

Турганбаева А.С., Абдыкеримова К.Ш.

**ЭМБРИОГЕНЕЗДИН ЭКИНЧИ ЖАРЫМЫНАН ЖАНА
ИНКУБАТОРДОН ЧЫККАНДАН КИЙИНКИ АЛГАЧКЫ КҮНДӨРДӨГҮ
ТООКТОРДУН КАНЫНДАГЫ ГАММАГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫНЫН
АКТИВДҮҮЛҮГҮНӨ АМИНОТРАНСФЕРАЗЛАРДЫН
АКТИВДҮҮЛҮГҮНҮН ӨЗГӨРҮШҮНӨ ЖАРАША БАА БЕРҮҮ**

Турганбаева А.С., Абдыкеримова К.Ш.

**ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ГАММАГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ
В СВЯЗИ С ИЗМЕНЕНИЕМ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ
В КРОВИ У КУР ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА
И В ПЕРВЫЕ ДНИ ПОСЛЕ ВЫЛУПЛЕНИЯ**

A.S. Turganbaeva, K.Sh. Abdykerimova

**ASSESSMENT OF GAMMAGLUTAMYLTRANSFERASE
ACTIVITY IN CONNECTION WITH CHANGE
IN BLOOD AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN CHICKENS
IN THE SECOND HALF OF EMBRYOGENESIS AND
IN THE FIRST DAYS AFTER HATCHING**

УДК: 577.151.591.3

Хай-Лайн тукумундагы тооктордун эмбриондорунда жана балапандарында кан сары суусунда ферменттердин трансфераза классынын негизги өкүлү - гамма-глутамил-трансферазанын (ГТТ), активдүүлүгү, аспартат жана аланинаминотрансферазалардын (АСТ жана АЛТ) активдүүлүгү менен болгон байланышынын өзгөчөлүктөрүнүн мүнөздөмөлөрү бааланат. Кандын сары суусунда ГТТ-нын активдүүлүгү эмбриогенездин 14-15-күнүндө аныкталат жана 19 күндүк эмбриондор менен 3 күндүк балапандарда олуттуу көбөйөт. ГТТнын мындай жогорулашы органдардын клеткалары аркылуу аминокислоталарды, айрыкча боордун карыз алуусунун көбөйүү шартында булчуң белокторунун ажыроо процессинин күчөшүн күбөлөндүрөт; Тескерисинче, АЛТ бүт эмбриондук мезгилде төмөндөө тенденциясын көрсөтүп, 19 күндүк эмбриондордо кыйла төмөндөйт. Ал эми балапандарда АЛТ активдүүлүгүнүн кыйла жогорулашы байкалат. АЛТнын олуттуу төмөндөшү – эмбриондордун бүткүл өнүгүү мезгилинде ГТТ-нын активдүүлүгүнүн жогорулашына түрткү берүүчү механизм, глутатион концентрациясынын сакталышын камсыз кылуу менен жөнгө салуучу – компенсациялык механизмди аныктайт. АЛТнын өзгөрүшү менен ГТТнын активдүүлүгүнө жана АСТ жана АЛТ катышы - де Ритистин коэффициентине талдоо жүргүзүлдү. Де-Ритис коэффициентинин олуттуу жогорулашы бул зат алмашуу процессстеринин интенсивдүүлүгүн, катаболизм процесстердин басымдуулук кылгандыгын жана физиологиялык жетилүү процес-

стеринин баишталгандыгынан кабар берет. Эмбриогенездин экинчи жарымында болгон өзгөрүүлөр белок метаболизминдеги анаболизм жана катаболизм процесстердин ортосундагы катыштын өзгөрүшүнө байланыштуу болушу мүмкүн. Зат алмашуудагы ушундай эрте же терең өзгөрүүлөр менен өнүгүүнүн орчундуу мезгилдеринде (10-, 18-20 күн), эркин аминокислоталардын көлөмүн турукташтыруу процессине кирген негизги фермент ГТТ болуп саналат.

