-100 активность АТРазы по сравнению с свежевыделенными МХ возрастает на 39, 41, 18 и 30% у 15, 20-дневных

Таблица 1

Влияние детергентов на АТРазную активность МХ печени кур в онтогенезе.
Р в мкатамах/мг белка/30 мин. $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Состояние МХ		
	свежевыделенные	после добавления тритона X—100	трижды замороженные
15	1.91±0.25	2.67±0.24 $p=0.05$	2.90±0.10 $p<0.01$
20	2.60±0.23	3.68±0.38 $p<0.05$	3.68±0.12 $p=0.005$
5—дневные цыплята	4.32±0.40	5.12±0.25 $p<0.20$	4.77±0.80 $p>0.50$
Годовалые куры	2.96±0.07	4.09±0.55 $p<0.10$	4.07±0.39 $p<0.025$

эмбрионов, 5-дневных цыплят и половозрелых кур соответственно. При замораживании МХ по сравнению с контролем активность фермента заметно повышается у 15-дневных эмбрионов (на 52%). Прирост активности фермента у 5-дневных цыплят составляет всего 10%.

В присутствии ионов Mg (табл. 2) по сравнению с контролем активность АТРазы заметно повышается (в 4,9; 4,3; 3,0 и 2,2 раза у 15, 20-дневных эмбрионов, 5-дневных цыплят и у кур соответственно). Во

Таблица 2

Влияние детергентов на Mg^{2+} —АТРазную активность МХ печени кур в онтогенезе. Р в мкатамах/мг белка/30 мин. $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Состояние МХ		
	свежевыделенные	после добавления тритона X—100	трижды замороженные
15	9.39±0.42	9.54±0.36	9.47±0.36
20	10.83±0.34	11.83±0.34	10.40±0.37
5—дневные цыплята	13.25±0.35	13.29±0.64	13.30±0.70
Годовалые куры	6.61±0.11	6.74±0.40	6.85±0.22

все изученные периоды развития под воздействием тритона X-100 или замораживания МХ наблюдается лишь незаметное стимулирование Mg^{2+} АТРазы. В МХ печени аналогичным изменениям подвергается также активность Ca^{2+} —АТРазы (табл. 3).

Таблица 3

Влияние детергентов на Ca^{2+} —АТРазную активность МХ печени кур в онтогенезе.
Р в мкатамах/мг белка/30 мин. $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Состояние МХ		
	свежевыделенные	после добавления тритона X—100	трижды замороженные
15	4.75±0.46	4.99±0.28	4.80±0.10
20	5.22±0.02	5.97±0.05	5.07±0.28
5—дневные цыплята	9.06±0.03	10.01±0.24	10.12±0.02
Годовалые куры	5.08±0.04	6.23±0.05	5.50±0.05

Интересные результаты получены относительно активирования АТРазы ДНФом в МХ в онтогенезе (табл. 4). По сравнению с ионами Mg и Ca, в присутствии ДНФ повышение активности фермента по сравнению с результатами, полученными без добавления активаторов

Таблица 4

Влияние детергентов на ДНФ-АТРазную активность в МХ печени кур в онтогенезе. Р в икатамах/мг белка/30 мин. $M \pm m$

Дни развития эмбриона	Состояние МХ		
	свежешеленные	после добавления тритона X-100	трижды замороженные
15	2.12 ± 0.31 $p > 0.5^*$	3.68 ± 0.19 $p < 0.005^{**}$	2.92 ± 0.10 $p < 0.05$
20	3.36 ± 0.12 $p < 0.025$	4.17 ± 0.17 $p < 0.01$	4.19 ± 0.01 $p < 0.001$
5-дневные цыплята	5.76 ± 0.02 $p < 0.01$	6.56 ± 0.02 $p < 0.001$	7.05 ± 0.03 $p < 0.001$
Годовалые куры	3.45 ± 0.04 $p < 0.001$	4.59 ± 0.10 $p < 0.001$	4.19 ± 0.03 $p < 0.001$

* Достоверность прироста активности фермента по сравнению с контролем (табл. 1), без добавления активаторов.

** Достоверность прироста активности фермента по сравнению с контролем с добавлением ДНФ.

(табл. 1), у 20-дневных эмбрионов, 5-дневных цыплят и взрослых кур небольшое, но достоверное. Однако в этих условиях возрастание активности фермента МХ 15-дневных эмбрионов по сравнению с контролем недостоверное ($p > 0.50$).

Во все исследованные периоды онтогенеза кур после обработки МХ детергентами активность ДНФ—АТРазы по сравнению с контролем достоверно возрастает.

