

## ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ У КУР В ЭМБРИОНАЛЬНОМ И РАННЕМ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДАХ.

*Турганбаева Анипа Самудиновна – кандидат биологических наук, доцент, Кыргызский Государственный Университет им И.Арабаева, 720026, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Раззакова 51, a.s.turganbaeva@mail.ru*

*Абдираимова Нуриза Абдикайымовна магистрант, Кыргызский Государственный Университет им И.Арабаева, 720026, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Раззакова 51*

*Абдыкадырова Назгул, магистрант, Кыргызский Государственный Университет им И.Арабаева, 720026, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Раззакова 51*

**Аннотация** У кур племенного кросса Хай-Лайн (Hy-LineBrown) в период эмбриогенеза и впервые дни после вылупления оценивается активности ферментов - трансфераз-аспартат амнотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераз-(АЛТ) и креатинкиназа (КК)

**Ключевые слова:** куриные эмбрионы, цыплята, трансферазы, креатинкиназа

### STUDY OF THE ACTIVITY OF BLOOD ENZYMES IN CHICKENS IN THE EMBRYONIC AND EARLY POSTEMBRYONIC PERIODS.

*Turganbaeva Anipa S., dozent, Kyrgyzstan, 720026, Bishkek c., I. Razzakov st. 51, I. Arabaeva KSU, e-mail: [a.s.turganbaeva@mail.ru](mailto:a.s.turganbaeva@mail.ru)*

*Abdiraimova Nuriza A., graduate student, Kyrgyzstan, 720026, Bishkek c., I. Razzakov st. 51, I. Arabaeva KSU*

*Abdykadyrova Nazgul S., graduate student, Kyrgyzstan, 720026, Bishkek c., I. Razzakov st. 51, I. Arabaeva KSU*

In the Hy-Line Brown tribal cross chicken, during the embryogenesis period and for the first time after hatching, the enzymes -transferase-aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) and creatine kinase (CC)

**Key words:** chicken embryos, chickens, transferases, creatine kinase and lactate dehydrogenase.

Одним из показателей физиологического состояния организма при изучении факторов экзогенного происхождения является кровь, по состоянию показателей которой можно определить обеспеченность организма питательными веществами, дать объективную оценку физиологического статуса организма в целом.

В настоящее время биохимические методы как и морфологические методы исследования в эмбриологии являются основополагающими. Поэтому неслучайно, современные направления являются естественным продолжением ранее начатых исследований, но, как правило, они приобрели качественно новый характер и новые возможности, благодаря использованию новых технологий и новых объектов исследования. Как известно наиболее подходящим объектом таких исследований являются птичьи эмбрионы [Baumann, Meuer, 1992; Fritsche et.al., 2000; Ruijtenbeek et al., 2002; Sutendra et.al.,

2007].

Известно [Забудский Ю.И. 2004], что на некоторых этапах инкубации смертность эмбрионов особенно высока из-за резких скачкообразных изменений в организме (например, переход от аллантаоисного дыхания к легочному), что становится причиной высокой напряженности, в период формирования зрелого русла в некоторых мышцах возникает состояния тканевой гипоксии (ее называют «физиологической» [Druyan et. al., 2007], во время которой происходит активный капиллярогенез, а нередко и нарушение многих метаболических процессов. [Симонян А.А. 1973. Тагиров М.Т., Терещенко А.В. 2009].

В настоящее время оценку физиологического состояния животных принято проводить по определению активности ферментов, позволяющим определять ранние и глубокие нарушения обмена веществ. (Ласкавий, Малинин 2010)

Последнее время внимание ученых фокусируется на развитии активности ферментов в конце эмбрионального периода и сразу после выведения цыплят.

Данные о таких ключевых ферментах, приведенные рядом авторов [Зайцев С.Ю., Конопатов Ю.В., 2005; Daneshyar et.all. 2009; Decuypere, Willemsen, 2011] в эмбриогенезе и раннем постнатальном онтогенезе, иногда не совпадают.

Несмотря на многочисленные исследования (Christensen et.all. 2004; Imagawa et.all 2006) достаточного понимания роли данных ферментов в эмбриональном развитии органной кровеносной системы и изменении активности в эмбриональном развитии органной кровеносной системы пока остается открытым.

Выше изложенные теоретические предпосылки определили необходимость выполнения настоящей работы.

Настоящая работа, в известной мере, подобна ранее проведенных работах по исследовании активности ферментов -трансфераз . (Турганбаева и др 2014, ) Как мы уже отметили для полной оценки состояния ферментов центральной зоны метаболизма в настоящей работе приводятся результаты наших исследований активности ферментов-креатинкиназы у кур во второй половине их эмбриогенеза, и проводится сравнение активности с трансферазами сыворотке крови таких же эмбрионов. Для этого использованы данные из полученных (Турганбаева и др 2014,) , и дополнены новыми материалами.

