

ԲԻՈԳԵՄԻԱ

УДК 577.15+577.3

Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ռ. Բ. ԲԱԴԱՆՅԱՆ

ԱՏՖազային ռեակցիայի կարգավորումը ճտի զարգացման ընթացքում
թերջերմության պայմաններում

(Ներկայացվել է Հայաստանի ԳԱԱ ակադեմիկոս Ա. Ա. ԳԱՆՈՏԱՆԻ կողմից,
10/XI 1994)

Մեր նախկին աշխատանքներում (^{1,2}) ցույց էր տրվել, որ հոմոյոթերմ փոխանակային ռեակցիաների դրսևորում հավի ճտի տարբեր հյուսվածքներում դիտվում է դեռևս սաղմնային զարգացման պտղային շրջանի սկզբում: Հատկապես ցույց էր տրվել, որ սաղմնային զարգացման 10-րդ օրից սկսած ձվերի պարբերաբար պաղեցումները բերում են, ավելի շատ մկաններում, և համեմատաբար պակաս լյարդում օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման փեղեքման: Նման փաստը բացատրվում է նրանով, որ պաղեցման դեպքում շնչառության բարձրացումը բերում է ջերմարտադրության մեծացման, իսկ օքսիդացման փոխադրումը ոչ ֆոսֆորիլային ուղի առավելագույն չափով պարգեցնում է շնչառության ֆունկցիան և նախադրյալներ ստեղծում մարմնի կայուն ջերմաստիճանի պահպանման համար, քանի որ այդ դեպքում օքսիդացող նյութերի էներգիան անմիջապես փոխարկվում է ջերմության, շրջանցելով ԱՏՖ-ի առաջացման և օգտագործման մեխանիզմները: Ինչպես երևում է, սաղմերի պարբերաբար պաղեցումների դեպքում շնչառության ու ֆոսֆորիլացման փեղեքումը, թթվածնի կյանման աճի հետ միասին, հանդիսանում է ջերմության մոբիլիզացման շուտափույտ մեխանիզմ:

Բերված տվյալների հիման վրա այս աշխատանքում մենք ուսումնասիրել ենք ադենոզինիոֆոսֆատազային (ԱՏՖազային) ակտիվության կարգավորումը հավի սաղմի հյուսվածքներում զարգացման տարբեր փուլերում ինկուբացվող ձվերի պարբերաբար պաղեցման պայմաններում:

Ձվերի ինկուբացումը կատարվել է ԻԼՈՒ-Ֆ-ՈՅ ինկուբատորում՝ համապատասխան ջերմաստիճանի և խոնավության պայմաններում: Փորձերի համար նախատեսված ձվերն ինկուբացման 12-րդ օրից՝ օրական 3 անգամ, որոշակի ընդմիջումներով, ենթարկվել են պաղեցման, մինչև կճեպի մակերեսին ջերմությունը հասել է 28°-ի: Փորձերը դրվել են 15, 20 օրական սաղմերի և 5 օրական ճտերի վրա:

Հետազոտվել է Mg^{2+} -կախյալ, Na^+ , K^+ -ակտիվացվող և Na^+ K^+ -ԱՏՖ ազանների ակտիվության փոփոխությունները ճտի պլազմալիզ, կմախքային և սրտի մկաններից անջատված միկրոսոմային ֆրակցիայում: Միկրոսոմներն անջատվել են վերնստվածքային հեղուկը 30 րոպե 105000 g-ի պայմաններում ցենտրիֆուգելու եղանակով: Na^+ , K^+ -ԱՏՖազային ակտիվությունը որոշվել է Na^+ , K^+ , Mg^{2+} -ի և այդ իոնների ու ուաբաինի ներկայությամբ ստացված տվյալների տարբերությամբ: Ինկուբացման հեղուկում $NaCl$ -ի խտությունը կազմել է 120, KCl -ինը՝ 20, $MgCl$ -ինը՝ 5 միլիմոլ:

Անօրգանական ֆոսֆորի որոշումը կատարվել է ըստ Լոուրիի և Լոպեզի. (3), սպիտակուցը՝ Լոուրիի և աշխ. (4):