Таким образом, как показывают полученные нами данные, общая и стимулируемая Mg^{2+} , Ca^{2+} и ДНФом АТРазная активность по ходу развития куриного эмбриона возрастает, достигая своего максимума у 5-дневных цыплят после вылупления. У кур активность фермента заметно понижена по сравнению с ранним постэмбриональным периодом. Полученные результаты экспериментов подтверждают литературные и наши предшествующие данные об активировании АТРазы в МХ мозга и сердца кур в эмбриональном и постэмбриональном периодах развития и свидетельствуют о возможном усилении расщепления богатых энергией макроэргических связей в конце эмбриогенеза (5-7). По сравнению с другими катионами, а также ДНФ, высокая активность в МХ печени по ходу онтогенетического развития кур отмечается в присутствии Mg^{2+} , затем Ca^{2+} и ДНФ. Эти результаты согласуются с имеющимися в литературе данными (10, 11).

Интересно отметить, что под воздействием детергентов активность Mg^{2+} и Ca^{2+} —стимулируемых АТРаз как при эмбриогенезе, так и в постэмбриональном периоде развития кур по сравнению с контролем почти никаким изменениям не подвергается. Эти результаты позволяют нам предположить, что по ходу развития кур Mg^{2+} и Ca^{2+} —стимулируемые

АТРа́зы локализованы в наружных мембранных образованиях МХ печени.

В присутствии детергентов активность АТРа́зы МХ печени, стимулируемой ДНФом, достоверно повышается во всех изученных нами периодах онтогенетического развития кур. Исходя из этих данных можно предположить, что часть ДНФ-стимулируемой АТРа́зы локализованы в внутренних мембранных образованиях МХ.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР.

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

Լյարդի միտոքոնդրիաների ԱՏՔազաների ակտիվության տեղաշարժերը
դետերգենտների ազդեցության տակ բուշունների օնտոգենեզում

Ուսումնասիրվել է Mg^{2+} , Ca^{2+} և ԴՆՖ-խթանվող ԱՏՔազաների ակտիվության փոփոխությունները հավերի լյարդի միտոքոնդրիաներում օնտոգենետիկ զարգացման տարբեր շրջաններում (15, 20 օրական սաղմ, 5 օրական ճուտ և հասուն հավ)։ Հետազոտվել է նաև տրիտոն X—100-ի և միտոքոնդրիաների եռակի սառեցման ազդեցությունը նշված ԱՏՔազաների ակտիվության վրա։ Ցույց է տրվել, որ ինչպես հիմնական, այնպես էլ Mg^{2+} , Ca^{2+} և ԴՆՖ—ԱՏՔազաների ակտիվությունը սաղմի զարգացմանը զուգընթաց աճում է, հասնելով իր առավելագույն չափերին 5 օրական ճտերի մոտ։ Հասուն հավերի հյուսվածքում, 5 օրական ճտերի համեմատությամբ, ֆերմենտի ակտիվությունը նշանակալիորեն իջնում է։ Տրիտոն X—100-ի ազդեցությամբ և միտոքոնդրիաների սառեցման ու հալեցման դեպքում ինչպես հիմնական, այնպես էլ ԴՆՖ—ԱՏՔազայի ակտիվությունը հավի օնտոգենետիկ զարգացման ուսումնասիրված շրջաններում աճում է։ Նույն պայմաններում Mg^{2+} և Ca^{2+} —ԱՏՔազաների ակտիվությունը միայն չնչին չափով է բարձրանում, և ակտիվությունը սաղմի և հասուն հավերի լյարդում տարբեր ԱՏՔազաների ներմիտոքոնդրիալ հնարավոր տեղաբաշխման վերաբերյալ։

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ А. А. Симонян, «Известия АН АрмССР» (биол. науки), т. 18, № 9 (1965).
² А. А. Симонян, Автореф. канд. дис., Ереван, 1966. ³ А. А. Симонян, Некоторые стороны энергетического обмена в онтогенезе кур, Ереван, 1970. ⁴ А. А. Симонян, «Известия с/х наук МСХ АрмССР», № 3, 1970. ⁵ А. А. Симонян, Дис. докт. наук, Ереван, 1973. ⁶ А. А. Симонян, Г. А. Геворкян, Р. А. Степанян, Л. О. Восканян, ДАН АрмССР, т. LXII, № 1 (1976). ⁷ А. А. Симонян, Г. А. Геворкян, Р. А. Степанян, Л. О. Восканян, «Биол. журн. Армения», т. 29, № 2 (1976). ⁸ O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, R. J. Randall, J. Biol. Chem., v. 193 (1951). ⁹ W. Sperelakis, Biochem. et biophys. acta, v. 266, № 1 (1972). ¹⁰ D. K. Parkison, I. C. Radde, Biochim. acta, v. 242, № 1 (1971). ¹¹ J. C. Skou, Biochim. et biophys. acta, № 7 (1957).