

Экспрессия генов, связанных с антиоксидантной защитой, у цыплят-бройлеров под влиянием биологически активных соединений растительного происхождения

М. И. СЕЛИОНОВА¹, В. И. ТРУХАЧЕВ¹, А. Ю. ЗАГАРИН¹, Н. П. БЕЛЯЕВА¹, Е. И. КУЛИКОВ²

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127434, Российская Федерация

²Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства», ул. Птицеградская, 10, Сергиев Посад, Московская обл., 141311, Российская Федерация

Реферат. Цель исследования заключалась в нутригеномном анализе антиоксидантных и стресспротекторных свойств биологически активных соединений растительного происхождения с различными функциональными свойствами для последующей разработки фитокомбинации, предназначенной для повышения продуктивности цыплят-бройлеров и их устойчивости к окислительному стрессу. Методом сбалансированных групп-аналогов на базе учебно-производственного птичника РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева сформировали контрольную и опытные группы цыплят-бройлеров кросса «Смена 9» (n=36) с введением в рацион различных фитогенных биоактивных соединений: инулина цикория обыкновенного, флавоноидов зверобоя продырявленного, экдистена левзеи сафлоровидной и флавоноидов и танинов тимьяна ползучего. Продолжительность опыта составила 35 суток (март-апрель 2024 г.). В возрасте 26 суток у 4 цыплят со средней живой массой отбирали образцы печени для изучения экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, в возрасте 32 суток – для гистологических исследований. Экспрессию генов *SOD1* и *PRDX6* определяли с применением метода $2^{-\Delta\Delta CT}$, для чего проводили выделение общей РНК, реакцию обратной транскрипции с получением кДНК и ПЦР-ПВ с использованием контрольного гена *ACTB*. Гистологические показатели определяли с помощью микроскопирования и измерения длины гепатоцитов. Установлено, что использование экстрактов цикория и зверобоя, стандартизированных на инулин и флавоноиды соответственно, способствовало повышению транскрипционной активности ключевого витагена антиокислительной защиты – *SOD1* в 4,47 ($p \leq 0,05$) и 3,53 ($p \leq 0,01$) раза и обеспечивало 100%-ную сохранность поголовья. При использовании экстракта зверобоя, содержащего флавоноиды, отмечались увеличение абсолютной и относительной массы печени (на 26,1 и 22,8 % соответственно), размера гепатоцитов (на 69,4 %) и их числа на единицу площади, что рассматривается как фактор активации антиоксидантных функций печени, подтверждаемый результатами транскриптомного анализа.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, экспрессия генов, *SOD1*, *PRDX6*, фитобиотики, антиоксидантная защита, витагены, печень, гистология, нутригеномика.

Сведения об авторах: М. И. Селионова, доктор биологических наук, проректор; В. И. Трухачев, доктор сельскохозяйственных наук, доктор экономических наук, ректор; А. Ю. Загарин, аспирант, ассистент (e-mail: azagarin@rgau-msha.ru); Н. П. Беляева, кандидат биологических наук, доцент; Е. И. Куликов, аспирант, зав. лабораторией

Для цитирования: Экспрессия генов, связанных с антиоксидантной защитой, у цыплят-бройлеров под влиянием биологически активных соединений растительного происхождения / М. И. Селионова, В. И. Трухачев, А. Ю. Загарин и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 12. С. 41–46. doi: 10.53859/02352451_2024_38_12_41

Expression of genes associated with antioxidant defence in broiler chickens under the influence of bioactive compounds of plant origin

M. I. Selionova¹, V. I. Trukhachev¹, A. Yu. Zagarin¹, N. P. Belyaeva¹, E. I. Kulikov²

¹Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ul. Timiryazevskaya, 49, Moskva, 127550, Russian Federation

²Federal Scientific Center All-Russian Research Technological Institute of Poultry Breeding, Russian Academy of Sciences, ul. Ptitsgradskaya, 10, Sergiev Posad, Moskovskaya obl., 141311, Russian Federation