Негизги сөздөр: тооктун эмбриондору, балапандар, аспартатамино, аланинаминотрансферазалар, гамма-глутамилтрансфераза, де Ритистин коэффициенти.

У куриных эмбрионов и цыплят породы Хай-Лайн в сыворотке крови оцениваются особенности связи между активностью фермента - основного представителя класса трансфераз - гамма-глутамилтрансферазы (ГТТ) с активностью аспартат и аланинаминотрансфераз - (АСТ и АЛТ). Активность ГТТ в сыворотке крови выявляется в эмбриогенезе: на 14-15 сутке и достоверно повышается перед вылуплением у 19-суточных далее 3-суточных цыплят. Такое повышение ГТТ свидетельствует об усиленном распаде белков мышц на фоне нарастающего заимствования аминокислот клетками органов, особенно печени; Напротив АЛТ весь эмбриональный период проявляя тенденцию к снижению, у 19-суточных достоверно снижается, значительное повышение активности АЛТ наблюдается после вылупления у цыплят. Значительное снижения АЛТ является пусковым механизмом для увеличения активности ГТТ весь период

развития эмбрионов кур который обуславливает регуляторно-компенсаторный механизм, обеспечивающим поддержание концентрации глутатиона. Проведен анализ активности ГГТ с изменением АЛТ и соотношением АСТ и АЛТ-коэффициентом де Ритиса. Достоверное повышение коэффициента де Ритиса указывают на напряженность обменных процессов и свидетельствуют о преобладании катаболических процессов и о начале процессов физиологического созревания. Вероятно, изменение происходящие во второй половине эмбриогенеза обусловлено изменением соотношения между объемом анаболических и катаболических процессов в белковом обмене. При таких ранних или же глубоких изменениях обмена веществ именно ключевой фермента – ГГТ, включается в процесс стабилизации количества свободных аминокислот в критические периоды развития (с 10 сут. и 18-20 сут.).

Ключевые слова: куриные эмбрионы, цыплята, аспартамино, аланинаминотрансферазы, гамма-глутамилтрансферазы, коэффициент де Ритиса.

In chick embryos and chickens of the High Line breed, the characteristics of the relationship between the activity of the enzyme, the main representative of the class of transferases, gamma glutamyltransferase (GGT), with the activity of aspartate and alanine aminotransferases (AST and ALT), are assessed in the blood serum. The activity of GGT in the blood serum is detected in embryogenesis: on the 14-15th day and significantly increases before hatching in 19-day-old then 3-day-old chicks. Such an increase in GGT indicates an increased breakdown of muscle proteins against the background of an increasing borrowing of amino acids by organ cells, especially the liver;. On the contrary, ALT during the whole embryonic period, showing a tendency to decrease in 19-day-olds, significantly decreases, a significant increase in ALT activity is observed after hatching in chickens. A significant decrease in ALT is a trigger mechanism for an increase in GGT activity during the entire period of development of chick embryos, which determines a regulatory-compensatory mechanism that maintains the concentration of glutathione. The analysis of GGT activity with alteration of ALT and the ratio of AST and ALT-de Ritis coefficient was carried out. A significant increase in the de Ritis coefficient indicates the intensity of metabolic processes and indicates the predominance of catabolic processes and the onset of physiological maturation processes. Probably, the changes occurring in the second half of embryogenesis are due to a change in the ratio between the volume of anabolic and catabolic processes in protein metabolism. With such early or profound changes in metabolism, it is the key enzyme, GGT, which is included in the stabilization process, the amount of free amino acids during critical periods of development (from 10 days and 18-20 days).

Key words: chicken embryos, chickens, aspartamino, alanineamino, transferases, gamma-glutamyltransferase, de Ritis coefficient.

Введение. Все ферменты в крови отличаются по уровню активности в норме и при разных физиологических состояниях проявляя свою активность по

разному.