Հետազոտություններից ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ ստուգիչ փորձերում ուղեղի միկրոսոմներում Mg^{2+} -կախյալ Na^+ , K^+ և Na^+ զայն ակտիվությունը հավի սաղմի զարգացման ընթացքում աճել է մինչև ձվից ճտի դուրս գալը (աղյուսակ 1): Ֆերմենտի ակտիվության հետադա աճ դիտվել է 5 օրական ճտերի ուղեղում: Ֆերմենտի ակտիվության դինամիկայի նման օրինաչափություն ստացվել է նաև ձվերի պարբերաբար պաղեցման դեպքում: Ինչպես ցույց են տալիս այս աղյուսակում բերված տվյալները, պաղեցման դեպքում, ստուգիչի համեմատությամբ, ֆերմենտի ակտիվությունը աճում է (13 և 22% 15 և 20 օրական սաղմերի և 24% 5 օրական ճտերի ուղեղում):

Աղյուսակ 1

Na^+ , K^+ և Mg^{2+} -ի ազդեցությունը և Na^+ զայն ակտիվության վրա բերելի մոթյան դեպքում հավի էմբրիոգենեզում /ΔP մկ. առում/ մգ. սպիտակուցին /300 բուլե/ $M \pm m$.

Սաղմի հասակը	Ստուգիչ	Պաղեցում	Ակտիվության աճը
Ուղեղ			
15 օրական	4.13 ± 0.13	4.69 ± 0.09	13
20 օրական	6.51 ± 0.37	7.96 ± 0.41	22
5 օրական ճուտ	7.09 ± 0.17	8.82 ± 0.27	24
Լյարդ			
15 օրական	4.82 ± 0.14	3.46 ± 0.18	
20 օրական	4.95 ± 0.20	4.92 ± 0.18	
5 օրական ճուտ	4.12 ± 0.03	3.95 ± 0.03	
Կմախքային մկաններ			
15 օրական	22.2 ± 0.01	29.6 ± 0.68	33
20 օրական	26.0 ± 0.17	35.3 ± 0.48	35
5 օրական ճուտ	23.1 ± 0.27	24.9 ± 0.47	8
Որտամկան			
15 օրական	10.39 ± 0.35	13.7 ± 0.23	32
20 օրական	8.68 ± 0.24	9.65 ± 0.23	11
5 օրական ճուտ	8.77 ± 0.16	11.30 ± 0.12	29

Փորձերի քանակը՝ 8—15:

Ձվերի պաղեցման դեպքում սաղմի զարգացման տարբեր շրջաններում ֆերմենտի ակտիվությունը լյարդի միկրոսոմներում էական փոփոխությունների չի ենթարկվում, մինչդեռ կմախքային մկաններում սաղմնային շրջանում ձվերի պաղեցման հետևանքով ֆերմենտի ակտիվության աճը կազմել է 33—35% (աղյուսակ 1): Կարելի է ենթադրել, որ լյարդի ենթաբջջային մասնիկներն ավելի կայուն են տատանողական ջերմաստիճանների ազդեցությանը, որը համընկնում է գրականության տվյալներին (5):

Ձվերի պաղեցման հետևանքով ֆերմենտի ակտիվության վերաբերյալ հետաքրքիր տվյալներ են ստացվել նաև սրտամկանի միկրոսոմներում (աղյուսակ 1): 15 օրական սաղմերի սրտամկանում պաղեցման հետևանքով ֆերմենտի ակտիվությունը զգալիորեն (ստուգիչի համեմատությամբ մինչև 32%) աճել է: Սակայն 20 օրական սաղմերի մոտ այն գրեթե 3 անգամ կործատվել է և բարձրացել միայն հետսաղմնային շրջանում՝ 5 օրական ճտերի սրտամկանում:

Na^{2+} , K^+ -և Na^+ զայն ակտիվության վերաբերյալ տվյալները բերված են աղյուսակ 2-ում: Ինչպես ցույց են տալիս այդ տվյալները ուղեղի միկրոսոմներում առանց պաղեցման փորձերում Na^+ , K^+ -և Na^+ զայն ակտիվությունը

Na⁺, K⁺-ԱՏՖազային ակտիվությունը միկրոսոմներում քերօքսմոլային դեպքում ճավի էմբրիոգենեզում (ΔP մկ ատոմ մգ սպիտակուցին/30 րոպե/ $M \pm m$).