#### **Материалы и методы исследований:**

Основным объектом нашего исследования были куриные эмбрионы и домашние куры породы Хай-Лайн. Инкубационные яйца кур по определению сывороточных ферментов приобретали на птицефабрике ОАО «Ак-Куу» с.Сокулук Сокулукского района.

Эмбрионы дорастивали до необходимого возраста в автоматическом специальном инкубаторе (ДИП 56Ж) при температуре 38<sup>0</sup>С, непрерывной аэрации атмосферным воздухом, насыщенным водяными парами, и автоматическая ротация яиц. Исследование эмбрионов проводилось на 9-11-, 14-15- и 18-20-е сутки. В тексте их называем как 10-, 15- и 19- суточными эмбрионами, а также 1-3-х суточные цыплята. Цыплята выращивались в просторных клетках с достаточным количеством корма и воды.

Часть работы выполнена в лаборатории нейрофизиологии Института горной физиологии НАН КР в период с 2015 по 2018 г. У эмбрионов и цыплят берут кровь. После получения сыворотки крови в специальных пробирках помещали в термос со льдом для перемещения в лабораторию биохимических исследований МЦ «Хуман» (г.Бишкек) для определения активности ферментов.

Определение аспаратамино (АСТ) и аланинамино(АЛТ) -трансферазы и **общей активности креатинкиназы в сыворотке крови** проводили по многоточечной кинетике спектрофотометрическим методом с реактивами Реагенты фирмы «HUMAN», Германия GOT ASAT GPT ALAT.

Опыты на эмбрионах проводились без наркоза; цыплятам и иногда 19-суточным эмбрионам вводили внутривенно раствор уретана в дозе 1-3 г/кг.

Статистическая обработка полученных данных проводилась стандартными методами с определением средней арифметической (M) и ее ошибки (m); при этом число измерений (n) равнялось числу органов и птиц. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента для  $p \leq 0.05$ .

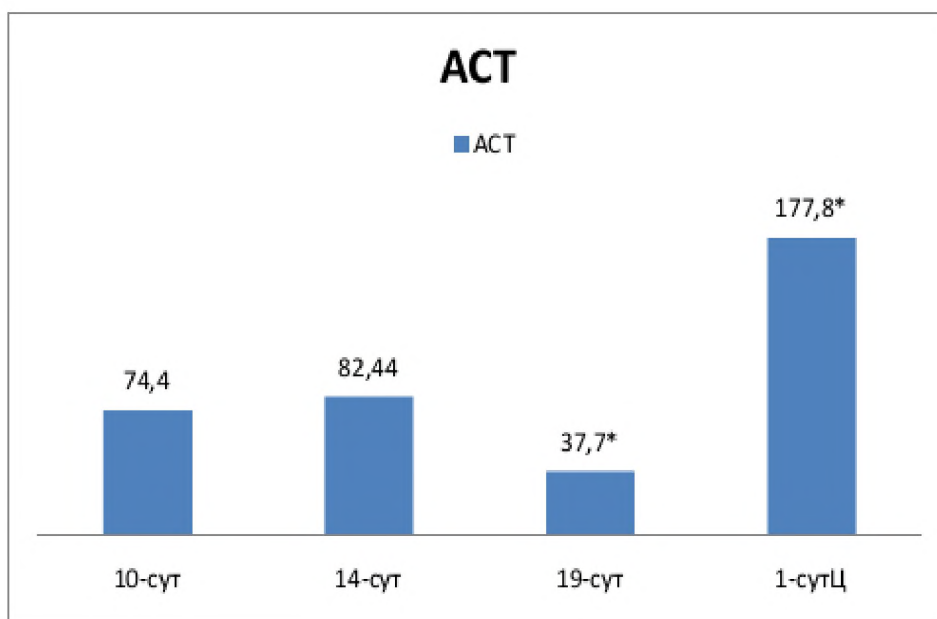
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### Изменение активности ферментов крови у кур в эмбриональном и раннем постэмбриональном периодах.

Результаты исследование в сыворотке крови в постнатальном онтогенезе у цыплят активность АСТ в 1-3- дневном возрасте составила  $177.8 \pm 14.5$ ед/л, а АЛТ  $14.4 \pm 2.8$ . что согласуется с данными полученные на цыплятах [Owosibo et.al, 2013].