Воздействию различных стресс факторов из биохимических показателей быстрее реагируют аминотрансферазы концентрации которых позволяет анализировать общую направленность обменных процессов в животном организме [1].

В настоящее время исследования проведенные у позвоночных в период раннего онтогенеза свидетельствуют что наиболее быстрые изменения в активности ферментов происходят во время «критических фаз» развития [2,3].

В ходе наших исследований у развивающихся кур от племенного кросса Хай-Лайн (Hy-Line Brown) были выявлены два важных периода: значительные изменения активности изученных нами аминотрансфераз - аспартат (АСТ) и аланинамино-трансферазы - (АЛТ) в сыворотке крови во время «критических» фаз которые приходятся на 5-10 и 16-21 сутки (табл. 1)

Исследуемые нами активность аминотрансфераз характеризуют как центральную зону метаболизма (АСТ) с циклом трикарбоновых кислот так же периферическую (АЛТ) с основными процессами (гликолиз, глюкозоаланиновый шунт, цикл Кори).

Следующим основным представителем класса трансфераз Гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ) представляет собой как участвующей в системе стабилизации количество свободных аминокислот (аминокислотный пул) который обеспечивает поддержание один из метаболических показателей общего белка [4].

Исследования у птиц относительно ключевого фермента ГГТ в период эмбриогенеза проведены у 16-суточных эмбрионов кур [5], у 14-16 суточных эмбрионов кур а затем у вылупившихся цыплят [6].

Аминотрансферазы широко используется в качестве биохимического индикатора физиологического состояния и клинического индикатора контроля метаболической функции печени. Увеличение активности аминотрансфераз приводит к усилению синтеза белка [7]. В то же время имеющиеся литературные данные не позволяют сделать определенные выводы о возрастной динамике активности этих ферментов у кур. ГГТ, в отличие от аминотрансфераз, является гепатоспецифичным ферментом, однако данных по ее активности в онтогенезе кур мы не обнаружили.

Все выше изложенные и определило тему нашего исследования изучение изменения активности основного представителя класса трансфераз - ГГТ в связи с изменением активности остальных представителей трансфераз (АСТ и АЛТ) в сыворотке крови у кур в период раннего онтогенеза.

Цель работы. Изучить изменение активность

гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке крови сравнительно анализируя с активностью аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), у кур при переходе от эмбрионального к пост-эмбриональному периоду.

Материалы и методы исследования. В работе использовались эмбрионы и цыплята кур породы Хай-Лайн. Оплодотворенные яйца кур приобретались на птицефабрике ОсОО Три Т с.Хунчи Кантского района и выращивались в лабораторном инкубаторе ДИП 56Ж (РФ). В нем поддерживалась температура 38⁰-38.5⁰С, проводилась непрерывная аэрация атмосферным воздухом, насыщенным водяными парами, и автоматическая ротация яиц. Исследование активности ферментов проводили в сыворотке крови у 9-10-, 13-15-, 18-20-суточных эмбрионов и 2-3-суточных цыплят.

Определение активности: аспартатамино (АСТ) и аланинамино (АЛТ) - трансферазы проводили по многоточечной кинетике спектрофотометрическим и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) кинетическим колориметрическим методом.

Взятие крови у эмбрионов проводились без наркоза, на цыплятах - после внутрибрюшинного введения 20% раствора уретана в дозе 2 г/кг.

В каждой серии исследования вычисляли среднее арифметическое и его ошибку ($X \pm S_x$), при этом число эмбрионов и цыплят (n). Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента для малочисленных неравновеликих выборок при $p \leq 0.05$.

Результаты исследования На ряду с аминокислотами аланин и аспартат и глутамат участвует в ферментативных реакциях промежуточного метаболизма обеспечивая синтез и распад аминокислот в организме. У 10-суточных эмбрионов кур не выяв-

ляется, только у 14-15-суточных эмбрионов активность данного фермента в сыворотке крови достигает 4.5 ± 0.33 ед./л в период завершения структурного формирования, что связано необходимостью обеспечения интенсификации белкового метаболизма для роста и развития. Для регуляции уровня глутатиона востребованность ГГТ повышается и при участии данного фермента увеличивается транспорт аминокислот.