Սաղմի հասակը	Մոտոգիչ	Պաղեցում	Ակտիվության աճը %
Ուղեղ			
15 օրական	0.92 ± 0.07	1.02 ± 0.03	10
20 օրական	1.85 ± 0.09	1.77 ± 0.10	5 (ճնշվել է)
5 օրական ճուտ	1.74 ± 0.04	1.86 ± 0.01	7
Կմախքային մկաններ			
15 օրական	4.70 ± 0.35	8.50 ± 0.18	80
20 օրական	5.80 ± 0.45	7.00 ± 1.09	20
5 օրական ճուտ	7.0 ± 0.62	9.20 ± 0.70	31
Սրտամկան			
15 օրական	3.04 ± 0.22	2.60 ± 0.10	15 (ճնշվել է)
20 օրական	1.24 ± 0.12	2.02 ± 0.11	62
5 օրական ճուտ	1.44 ± 0.11	1.96 ± 0.03	36

Փորձերի քանակը՝ 8—15:

Նավի սաղմի էմբրիոգենեզում աճում է մինչև ձվից ճտի դուրս գալը: Ֆերմենտի ակտիվության աճն այդ դեպքում, 15 օրական սաղմերի համեմատությամբ, 20 օրականների և 5 օրական ճտերի մոտ կազմել է 100 և 89% համապատասխանաբար: Նման օրինաչափություն ստացվել է նաև ձվերի պարբերաբար պաղեցման պայմաններում (15 օրականների համեմատությամբ 20 օրական սաղմերի և 5 օրական ճտերի ֆերմենտի ակտիվության աճը կազմել է 73 և 82%): Սակայն ձվերի պաղեցման հետևանքով Na⁺, K⁺-ԱՏՖազային ակտիվության աճը մեծ չէ, իսկ 20 օրականներինը նույնիսկ ճնշվել է:

Կմախքային մկաններում Na⁺, K⁺-ԱՏՖազային ակտիվությունը էմբրիոգենեզում նույնպես աճում է, ընդ որում պաղեցումները զգալիորեն խթանում են այն (հատկապես 15 օրական սաղմերի՝ 80% և 5 օրական ճտերի մոտ՝ 31%):

Na⁺, K⁺-ԱՏՖազայի բարձր ակտիվություն դիտվում է 15 օրական սաղմերի սրտամկանում, սակայն հետագա փուլերում այն դրեթե երկու անգամ իջնում է: Սակայն ձվերի պաղեցման հետևանքով ֆերմենտի ակտիվության աճը 20 օրական սաղմերի և 5 օրական ճտերի մոտ անհամեմատ բարձր է 15 օրականների հետ համեմատած:

Ստացված փորձարարական տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ ձվերի ինկուբացման շրջանում սաղմերի պարբերաբար պաղեցումները ոչ միայն փեղեքում են օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացումը ⁽¹⁾, այլև խթանում են Mg²⁺-կախյալ, Na⁺, K⁺-ակտիվացվող, ինչպես նաև Na⁺ K⁺-ԱՏՖազաների ակտիվությունը (ավելի շատ մկանային հյուսվածքում և համեմատաբար թույլ լյարդում): Այդ տեսակետից շնչառության անջատումը ֆոսֆորիլացումից և ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունները լյարդում կարելի է համարել որպես «դանդաղ ադապտացիա, իսկ մկաններում՝ «արագ ադապտացում» ⁽²⁾: Հավանաբար լյարդում կատարվող դանդաղ փոփոխությունները հանդիսանում են նյոր ջերմային պայմաններում նյութափոխանակության ընդհանուր վերակառուցման արդյունք:

Որգանիզմի վրա ցածր ջերմաստիճանների ազդեցության վերաբերյալ հետազոտությունները, հատկապես երբ այդ կախված է արհեստական պայմաններում ցրտին հարմարվելու ֆիզիոլոգիական մեխանիզմների բացահայտման հետ, կարևոր են ոչ միայն ջերմային հարմարողականության տիպերը բացահայտելու, այլև ջերմային ադապտացիայի պնահատման տեսակետից