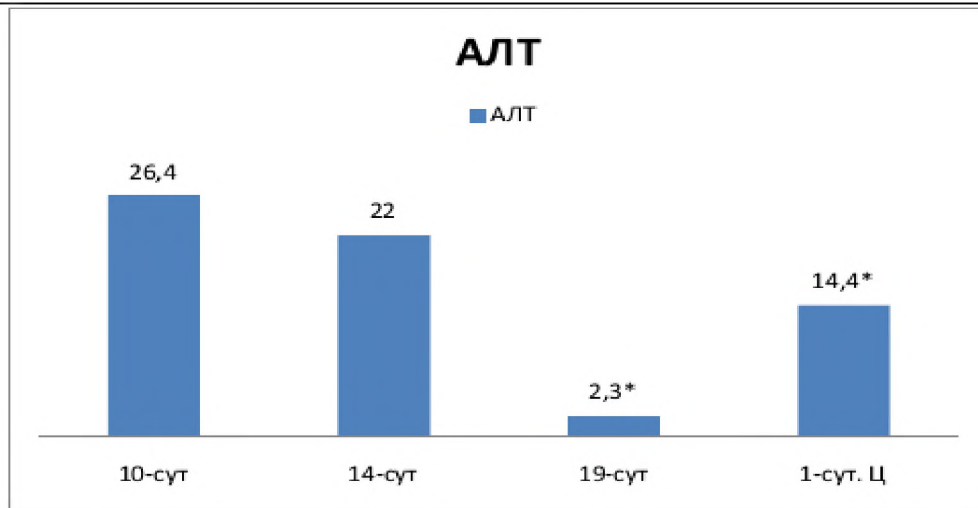
В эмбриональный период развития активность АСТ отмечается тенденция к повышению 15-суточных, тогда как у 19-суточных отмечается значительное снижение затем пик ферментативной активности достигает максимуму к моменту вывода.

Общеизвестно что активность этого фермента высока в органах и тканях с преобладанием аэробного окисления. Аспартатаминотрансфераза (АСТ) - фермент, катализирующий перенос аминогруппы с аспарагиновой кислоты на  $\alpha$ -кетоглутарат. Значение АСТ отражает состояние катаболического звена метаболизма, интенсивность процессов цикла Кребса, регулирует поступление субстратов в цикл трикарбоновых кислот с последующим аэробным окислением



Примечание. Показаны достоверные различия активности ферментов в сыворотке крови с предыдущими сутками. \* $P \leq 0.05$

По сравнению с АСТ активность АЛТ начинает проявляться с 8-10-дня развития и далее незначительно снижаясь достоверному снижению достигает у 19-суточных эмбрионов. А значительное повышение активности и АСТ и АЛТ наблюдаются после вылупления у цыплят. Но уровень активности АЛТ не достигает значениям у 10 –суточных эмбрионов.