К 14-суткам инкубации структурное формирование эмбриона заканчивается но нехватка обеспечения питательными веществами перед вылуплением сохраняется. Уровень аминокислот на 19-день развития снижается [8] достоверное ($6.4 \pm 0.25^*$) повышение активность ГГТ к 19-суткам свидетельствует поступление аминокислот через мембрану в результате интенсификации катаболизма белков [4].

Активность гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке крови у 1-3 суточных цыплят значительно повышается по сравнению с 19-суточными эмбрионами. (табл.1) Как важный субстрат для синтеза аминокислот глутамин участвует в поддержании белка – энергетического баланса в мышечных клетках. Поэтому исходно нормальная ГГТ увеличивает свою активность начиная с 15-суточного возраста в критический период на 42% и после вылупления почти на 105%. Такая повышенная активность ГГТ компенсирует нехватку аминокислот извлекая их из тканей.

При анализе данных по активности ГГТ проводят сравнительный анализ с другими аминотрансферазами - АСТ и АЛТ которые участвуют при синтезе глутамата [2]. Для этой цели мы провели сравнительный анализ полученных значений активности ГГТ с активностью АСТ и АЛТ в крови таких же эмбрионов и цыплят полученных исследованиями проведенных в 2018.

Таблица 1

Активность аминотрансфераз (ед/л) в сыворотке крови эмбрионов (Э) и цыплят (Ц)

Параметры	Возраст (сутки)			
	10-сут Э (n)	15-сут Э (n)	18-20-сут Э (n)	3-сут (Ц) n=12
АСТ(ед/л)	74.4±7.3(7)	82.,44±5,65(19)	37.7±5.5 (11)*	177,8±14,5 *
АЛТ(ед/л)	26.4±2.2(7)	21.84±2.4(16)	2.3±0.69(13)*	14.4±2.8*

Примечание. Приводятся различие показателей активности ферментов по сравнению с предшествующим возрастом при * $P \leq 0.05$ n - число особей. Э - эмбрион, Ц - цыплята.

Результаты исследования динамики изменения активности АСТ у эмбрионов кур отмечается незначительное повышение, тогда как у 19-суточных снижается достоверно составляя 46% по сравнению с 15-суточными эмбрионами. Уровень активности аминотрансферазы АСТ в сыворотке крови у 3-суточных

цыплят значительно повышается в 4.7 раза по сравнению с 19-суточными. Уровень аланиновой трансаминазы в период эмбриогенезе с 10-суточных умеренно снижаясь значительному снижению достигает у 19-суточных а после вылупления достигает уровня приблизительно к 15-суточным показателям.

Активность АСТ существенно превосходит таковую АЛТ и соответствует высокому уровню обменных процессов растущего организма.

АСТ – индикатор термогенеза (ТГ), очень важный показатель всей биоэнергетики организма является важной характеристикой катаболизма. АСТ является одним из наиболее активных ферментов в мозге,

сопоставимых по активности с теми ферментами, которые участвуют в гликолизе или клеточном дыхании [2]. Проведен анализ динамики активности ГТТ с изменением АЛТ и коэффициентом де Ритиса. –соотношение активности сывороточных АСТ и АЛТ. Первый представляет собой белок, вырабатываемый клетками миокарда. АЛТ является ферментом печени.

Таблица 2

Динамика ГТТ у эмбрионов(Э) и цыплят(Ц).