Abstract. The study aimed to perform a nutrigenomic analysis of the antioxidant and stress-protective properties of biologically active compounds of plant origin with various functional properties for the subsequent development of a phytocombination designed to increase the productivity of broiler chickens and their resistance to oxidative stress. Using the balanced group-analogue method, control and experimental groups of broiler chickens of the Smena 9 cross (n=36) were formed on the basis of the training and production poultry house of the Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev with the introduction of various phytoactive bioactive compounds into the diet: chicory inulin, St. John's wort flavonoids, safflower leuzea ecdystene, and creeping thyme flavonoids and tannins. The duration of the experiment was 35 days (March–April 2024). Liver samples were collected from 4 chickens of average live weight at the age of 26 days to study the expression of genes associated with antioxidant protection, and at the age of 32 days – for histological studies. Expression of the *SOD1* and *PRDX6* genes was determined using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method, for which total RNA was isolated, a reverse transcription reaction was performed to obtain cDNA, and RT-PCR using the control gene *ACTB*. Histological indices were determined by microscopy and measuring the length of hepatocytes. It was found that the use of chicory and St. John's wort extracts standardised for inulin and flavonoids, respectively, contributed to an increase in the transcriptional activity of the key antioxidant protection vitagen – *SOD1* by 4.47 ($p \leq 0.05$) and 3.53 ($p \leq 0.01$) times and ensured 100% safety of the livestock. When using St. John's wort extract containing flavonoids, an increase in the absolute and relative weight of the liver (by 26.1 and 22.8%, respectively), the size of hepatocytes (by 69.4%) and their number per unit area was observed, which is considered as a factor in the activation of antioxidant functions of the liver, confirmed by the results of transcriptome analysis.

Keywords: broiler chickens; gene expression; *SOD1*; *PRDX6*; phytoactive; antioxidant protection; vitagenes; liver; histology; nutrigenomics.

Author Details: M. I. Selionova, D. Sc. (Biol.), vice-rector; V. I. Trukhachev, D. Sc. (Agr.), D. Sc. (Econ.), rector; A. Yu. Zagarin, post graduate student, assist. (e-mail: azagarin@rgau-msha.ru); N. P. Belyaeva, Cand. Sc. (Biol.), assoc. prof.; E. I. Kulikov, post graduate student, head of laboratory

For citation: Selionova MI, Trukhachev VI, Zagarin AY, et al. [Expression of genes associated with antioxidant defence in broiler chickens under the influence of bioactive compounds of plant origin]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(12):41–6. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_12_41

Проблема стрессов – одна из ключевых в современном птицеводстве. Поэтому поиску информативных индикаторов ответной реакции животного организма на негативное воздействие стресс-факторов посвящено

множество исследований. Основоположником учения о стрессе в биологии и медицине Гансом Селье в качестве биомаркеров предложена триада физиологических изменений, включающая уменьшение тимуса, увеличение коры

надпочечников и появление кровоизлияний в желудочно-кишечном тракте [1]. Показано, что при стрессе негативному воздействию подвергается иммунная система, при этом отмечается повышенная гиперчувствительность кожных базофилов, снижение уровня циркулирующих иммуноглобулинов и пролиферативной активности лимфоцитов [2], что свидетельствует о подавлении нормальных реакций, опосредованных антителами и иммунокомпетентными клетками [3]. На сегодняшний день наиболее сформирована свободнорадикальная теория развития стресса, согласно которой при стрессовых ситуациях в организме образуется избыточное число свободных радикалов, что приводит к изменению редокс-баланса и повреждению таких важных биологических соединений, как белки, липиды и ДНК [4].