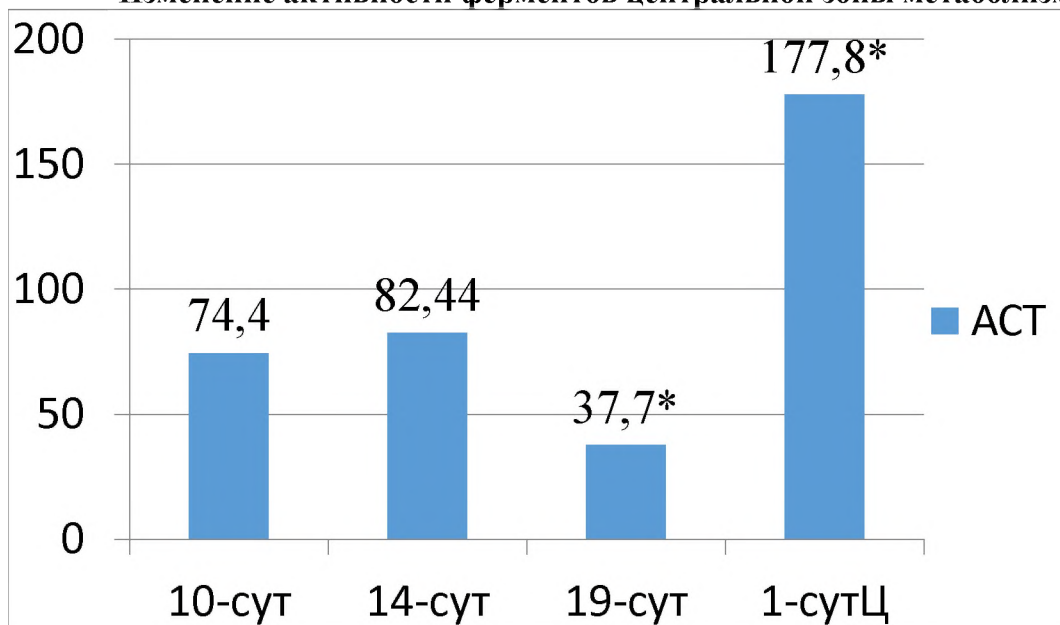


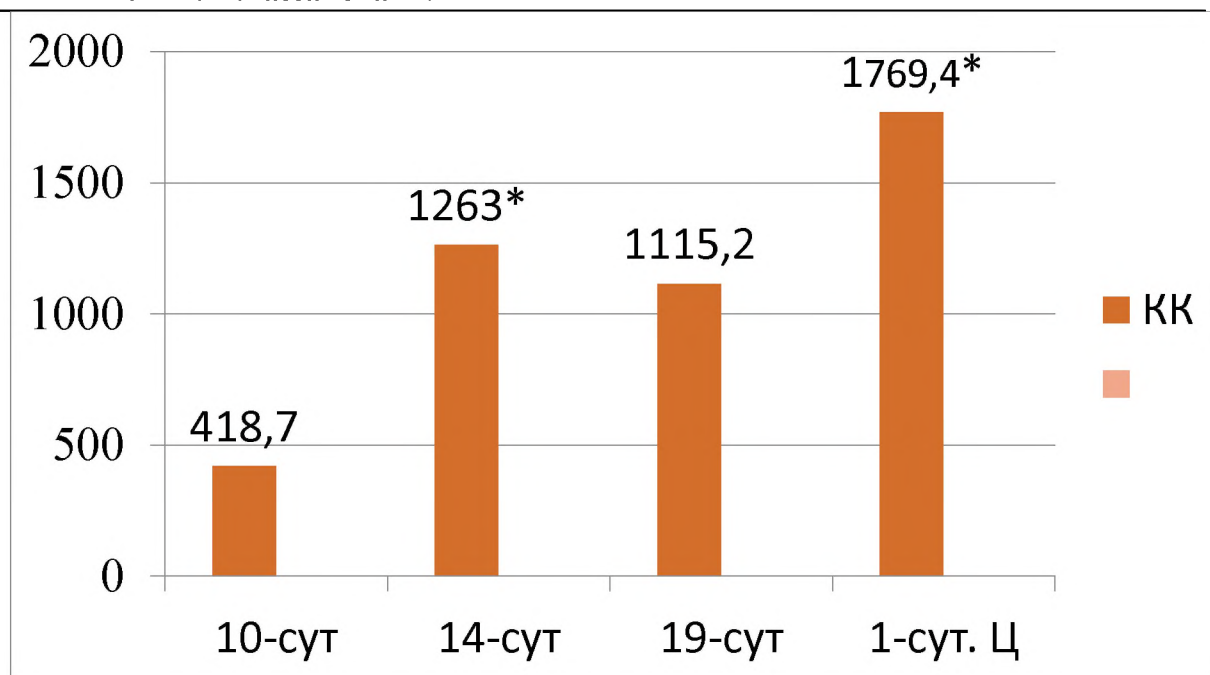
Примечание. Показаны достоверные различия активности ферментов в сыворотке крови с предыдущими сутками. \* $P \leq 0.05$

Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) высока в органах и тканях с преобладанием анаэробного окисления, например в печени. Поскольку холестерин синтезируется в печени, целесообразно определять его уровень для того, чтобы убедиться, что снижение активности АЛТ связано не с угнетением функциональной активности гепатоцитов, а именно со снижением доли анаэробного окисления.

Креатинкиназа так же как АСТ является ферментом, характеризующих центральную зону метаболизма, связанную с циклом трикарбоновых кислот и при этом показатели АСТ и КК отражают интенсивность аэробных процессов окисления.

#### Изменение активности ферментов центральной зоны метаболизма





Примечание. Показаны достоверные различия активности ферментов в сыворотке крови с предыдущими сутками. \* $P < 0.05$

Креатинкиназа участвует в энергообеспечении клеточного метаболизма осуществляя депонирование химической энергии в виде креатинфосфата или ресинтеза АТФ для поддержания высокого соотношения АТФ/АДФ (Newsholme, 1993; Weber, 1993; Медведев, Волчек, 1995).