Параметры	Возраст (сутки)			
	10-сут Э (n)	15-сут Э (n)	18-20-сут Э (n)	3-сут (Ц) n=12
Коэффициент де Ритиса АСТ/АЛТ	2.8	3.8	16.4	12.3
ГТТ(ед/л)	-----	4.5± 0.33(6)	6.4 ±0.25 (6)*	9.24± 0.82*(7)

Примечание. Различия активности ферментов в сыворотке крови достоверны с предыдущими сутками при *P≤ 0.05 n – количество исследованных Э - эмбрионов и Ц - цыплят.

Общеизвестно, что в результате изменение активности ферментов участвующие в метаболизме как АСТ, АЛТ и ГТТ обуславливают регуляцию основных показателей метаболизма (общий белок, мочевины, глюкоза) [9].

При значительных изменениях аминотрансфераз в критические периоды использование аминокислотного пула белков происходит при участии ГТТ – активность которой характеризуется значительным повышением в течении всего периода развития. Такое координированное изменение еще раз доказывает об единстве механизмов адаптации на биохимическом уровне [9].

Из результатов видно что на фоне увеличения АСТ снижение АЛТ в период раннего эмбриогенеза и повышение активности ГТТ еще раз подтверждает об усилении транспорта аминокислот в ткани к их синтезу и в конечном счете АЛТ является индикатором глюконеогенеза (ГНГ). При усилении этого процесса (ГНГ) любое изменение активности ГТТ характеризуют о связи с необходимостью пополнения аминокислот.

Динамика активности ГТТ с изменением АЛТ и коэффициентом де Ритиса. Повышение отношение АСТ/АЛТ с 10-суточных к 19-суточным свидетельствует в связи с литературными данными [10] об

интенсификации катаболических процессов (рис. 1).

Для выхода из этого состояния требуется тканевое (последний белковый пул) заимствование аминокислот, так как все наиболее доступные (сывороточный, внутрисосудистый и межтканевой) пулы аминокислот или израсходованы в процессе развития эмбрионов.

Нехватка аминокислот для ТГ и ГНГ компенсируется повышенной активностью ГТТ, которая извлекает аминокислоты из тканей и резко снижается к отмечаемому сроку. Поэтому исходно нормальная ГТТ увеличивает свою активность, начиная с 15-суточных эмбрионов. Это оптимальное превышение сохраняется до 3-суточного возраста цыплят.

Мощность тканевого снабжения (активность ГТТ) выше потребляющего (активность АЛТ) механизма.

Наблюдаемое в наших исследованиях снижение активности АЛТ под контролем глюкокортикоидов [11] возможно служит пусковым сигналом для повышения активности ГТТ. Коэффициента де Ритиса в период эмбриогенеза значительно увеличивается характеризуя об интенсификации катаболических процессов и о начале процесса физиологического созревания.

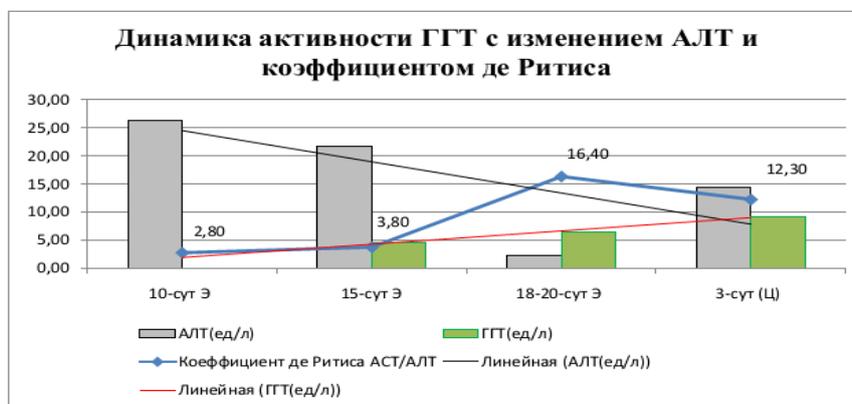


Рис. 1. Динамика активности ГГТ и изменение АЛТ по коэффициенту де Ритиса. Э – эмбрионы, Ц – цыплят. Показаны достоверные различия с предыдущими сутками при $*P \leq 0.05$ по таблице 1 и 2.