Одно из основных направлений исследований, посвященных изучению стрессов, – определение общих молекулярных механизмов, индуцирующих адаптивные изменения в организме под влиянием различных стрессоров. Особого внимания заслуживает концепция витагенов, согласно которой ответная реакция животного организма на действие стресс-фактора детерминирована функциями генов, ассоциированных с ключевыми механизмами адаптации, – витагенов. Она была разработана итальянскими учеными применительно к медицине и геронтологии человека [5]. В то же время по результатам обширных исследований коллектива ученых, под руководством Сурая П.Ф., было продемонстрировано, что концепция витагенов может быть успешно применена и на животных, в частности, на птице. При этом ключевыми витагенами предложено считать такие гены антиоксидантной защиты, поддержания редокс-баланса и клеточной сигнализации, как *SOD*, *HSP70*, *HO-1* [6].

В отдельных работах была доказана возможность активации витагенов, посредством стимуляции их экспрессии, при использовании в питании птицы различных нутрицевтиков и биологически активных веществ, включая полифенольные соединения растений. Это обуславливает антиоксидантные и стресс-протекторные свойства фитобиотиков, а также указывает на их преимущества перед кормовыми антибиотиками, использование которых сопровождается рядом негативных последствий [7]. Таким образом, в современных условиях актуален поиск эффективных фитобиотиков и разработка рецептур их совместного использования на основе изучения экспрессии целевых генов.

Цель исследования – нутригеномное определение антиоксидантных и стресспротекторных свойств биологически активных соединений растительного происхождения с раз-

личными функциональными свойствами для последующей разработки фитокомбинации, обеспечивающей повышение продуктивности птицы и ее устойчивости к окислительному стрессу.

Условия, материалы и методы. Опыт продолжительностью 35 суток был поставлен на цыплятах-бройлерах кросса Смена 9 в соответствии с методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы (*Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника* / И. А. Егоров, В. А. Манукян, Т. Н. Ленкова и др. Сергиев Посад: Весь Сергиев Посад, 2013. 51 с.) на базе учебно-производственного птичника РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева с марта по апрель 2024 г. Система содержания птицы – напольная с соблюдением температурно-влажностного режима, параметров освещенности и плотности посадки в соответствии с рекомендациями для кросса. Поение птицы осуществляли с использованием вакуумных и ниппельных поилок, кормление – вручную из бункерных и желобковых кормушек в зависимости от фазы выращивания цыплят, режим кормления – вволю. В опыте использовали полнорационные фазовые комбикорма, питательность и химический состав которых соответствовали рекомендациям для кормления кросса [8].

Методом сбалансированных групп-аналогов с учетом живой массы и общего развития было сформировано 5 групп цыплят по 36 голов в каждой. Цыплятам 1 контрольной группы скармливали полнорационные фазовые комбикорма, принятые за основной рацион. Птицам опытных групп в состав комбикормов методом ступенчатого смешивания вводили водные растительные экстракты, стандартизированные на различные биологически активные вещества, в соответствии со схемой опыта (табл. 1).

Для оценки влияния компонентов изучаемых фитобиотиков на характер роста птицы в течение опыта проводили еженедельные индивидуальные взвешивания на электронных лабораторных весах Меркурий 122ACFJR-600.01 (Mertech, Россия) с дискретностью 0,01 г и электронных весах M-ER 223 AC-15.2 Mary LCD (Mertech, Россия) с дискретностью 2 г в зависимости от возраста бройлеров, а также осуществляли учет сохранности поголовья.

С целью определения влияния исследуемых экстрактов на антиоксидантный статус цыплят-бройлеров в возрасте 26 суток был проведен убой 4 цыплят из каждой группы с последующим отбором и стабилизацией образцов тканей печени в фиксаторе IntactRNA («Евроген», Россия). Образцы хранили при температуре -20 °С. Исследовали экспрессию