Креатинкиназа (КК) - фермент, катализирующий реакцию фосфорилирования креатина, протекающую в аэробных условиях с использованием энергии связи АТФ в тканях и органах с высокой активностью анаэробного окисления. (Маршалл 2000;) Поэтому увеличение значения КК говорит о возрастании аэробного окисления. При сравнении динамики активности ферментов центральной зоны метаболизма АСТ и КК, на первый взгляд динамика схожи но изменение активности КК значительные: т.е. активность КК к 14-15-сутке достоверно повышается в три раза, далее если у 19-суточных у АСТ снижение значительные, у КК тоже снижается но не значимы, затем пик ферментативной активности достигает максимуму (и у АСТ и КК) к моменту вывода. Таким образом увеличения значения активности этих ферментов характеризуют о возрастании аэробного окисления.

Доступные литературные данные об уровне активности КК животных в период развития не многочисленны и противоречивы. Исследования, проведенные по изучению уровня КК во взаимосвязи с физиологическим состоянием в возрастном аспекте у кур в условиях Кыргызстана, требуют более детального исследования

#### Список литературы

1. Забудский Ю.И. Особенности биологии развития яичных цыплят в выводном шкафу инкубатора. Журнал «Птицеводство», 2004 № 4,
2. Зайцев С.Ю., Конопатов Ю.В., Биохимия животных. Изд-во Спб, 2005, 384
3. Ласкавый В.Н., Малинин М.Л. Способ оценки физиологического состояния ор-ганизма цыплят. RU № 2399203 С1 по кл. МПК А01К67/00, А61В99/00 (2006.01). Заявл. 11.03.2009.
4. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия / пер. с англ. М.-СПб.: БИНОМ; Невский диалект, 2000. 289 с.
5. Медведев В. В., Волчек Ю. З. Клиническая лабораторная диагностика:

справочник для врачей / под ред. А. И. Карпищенко. СПб.: Гиппократ, 1995.

6. Симонян А.А. Особенности энергетического метаболизма в мозгу и печени кур в онтогенезе: Автореф. дис. докт. биол.наук. Ереван, 1973, 50-67 с
7. Тагиров М.Т., Терещенко А.В., Питание и основные метаболические пути в развивающемся зародыше птицы. Журнал имени Каразина Харьковского национального университета, 2009.Выпуск № 10, 49-59
8. Турганбаева А.С., Агеева М.А., Хорошилова А.А., Абдыкеримова К.Ш ,Исучение активности трансфераз у эмбрионов кур. во второй половине эмбриогенеза и в первые дни после вылупления. // Вестник КГУ им. И.Арабаева Спец.выпуск.Бишкек. 2014., 455-457
9. Baumann R., Meuer H-J. Blood Oxygen Transport in the Early Avian Embryo. *Physiological reviews*1992. Vol. 72, No. 4,
10. Christensen V.L., Wineland M.J., Fassenko G.M., Donaldson W.E. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos // *Poult. Sci.* — 2001. -№ 80. — P. 1729—1735.
11. Daneshyar M., Kermanshahi H. and GolianA. Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites.*Poultry Science*. 2009
12. Decuypere. E &. Willemsen H Physiological control mechanisms during late embryogenesis and during pipping and hatching. *Chick programm. on-line Issue No.37* . 2011
13. Druyan S., Cahaner A., Ashwell C.M. The expression patterns of hypoxia-inducing factor subunit  $\alpha$ -1, hemoxygenase, hypoxia up regulated protein 1, and cardiac troponin T during development of the chicken heart // *Poult. Sci.* 2007. V.86: 2384 – 2389.
14. Fritsche R. Schwerte T., Pelster B. Nitric oxide and vascular reactivity in developing zebrafish, *Danio rerio* // *Am.J.Physiol. (Regulatory Integrative Corp. Physiol.)*., 2000. V. 279. P. R2200 R2207 in developmental physiology of the cardiovascular system: a traditional model with new possibilities // *Am. J. Physiol.*, 2002. V. 283. P. R549-R551.
15. Imagawa T, Yamamoto, E. Sawada, M. Okamoto, M. and Uehara M. Expression of Lactate Dehydrogenase-A and -B Messenger Ribonucleic Acids in Chick Glycogen Body// *Poultry Science* -2006-№ 85.- 1232–1238
16. Newsholme E.A., Stuart C. *Regulation in Metabolism*. Wiley, 1993
17. Owosibo,A,O.Odetola O.M., Odinsu O.O.,Adejinmi,O.O. and Lawrence-Azua,O.O.//Growth, haematology and serum biochemistry of broilers fed probiotics based diets// *Afr. J. Agric. Res.* Vol . 2013.8(41), pp. 5076-5081,
18. .Sutendra G., Michelakis E.D. The chicken embryo as a model for ductus arteriosus developmental biology: cracking into new territory // *Am. J. Physiol.*, 2007. V. 292. P. R481 R484