(7)։ Զերմակարգավորման ժամկետների հաստատումը և դրա արդյունավետությունը ճտի մոտ մեծ մասամբ կախված է սաղմնային զարգացման ջերմային պայմաններից։ Ցածր ջերմաստիճանների պարբերական ազդեցությունը ոչ միայն բերում է պաղեցումների միջև փոխանակային պրոցեսների կոմպենսատոր ուժեղացմանը, այլև արագացնում է քիմիական ջերմակարգավորման միացումը, որի ձևավորումը բնախույս թռչունների մոտ դիտվում է դեռևս զարգացման պաղային շրջանում (8)։ Ինկուբացման ջերմաստիճանի իջեցումը հանդիսանում է առաջին թափը քիմիական ջերմակարգավորման միացման համար։ էմբրիոգենեզի ընթացքում ցածր ջերմաստիճանների նկատմամբ ադապտացման զարգացումը ապահովում է ցրտի ազդեցության նկատմամբ դիմադրողականության ձեռք բերումը, արագացնում է մարմնի կայուն ջերմաստիճանի հաստատումը, որն անվիճելի գործնական նշանակություն ունի՝ բարձրացնելով մատղաշի ելքը և որակը շատեցված ձվերից ստացված ճտերի համեմատությամբ։

Հայաստանի ԳԱԱ կենսաքիմիայի ինստիտուտ

А. А. Симонян, Р. Б. Бадалян

Регуляция АТРазной реакции по ходу развития цыпленка в условиях гипотермии

Полученные результаты показывают что Mg^{2+} -зависимая, Na^+ , K^+ -активируемая АТРазная активность в микросомах мозга по ходу развития куриного эмбриона до вылупления возрастает. При гипотермии активность фермента в тех же частицах у 15- и 20-дневных эмбрионов, по сравнению с контролем, увеличивается на 13 и 22% соответственно, а у 5-дневных цыплят—на 24%. В скелетных мышцах прирост активности фермента в тех же условиях эксперимента в разные периоды эмбрионального развития составляет 33—35%. Однако в печени активность АТРазы заметным изменениям не подвергается.

Na^+ , K^+ -АТРазная активность в микросомальной фракции мозга резко возрастает по ходу эмбрионального развития цыпленка. Прирост активности фермента у 20-дневных эмбрионов и 5-дневных цыплят, по сравнению с 15-дневными эмбрионами составляет 100 и 89% соответственно. Аналогичные сдвиги каталитической активности фермента в мозгу получены также при гипотермии. Колебательные температуры инкубирования яиц стимулируют также ферментативную активность в скелетных мышцах.

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԴԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ А. А. Симонян, Р. А. Степанян, Е. Б. Месропян, Журнал эволюционной биохимии и физиологии, т. 24, № 3, с. 432—436 (1988).
- ² А. А. Симонян, Р. А. Степанян, Р. А. Симонян и др., Биол. турн. Армении, т. 41, № 1, с. 64—67 (1988).
- ³ О. Н. Lowry, J. A. Lopez, J. Biol. Chem., № 162, p. 421—433 (1946).
- ⁴ О. Н. Lopez, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., J. Biol. Chem., № 193, p. 265—275 (1951).
- ⁵ С. Е. Северин, В. П. Скулачев, С. П. Маслов и др., ДАН СССР, т. 131, № 6, с. 1447—1450 (1960).
- ⁶ В. П. Скулачев, С. П. Маслов, Биохимия, т. 25, № 6, с. 1055—1064 (1960).
- ⁷ Р. П. Ольянская, О гомеостатических реакциях организма и его физиологических состояниях, Наука, Л., с. 43 (1969).
- ⁸ В. В. Хаскин, Журн. общей биологии, № 32, с. 451—459 (1971).
- ⁹ И. Г. Макаров, Птицеводство, № 5, с. 23—25 (1965).
- ¹⁰ А. Шапкова, Птицеводство, № 8, с. 28 (1967).
- ¹¹ И. Третьяков, Ц. Руус, А. Эссенсон и др., Журн. общей биологии, т. 25, № 3, с. 237—239 (1964).