Таблица 1. Схема опыта

Группа	Особенности кормления	Действующее соединение экстракта, концентрация, г/т корма
1 контрольная	Основной рацион (ОР)	-
2 опытная	ОР + экстракт корней цикория обыкновенного (<i>Cichorium intubus</i> L.): 450 г/т – «Старт»*, «Рост», 560 г/т – «Финиш»	Инулин, 405,00 – «Старт», «Рост», 504,00 – «Финиш»
3 опытная	ОР + экстракт побегов зверобоя продырявленного (<i>Hypericum perforatum</i> L.): 350 г/т – «Старт», «Рост», 430 г/т – «Финиш»	Флавоноиды, 25,55 – «Старт», «Рост», 31,39 – «Финиш»
4 опытная	ОР + экстракт корней левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i> Willd.): 170 г/т – «Старт», «Рост», 210 г/т – «Финиш»	Экдистен, 0,86 – «Старт», «Рост», 1,06 – «Финиш»
5 опытная	ОР + экстракт побегов тимьяна ползучего (<i>Thymus serpyllum</i> L.): 200 г/т – «Старт», «Рост», 250 г/т – «Финиш»	Дубильные вещества, 36,80 – «Старт», «Рост», 46,00 – «Финиш»; Флавоноиды, 7,20 – «Старт», «Рост», 9,00 – «Финиш»

*«Старт» – стартовый полнорационный комбикорм (ПК) для цыплят-бройлеров в возрасте 0...10 суток, содержание обменной энергии – 305 ккал/100 г, сырого протеина – 23,0 %; «Рост» – стартовый ПК для цыплят-бройлеров в возрасте 11...22 суток, содержание обменной энергии – 299 ккал/100 г, сырого протеина – 21,5 %; «Финиш» – стартовый ПК для цыплят-бройлеров в возрасте 23...35 суток, содержание обменной энергии – 303 ккал/100 г, сырого протеина – 18,5 %.

генов *SOD1* и *PRDX6*, ассоциированных с антиоксидантной защитой.

SOD1 – ген, кодирующий фермент супероксиддисмутазу, катализирующий дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода, сохраняя

таким образом клетки, контактирующие с кислородом, от окисления [9]. *PRDX6* – ген, кодирующий важный антиоксидантный фермент пероксиредоксин 6, выполняющий такие функции, как нейтрализация широкого спектра гидропероксидов, участие в обмене фосфолипидов, восстановление клеточных мембран, участие в клеточной сигнализации [10].

Анализ относительной экспрессии генов выполняли в соответствии с методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [11]. Ткани гомогенизировали на приборе Bioprep-24 (Allsheng, Китай), тотальную РНК выделяли с использованием набора RNA Solo («Евроген», Россия). Получение кДНК на матрице РНК осуществляли с применением набора Magnus («Евроген», Россия) и амплификатора GeneExplorer GE-96G (Bioer, Китай). Далее проводили контроль качества и количества полученной кДНК на флуориметре Fluo-200 (Allsheng, Китай). ПЦР-РВ выполняли на приборе QuantStudio 5 (Thermo Scientific, США) с использованием набора 5X qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Режим амплификации следующий: 3 минуты при 95 °С, 30 с при 60 °С, 30 с при 72 °С (40 циклов). Экспрессию описанных генов в каждом образце определяли в трех повторностях. В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства», кодирующий белок β -актин *ACTB*. В качестве целевых генов были выбраны *SOD1* (супероксиддисмутаз 1) и *PRDX6* (пероксиредоксин 6). Последовательности нуклеотидов праймеров, подобранных для выбранных генов, представлены в табл. 2.

В возрасте 32 суток у 3 птенцов со средней живой массой из каждой группы проводили морфологическую оценку печени и в течение 15 минут после убоя отбирали образцы правой доли органа размером 1 см³ для гистологических исследований, которые выполняли на базе учебно-научной лаборатории кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Во избежание распада клеток и некроза тканей печени фиксацию образцов осуществляли не позже 2 минут после их отбора с использованием 10 %-ного раствора формальдегида. Гистологические препараты изготавливали в трехкратном повторении стандартными методами путем обезвоживания и замещения формальдегида на парафин и проводки через этиловый спирт, с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином. Анализ осуществлялся на микроскопе Микмед-5 (АО «Ломо», Россия) под увеличением от 600 до 1500. Окулярной линейкой, предварительно откалиброванной с использованием окулярмикрометра, были проведены 10 измерений размерных показателей гепатоцитов.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программного комплекса IBM SPSS Statistics 23 (2023) методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с применением теста Тьюки в отношении показателей роста, относительной экспрессии генов цыплят опытных групп, морфометрии печени и размера гепатоцитов. Для сравнения экспрессии генов опытных групп относительно контроля использовали *t*-критерий Стьюдента для значений ΔCt . Разность считали достоверной при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Сохранность цыплят-бройлеров в контрольной группе составила 91,7, %; в опытной группе 2 – 100,0; 3 – 100,0; 4 – 97,2; 5 – 97,2 %. При выращивании отмечено повышение живой массы птиц при

