

УДК 577.15:612.15.646

**Турганбаева Анийпа Самудиновна***к.б.н., в.н.с. лаб.нейрофизиологии**Институт горной физиологии и медицины НАН КР, Бишкек***Turganbayeva A.S.,***Ph.D., associate professor, leading researcher laboratory of neurophysiology,**institute of mountain physiology and medicine,**National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek*

### **ОЦЕНКА СВЯЗИ ДИНАМИКИ КРЕАТИНКИНАЗНОЙ СИСТЕМЫ И ОБЪЕМНОЙ СКОРОСТИ КРОВОТОКА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ У КУР ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА И В ПЕРВЫЕ ДНИ ПОСЛЕ ВЫЛУПЛЕНИЯ**

**Аннотация.** Проведена оценка связи динамики активности креатинкиназы в сыворотке крови с объемной скоростью кровотока в полушариях головного мозга в различные периоды развития кур. Равномерное повышение кровотока в головном мозге сопровождалось равномерным увеличением анатомического просвета ( $D^2$ ). Внутренней сонной артерии, и сохранением одинакового уровня величин линейной скорости кровотока ( $V$ ), пристеночного напряжения сдвига ( $t \sim V/D$ ). Установлено что общая динамика активности изофермента КК за исключением последнего периода эмбриогенеза (19-сут) достоверно повышается во все периоды развития эмбрионов кур. Такое увеличение активности КК- (как источник энергии) за весь период эмбриогенеза можно считать физиологическим механизмом поддерживающий равномерный рост просвета внутренней сонной артерии, и величины линейной скорости кровотока, пристеночного напряжения сдвига ( $V/D$ )

**Ключевые слова:** куриные эмбрионы, объемная скорость кровотока, активность КК-креатинкиназы, полушарии головного мозга

### **ЭМБРИОГЕНЕЗДИН ЭКИНЧИ ЖАРЫМЫНДА ЖАНА ИНКУБАТОРДОН ЧЫККАНДАН КИЙИН БИРИНЧИ КҮНДӨРДӨ КРЕАТИНКИНАЗА СИСТЕМАСЫНЫН ДИНАМИКАСЫ МЕНЕН ТООКТУН БАШ МЭЭСИНДЕГИ КАН АГЫМЫНЫН КӨЛӨМДҮК ЫЛДАМДЫГЫНЫН БАЙЛАНЫШЫНА БАА БЕРҮҮ**

**Аннотация** Тооктун өнүгүүсүнүн ар кандай мезгилдеринде: кан сары суусундагы креатинкиназанын активдүүлүгүнүн өзгөрүүсү менен мээнин жарым шарларындагы кан агымынын көлөмдүү ылдамдыгынын ортосундагы байланышка баа берилди. Мээдеги кан агымынын бирдей жогорулоосу ички каротид артериясынын ( $D^2$ ). бирдей өсүшү жана кан агымынын сызыктуу ылдамдыгы ошондой эле негизги артериялардын дубалынын  $V/D$  индекси бирдей деңгээлде сакталышы менен коштолот. КК изоферментинин активдүүлүгүнүн жалпы динамикасы, эмбриогенездин акыркы мезгилин (19 күн) кошпогондо, тоок эмбриондорунун өнүгүүсүнүн бардык мезгилдеринде олуттуу түрдө жогорулай тургандыгы аныкталган. Эмбриогенездин бүткүл мезгилиндеги КК- (энергия булагы катары) активдүүлүгүнүн мындай өсүшүн ички каротид артериясынын ( $D^2$ ) жана кандын сызыктуу ылдамдыгынын чоңдугун, негизги артериялардын дубалынын  $V/D$  индекси бирдей деңгээлде өсүшүн колдоочу физиологиялык механизм катары кароого болот.

**Негизги сөздөр:** тоок эмбриондору, кандын көлөмдүү агымы, СК-креатинкиназа активдүүлүгү, мээ жарым шарлары.

### **EVALUATION OF THE CREATINE KINASE SYSTEM TO MAINTAIN THE VOLUMETRIC BLOOD FLOW RATE IN THE BRAIN IN THE SECOND HALF OF EMBRYOGENESIS AND IN THE FIRST DAYS AFTER HATCHING**

**Abstract.** The relationship between the dynamics of creatine kinase activity in the blood serum and the volumetric blood flow velocity in the cerebral hemispheres in different periods of chicken development was assessed. A uniform increase in blood flow in the brain was accompanied by a uniform increase in the

anatomical lumen (D2), internal carotid artery, and maintaining the same level of linear blood flow velocity (V), parietal shear stress ( $t \sim V/D$ ). development of chick embryos. Such an increase in the activity of CK- (as an energy source) throughout the entire period of embryogenesis can be considered as a physiological mechanism that maintains an increase in the linear velocity of the internal carotid artery (D2) and blood, and the V/D index of the wall of the main arteries at the same level.