Выводы:

1. Установлено достоверное повышение активность ГГТ в сыворотке крови от 4.5 ± 0.33 ед./л 15-сут. эмбрионов до 6.4 ± 0.25 ед./л у 19-суточных эмбрионов который свидетельствует поступление аминокислот через мембрану.

2. Достоверное повышение активность данного фермента у 1-3-суточных цыплят составляет 9.24 ± 0.82 ед./л. который свидетельствует об компенсации нехватку аминокислот извлекая из тканей в результате усиленного распада белков.

3. Постепенное увеличение сывороточной активности АСТ и снижение АЛТ приводящие в критический период достоверным соответствующим изменениям связано изменением общей направленности обменных процессов в белковом обмене.

4. Значительное снижения АЛТ является пусковым механизмом для увеличения активности ГГТ весь период развития эмбрионов кур который обуславливается регуляторно-компенсаторным механизмом, обеспечивающим поддержание концентрации глутатиона.

Литература:

1. Рапиев Р.А. Биохимический статус организма животных как компенсаторно-регуляторная реакция на фоне действия стресса / Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 10. - С. 2263-2669.
2. Rothe F., Schmidt W., Gerald Wolf // Postnatal changes in the activity of glutamate dehydrogenase and aspartate aminotransferase in the rat nervous system with special reference to the glutamate transmitter metabolism. Brain research 1983; 313(1):67-74.
3. De Oliveira J.I., Uni Z., Ferket P.R. Important metabolic

pathways in poultry embryos prior to hatch // World's Poultry Science Journal. - 2008. - Vol.64. - P. 488-499.

4. Фокина Е. Рослый И. Биохимический паспорт человека: 6 субстратов и 6 ферментов. // ВРАЧ. 2014. - №7. - С.6-12.
5. Han W., Song M., Yuan H, Bao H., Liu C., Wu C., and Zhao C. Effects of hypoxia on serum hepatic chemistries of Tibet chicken and Shouguang chicken. // Afr. J. Biotechnol. - 2013. - Vol. 12(46). - PP. 6540-6543.
6. Elsayed M.A.E., Mohamed N.E., Hatab M.H., Elaroussi M.A. Oxidative Stress of in-Ovo Ochratoxin A. Administered during Chick Embryonic Development. Brazilian Journal of Poultry Science. Revista Brasileira de Ciência Avícola. ISSN 1516-635X Jan - Mar 2019/v.21/n.1/001-010. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2017-0637>
7. Абдель Монем Эль Фики. Возрастные изменения газоэнергетического обмена и метаболической функции у цыплят-бройлеров: Автореф. дис. к.б.н.: 03.00.13/ Львовский зоовет. ин.-т. - Львов. - 1990. - 16 с
8. Sawosz F., Pineda L.M., Hotowy A.M., Hyttel P., Sawosz E., Szmidt M., Chwalibog A. (2012). Nanonutrition of chicken embryos. The effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses, and the morphology of pectoral muscle: the effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses, and the morphology of pectoral muscle. Baltic Journal of Comparative & Clinical Systems Biology, 2, 29-45. <https://doi.org/10.7136/bjccsb.2012.2.0029>
9. Рослый И.М., Абрамов С.В., Покровский В.И. Ферментация – адаптивный механизм или маркер цитоллиза? // Вестник РАМН. - 2002. - №8. - С. 3-9.
10. Малинин М.Л. Взаимосвязь метаболических процессов и устойчивости к бактериальным инфекциям у животных на фоне действия возбудителей, их антигенов и препаратов на основе наночастиц. Автореф. дисс. на соис. уч. ст. д.б.н. - Саратов, 2013. - 42 с.
11. Маркерт К., Уршпрунг Г. Генетика развития: Пер. с англ. Мир, 1973. 272 с.