Таблица 2. Нуклеотидная последовательность праймеров

Ген	Праймеры
<i>ACTB</i> (β -актин)	F: CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA R: ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG
<i>SOD1</i> (супероксиддисмутаз 1)	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA R: TGTGTCTCCAAATTCATGCACATG
<i>PRDX6</i> (пероксиредоксин 6)	F: GCATCCGCTTCCACGACTTCCT R: CCGCTCATCCGGGTCCAACAT

скармливании растительного экстракта левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* L.), стандартизированного на фитостероид экдистен, в возрасте 7 и 14 суток на 13,9 и 9,4 % ($p \leq 0,05$) соответственно. При заключительном индивидуальном взвешивании цыплят достоверных различий между группами не выявлено. В то же время у птиц опытных групп живая масса была больше, чем в контроле, на 4,1...7,5%, а в пятой группе отмечено достоверное превосходство курочек, над аналогами в контроле, на 11,0 %. Таким образом, цыплята опытных групп характеризовались большей продуктивностью, включая живую массу и сохранность, по сравнению с контролем, что позволяет сделать предположение о благоприятном комплексном влиянии биологически активных соединений растительного происхождения на организм птицы.

По результатам исследования при использовании в питании цыплят всех экстрактов установлено повышение транскрипционной активности *SOD1* (рис. 1). Однако достоверная разность выявлена только при использовании экстрактов цикория обыкновенного (*C. intubus*), стандартизированного на полисахарид инулин (в 4,47 раз, $p \leq 0,05$) и зверобоя продырявленного (*H. perforatum*), стандартизированного на флавоноиды (в 3,53 раза, $p \leq 0,01$).

По утверждению П.Ф. Сурая и др. в животном организме функционирует сложная сеть взаимодействий различных механизмов антиоксидантной защиты для сохранения гомеостаза. Зачастую, кормовые препараты, обладающие антиоксидантными свойствами, оказывают не только прямое влияние на свободные радикалы, снижая их уровень, но и опосредованное действие через активацию генов группы *SOD* [4]. Выявленное в нашем эксперименте достоверное повышение экспрессии *SOD1*

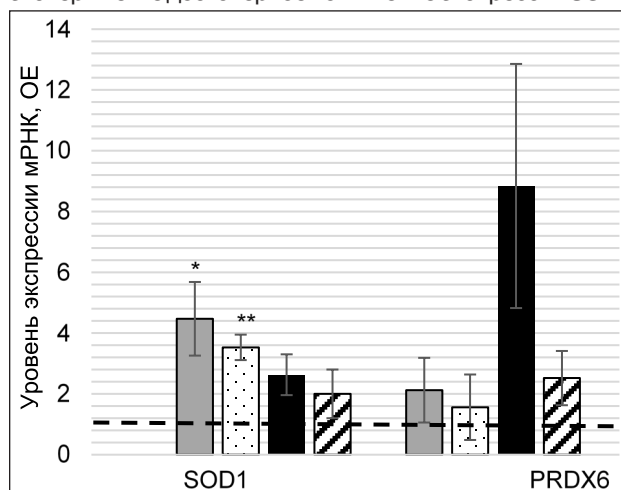


Рис. 1. Уровень экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, в тканях печени цыплят-бройлеров (OE – кратность изменений уровня экспрессии по сравнению с 1-й группой, где показатель принимали за 1; *, ** – разность в значениях ΔCt статистически достоверна, по отношению к контрольной группе, соответственно при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; горизонтальная прерывистая линия обозначает уровень экспрессии генов в контрольной группе; результаты представлены как среднее со стандартной ошибкой среднего ($M \pm m$) для экспрессии мРНК: ■ – 2 опыт; □ – 3 опыт; ■ – 4 опыт; □ – 5 опыт.