**Key words.** chicken embryos, volumetric blood flow velocity, CK-creatine kinase activity, cerebral hemispheres.

**Введение.** Известно что нарушения функционирования ферментных систем составляют основу многих патологических и предпатологических состояний организма. Почти все ферменты локализуются внутри клеток и в следствие этого в сыворотке (плазме) крови их активность низкая или же совсем отсутствует. И при этом анализируя внеклеточные жидкости (кровь), по активности определенных ферментов можно выявить видоизменения, протекающие внутри клеток разных органов и тканей организма. Такой подход применяют при изучении механизмов клеточного метаболизма в процессе развития эмбрионов позвоночных [5,6].

Одним из важнейших компонентов биоэнергетической системы является креатинфосфокиназная система, которая используя фосфатные группы молекул АТФ участвует в фосфорилировании креатина и полученный креатинфосфат как энергетический буфер играет критическую и централизованную роль в поддержании концентрации аденозинтрифосфата (АТФ) в тканях с высокими энергетическими потребностями, таких как скелетные мышцы, сердце и мозг [10, 4].

В этом исследовании проводили оценку активности креатинкиназы которая контролирует участие и синтез в метаболизме одного из ведущих макроэргов клетки – креатинфосфата. Изоформы СК сильно экспрессируются в тканях с высокими и колеблющимися потребностями в энергии, таких как мышцы и мозг [9, 11].

**Цель работы** сравнить у развивающихся кур динамику активности креатинкиназы в сыворотке крови с оценкой объемной скорости кровотока (ОСК) в полушариях головного мозга.

**Методы исследования.** Работа по определению ОСК проведена в полушариях головного мозга (линии Леггорн.) и активность фермента КК ( порода Хай-Лайн ) у 10-, 15-, 19 суточных куриных эмбрионов и 3-5-суточных цыплят кур. Обе породы домашних кур не различаются

по динамике роста и размерам одновозрастных особей.

Эмбрионы выращивали в отечественном инкубаторе ДИП 56Ж при температуре 38-38.5 непрерывной аэрации атмосферным воздухом, насыщенными водяными парами и автоматической ротацией яиц до нужного возраста из оплодотворенных яиц. Вылупившихся цыплят содержали и кормили в лабораторных клетках.

Для измерения объемной скорости кровотока в полушариях головного мозга использовался лазер-Допплер флоуметр ЛАКК-01. ((НПП «Лазма», Москва)

Подробное описание принципов работы этого прибора и подготовка органа с процедурой измерения кровотока в полушариях головного мозга эмбрионов и цыплят, сделано нами ранее [3].

Кратко повторим основные моменты [1]. Согласно закону Допплера частотный сдвиг лучей света, проникающую в изучаемый ткань, будучи пропорциональным произведению количества передвигающихся частиц (в основном эритроцитов) на их среднюю линейную скорость, имеет возможность охарактеризовывать в ней значение ОСК. При одном и том же датчике размер ткани, в котором измеряется ОСК, остается постоянным, в следствие этого полученное значение ОСК можно рассматривать как отнесенную к единице размера ткани. Глубина проникновения лазерного луча в биологическую ткань при заданных характеристиках света для нашего датчика – около 1 мм. Величину ОСК выражают в перфузионных единицах (пф. ед.). Перед опытом флоуметр с зондом калибровался с помощью вращающегося диска, что позволяло оценить линейное соответствие величины регистрируемого сигнала прибора со скоростью движущейся поверхности диска.

Функциональную активность ферментов (соответствующими субстратами) определяли по многоточечной кинетике, сущность которых заключается в оценке скорости NADH регистрируемый спектрофотометрически при

определенной длине волны. Кровь у эмбрионов и цыплят брали по общепринятой методике [2].

Измерения кровотока и определение активности фермента на эмбрионах проводилось без наркоза, на цыплятах – после внутрибрюшинного введения 20% раствора уретана в дозе 2 г/кг.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с определением

средней арифметической, ее ошибки ( $M \pm m$ ). Достоверность различий признаков оценивали по критерию Стьюдента для равновеликих малых выборок при  $p \leq 0.05$ .

**Результаты исследования.** Обнаружено, что величины ОСК в головном мозге в исследуемый период меняется по-разному (табл. 1).

Таблица 1.