во второй и третьей опытных группах, по всей видимости, связано с наличием у экстрактов *C. intubus* и *H. perforatum* антиоксидантных свойств, которые, по-нашему мнению, обеспечивали высокую адаптационную способность цыплят в период выращивания и их 100 %-ную сохранность.

Можно предположить, что антиоксидантные характеристики экстракта *C. intubus* обусловлены содержанием природного пребиотика инулина, способствующего росту *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в ЖКТ птицы [12], и таким образом создающего благоприятные условия для развития полезной микрофлоры. В свою очередь микробиота кишечника способна воздействовать на витамины и тем самым активизировать процессы антиоксидантной защиты [4]. В случае использования экстракта *H. perforatum* положительное влияние связано с полифенольными соединениями – флавоноидами, антиоксидантные свойства которых хорошо известны [13]. Полученные данные согласуются с результатами исследования Abo-Samaha et al., которые выявили повышение экспрессии *SOD1* в 1,5 раза при использовании экстракта солодки гладкой (*Glycyrrhiza glabra* L.), содержащего такие флавоноиды, как формонетин, ликиритин и изофлавоноиды. Это позволило авторам сделать заключение о выраженных антиоксидантных свойствах указанного фитобиотика [14].

В отношении гена *PRDX6* не выявлено значимых различий между группами, что, вероятно, связано с его низкой чувствительностью к алиментарным факторам. Отчасти это подтверждают результаты исследований Nan et al., указывающих на отсутствие тканеспецифичной экспрессии этого гена у *Gallus gallus* L. и допускающих возможность использования гена *PRDX6* в качестве гена «домашнего хозяйства» [15].

Известно, что печень своего рода дезинтоксикационный и метаболически активный орган, в котором происходит синтез белков, липопротеинов и других важных соединений. При определенных неблагоприятных условиях происходит усиление окислительно-восстановительных реакций, активация перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению гепатоцитов.

Результаты наших исследований свидетельствовали об отсутствии следов гематом, разрывов, некрозов или других признаков деформации печени у цыплят всех групп. Желчный пузырь у всех особей был крупного размера и правильной удлинённой формы. Каудальные и краниальные вырезки, разделяющие печень, глубокие, что обеспечило точную идентификацию долей печени. Ворота печени не имели ярких изменений, располагались нормотипично, у их сосудов не наблюдали следов повреждения. Абсолютная масса печени у исследуемых особей в разных группах варьировала от 24,30 до 30,65 г, а наибольшей она была у цыплят, которым скармливали экстракт *H. perforatum* (табл. 3).

Сравнение соотношения массы печени с массой тела и желудочно-кишечного тракта выявило превосходство особей 3 и 5 групп, в которых использовали экстракты зверобоя и тимьяна, содержащих флавоноиды отдельно и в комплексе с танинами. Учитывая результаты исследований других ученых [16, 17], а также собственные данные о морфологических показателях печени и транскрипционного анализа можно сделать заключение о гепатопротекторных свойствах флавоноидов, в том числе путем активации антиоксидантных функций.

Таблица 3. Морфологические показатели печени цыплят-бройлеров

Показатель	Группа				
	1 контроль	2 опыт	3 опыт	4 опыт	5 опыт
Масса печени:	24,3	25,1	30,7	24,4	28,8
абсолютная, г	±0,2	±1,0	±3,2	±1,2	±0,2
относительно живой массы, %	1,27	1,27	1,56	1,23	1,47
	±0,02	±0,05	±0,14	±0,07	±1,42
относительно массы ЖКТ, %	22,0	23,4	28,7	21,0	27,2
	±0,6	±1,0	±5,8	±2,7	±1,6

Результаты гистологических исследований печени показали, что клетки соединительной ткани окрашивались равномерно, большую часть стромы составляло межклеточное вещество, в составе которого ярко дифференцировались волокна. Гепатоциты во всех образцах имели равномерную окраску цитоплазмы, центральные вены были хорошо дифференцированы, окружены печёночными балками. В центре между стенками синусоидных капилляров и гепатоцитами печёночных балок ярко окрашивалось пространство Диссе, что может свидетельствовать об активных обменных процессах и активном желчеобразовании.