**Объемная скорость кровотока в головном мозге куриных эмбрионов (Э) и цыплят (Ц),  $M \pm m$  (n)**

Возраст, сут. (20)	Мт, г (20)	Мозг (10)	
		ОМО, %	ОСК, пф. ед.
Э 10±0.3 (20)	1.6±0.16 (20)	16±3.0	9±1.4
Э 14±0.1 (20)	11±0.4 (20)	4.7±0.19*	16±2.3*
Э 19±0.1 (20)	22±0,9 (20)	3.4±0.15*	24±2.6*
Ц 5±1.2 (10)	49± 1.2 (10)	2.2±0.09*	33±2.8*

**Примечание.** Мт – масса тела, ОМО – относительная масса органа, ОСК – объемная скорость кровотока в единице массы органа. Показаны достоверные различия по сравнению с предшествующим возрастом при  $p \leq 0.05$ .

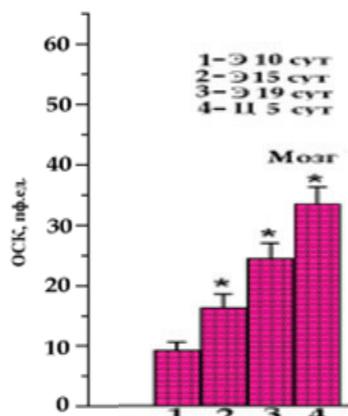


Рис. 1.

Объемная скорость кровотока (вверху  $M \pm m$  согласно табл.

1) в полушариях головного мозга у эмбрионов и кур в период эмбриогенеза (Э) и после вылупления

Чтобы установить изменение сердечного выброса (МОК) или его долю направленную в полушарии головного мозга в период эмбриогенеза, используя данные о средних значениях массы и данные о средних величинах скоростей кровотока головного мозга куриного эмбриона (табл.1), можно рассчитать значения потоков крови в мозге. При этом считалось что скорость

кровотока в органе однородна и идентична ОСК, измеренный флоуметром в его поверхностных слоях (поток = МТ x ОММ x ОСК).

Поток крови в период развития кур в головном мозге (рис.2) растет постепенно (в 16 раз), что обусловлено равным увеличением массы мозга и ОСК (табл.1).

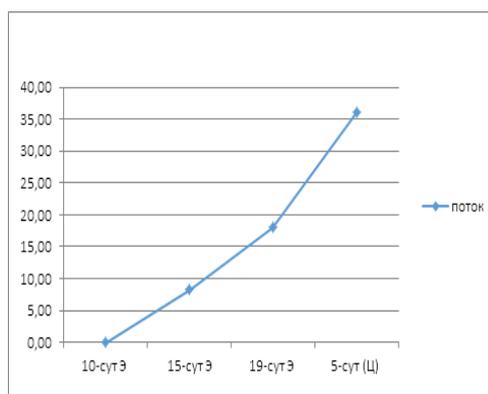


Рис.2.

Расчетные потоки крови в полушариях головного мозга в период эмбриогенеза (Э) и после вылупления (Ц)

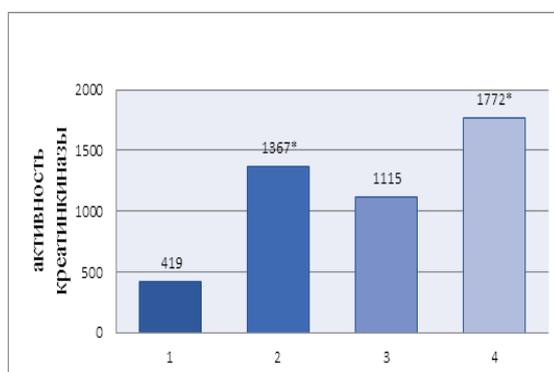
Как же меняется просвет и структура стенки магистральных артерий несущий эти потоки к данному органу. Две сонных артерии наряду с двумя позвоночными обеспечивают весь кровоток в головном мозге. Считается что изменения потоков крови, протекающих через мозг, будут адекватно отражаться на потоках в этих сосудах.

Результатами исследования [3] показано что по мере роста эмбриона просвет сонной артерии (их внутренний диаметр- D) постепенно увеличивается с увеличением потока в нем крови, а толщина стенки падает, и перед вылуплением эта артерия превращается в тонкостенный сосуд. Возможно, в артериях, питающих мозг, наиболее высокая величина **пристеночного напряжения сдвига  $\tau$**  (он пропорционален отношению  $V/D$ ), **возникает на ранних стадиях эмбриогенеза.** Данный фактор  $\tau$  в настоящее время считают как универсальный регулятор роста и развития структур способствующий появлению разных событий в эмбриональном

морфогенезе начиная с гастрюляции и появления право-левой асимметрии [7,8]. Она запускает программу роста их просвета, при котором адекватный поток крови через мозг возможен только при определенно низких величинах V и V/D.