Средняя длина гепатоцитов варьировала от 5,42 мкм до 9,18 мкм, при этом достоверно больше, чем в контроле, они были в 3, 4 и 5 группах – 9,18, 7,22 и 8,11 мкм соответственно (рис. 2).

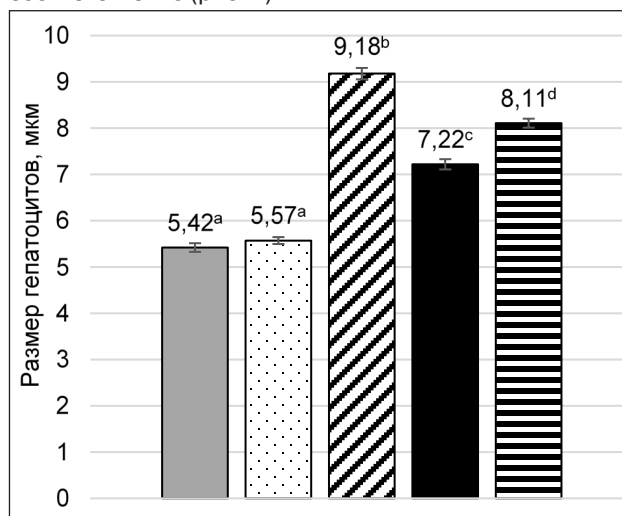


Рис. 2. Длина гепатоцитов цыплят-бройлеров, мкм (^{a-d} – разность между значениями, обозначенными разными буквами, достоверна при $p \leq 0,05$): ■ – 1 контроль; ▨ – 2 опыт; ▤ – 3 опыт; ■ – 4 опыт; ▨ – 5 опыт.

Полученные данные, вероятно, можно объяснить тем, что флавоноиды, танины и экдистен, всасываясь в кишечнике и поступая в кровь, вовлекались в различные метаболические процессы и оказывали непосредственное воздействие на функциональное состояние печени. Тогда как, при скармливании экстракта цикория влияние инулина было не прямым, а опосредованным, через стабилизацию микробиоты, о чем свидетельствует повышение экспрессии антиоксидантных генов в тканях печени.

У цыплят разных групп были отмечены некоторые различия в форме гепатоцитов. Так, в образцах печени особей 1, 2 и 4 групп они имели более вытянутую форму и представляли собой трапеции с верхушкой на апикальном полюсе, в то время как в 3 и 5 группах гепатоциты были менее удлинёнными и округлыми, при этом их число на единицу площади было выше (рис. 3).

Большая абсолютная и относительная масса печени, а также размеры и концентрация гепатоцитов при некоторых изменениях их формы в тех группах, где растительные экстракты содержали флавоноиды, веро-