В данном случае КФК система является необходимым компонентом биоэнергетической системы, обеспечивая необходимой энергией, тем самым определяя рост, развитие организма и продуктивность животных.

Как видно (рис. 3) значительное повышение активности креатинкиназы (мв) в период эмбриогенеза с 10-сут (492 ед /л) по 15-суток (1367 ед/л) На 19-сутки развития эмбрионов уровень активности КК (мв.) незначительно снижается (1115ед/л) по сравнению 15-суточными эмбрионами. А активность креатинкиназы (мв) у цыплят достоверно увеличиваясь составляет 1772 ед/л. по сравнению с 19-суточными эмбрионами.



1-Э10сут. 2-Э15-сут.3-Э19-сут.4-Ц5сут

Рис.3. Активность креатинкиназы у эмбрионов и цыплят.

Показаны достоверные различия по сравнению с предшествующим возрастом при  $p \leq 0.05$ .

Таким образом, общая динамика активности изофермента КК за исключением последнего периода эмбриогенеза (19-сут) достоверно повышается во все периоды развития эмбрионов кур.

Уже на ранних стадиях КФК играет существенно важную роль в поддержании энергии необходимые для развития ЦНС.

Значительное увеличение ОСК в полушариях головного мозга за весь исследуемый период эмбриогенеза, достигает значимых величин в постэмбриональный период. Повышение ОСК в мозге обуславливает как увеличение массы мозга, так и потоков крови в полушариях головного мозга. Данный процесс свидетельствует о запуске программы роста в полушариях головного мозга. Таким образом наблюдаемую динамику увеличение активность КК (как источник энергии) за весь период эмбриогенеза можно считать физиологическим механизмом поддерживающий равномерный рост просвета внутренней сонной артерии, и величины линейной скорости кровотока, пристеночного напряжения сдвига (V/D).

### Список литературы:

1. Козлов В.И. Инструкция по применению лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-01 // В.И. Козлов, Э.С.Мач, В.В. Сидоров. – М., 2002. – 39с.
2. Садовников Н.В., Придыбайло Н.Д., Верещак Н.А., Заслонов А.С. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов. – Екатеринбург – СПб.: Уральская ГСХА, НПП «АВИВАК», 2009. – 85 с.
3. Турганбаева А. С., Беличенко В. М., Шошенко К. А. Кровоток в головном мозге и печени у кур в эмбриональном и раннем постэмбриональном периодах // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2011 – Т.97 (12): – С. 1361–1372.
4. Bonilla DA, Kreider RB, Stout JR, et al . Metabolic Basis of Creatine in Health and Disease: A Bioinformatics-Assisted Review. //Nutrients. – 2021 Apr 9; – 13(4):1238. Doi: 10.3390/nu13041238. PMID: 33918657; PMCID: PMC8070484.
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. 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;
7. Patwari P., Lee R. T. Mechanical control of tissue morphogenesis. // Circ. Res. – 2008. – 103: – pp. 234–243.
8. Taber L. A. Biomechanics of cardiovascular development. // Annu. Rev. Biomed. Eng. – 2001–3: – pp.1–25.
9. Wallimann, T.; Wyss, M.; Brdiczka, D.; Nicolay, K.; Eppenberger, H.M. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: The 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. // Biochem. J. – 1992, – 281, pp. 21–40.
10. Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. // Amino Acids.- 2011 May;40(5) – pp. 1271–96. Doi: 10.1007/s00726-011-0877-3. Epub 2011 Mar 30. PMID: 21448658; PMCID: PMC3080659.
11. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. Physiol Rev. 2000 Jul; 80(3):1107-213. Doi: 10.1152/physrev.2000.80.3.1107. PMID: 10893433.

**Заключение.** Наши материалы на примере развивающихся кур в условиях эмбрионального и затем легочного дыхания дают некоторое представление об участии и взаимоотношении разных структур ССС: внеорганных артерий с меняющимися показателями V и V/D, своеобразии потоков крови из сердца в эмбриональный и постнатальный периоды которые участвуют в создании специфического уровня органичного кровотока.

Равномерное повышение ОСК в полушариях головного мозга обуславливает увеличение массы мозга, и потоков крови и свидетельствует о запуске программы роста в полушариях головного мозга.

Уже на ранних стадиях КФК играет существенно важную роль в поддержании энергии необходимые для развития ЦНС. Таким образом наблюдаемую динамику увеличение активность КК (как источник энергии) за весь период эмбриогенеза можно считать физиологическим механизмом поддерживающий равномерный рост просвета внутренней сонной артерии, и величины линейной скорости кровотока, пристеночного напряжения сдвига.