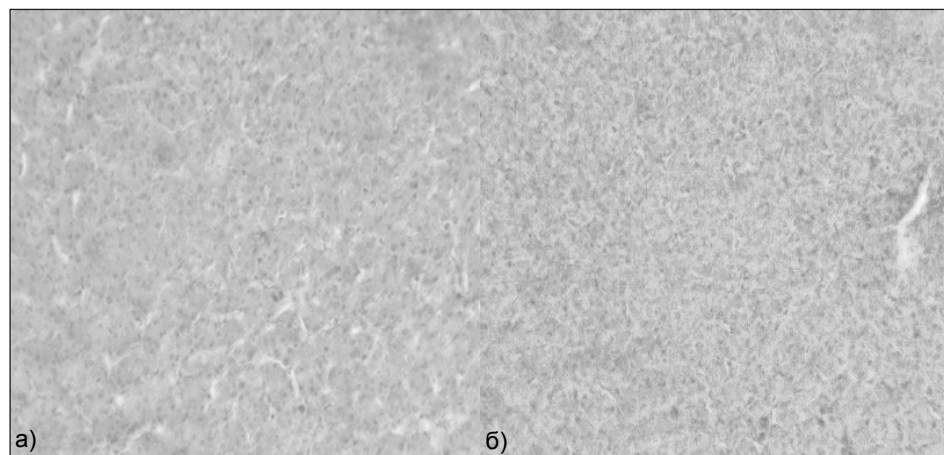


Рис. 3. Гепатоциты у цыплят 1 контрольной (а) и 3 опытной (б) групп (увеличение 720).

антиоксидантной защитой. Полученные данные могут служить нутригеномным обоснованием при разработке состава новой фитокомбинации для повышения продуктивности и устойчивости к окислительному стрессу цыплят-бройлеров, на основе оптимального соотношения экстрактов цикория обыкновенного (*C. intubus*), зверобоя продырявленного (*H. perforatum*), левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*) и тимьяна ползучего (*T. serpyllum*).

ятно, могут свидетельствовать о том, что перечисленные биологические вещества стимулируют функциональную активность печени. Это подтверждают аналогичные результаты гистологических исследований печени цыплят-бройлеров при использовании антиоксидантного препарата митофена [18], а также сведения о повышении экспрессии гена *SOD1* и гепатопротекторных свойствах флавоноидов [19, 20, 21].

Тем не менее, при дальнейших исследованиях целесообразно обратить внимания и на предположение о том, что изменения в морфологическом строении печени и гепатоцитах могут быть связаны с индукцией процессов, контролируемых снижением уровня свободных радикалов в организме птицы при использовании фитобиотиков.

Выводы. Биологически активные соединения растительного происхождения – инулин цикория и флавоноиды зверобоя обладают антиоксидантными свойствами, выраженными в активации экспрессии ключевого витагена (*SOD1*), ассоциированного с

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет средств Программы развития университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с Рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований. Протоколы с использованием животных были одобрены Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (протокол № 16 от 30 января 2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Литература.

1. Мифтахутдинов А. В. Перспективы создания комплексной программы по профилактике технологических стрессов в промышленном птицеводстве с целью снижения потерь продуктивности и повышения адаптивного потенциала кур и цыплят путем применения фармакологических средств // АПК России. 2024. Т. 31. № 1. С. 88–94. doi: 10.55934/2587-8824-2024-31-1-88-94.
2. Иммуный статус промышленной птицы на предприятиях: обзор / А. В. Дубровин, Е. А. Иылдырым, Л. А. Ильина и др. // Птицеводство. 2022. № 5. С. 49–54. doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-5-49-54.
3. Impact of housing environment on the immune system in chickens: a review / T. Hofmann, S. S. Schmucker, W. Bessei, et al. // Animals. 2020. Vol. 10. No. 7. Article 1138. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/7/1138> (дата обращения: 02.09.2024). doi: 10.3390/ani10071138.
4. Молекулярные механизмы поддержания здоровья кишечника птицы: роль микробиоты / П. Ф. Сурай, И. И. Кочиш, В. И. Фисинин и др. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2018. 344 с.
5. Redox regulation of cellular stress response in aging and neurodegenerative disorders: role of vitagenes / V. Calabrese, E. Guagliano, M. Sapienza, et al. // Neurochem Res. 2007. Vol. 32. P. 757–773. doi: 10.1007/s11064-006-9203-y.
6. Сурай П. Ф., Фисинин В. И., Кочиш И. И. Концепция витагенов в молочном и мясном скотоводстве // Молочное и мясное скотоводство. 2020. № 5. С. 11–18. doi: 10.33943/MMS.2020.37.76.007.
7. Nutrigenomics of natural antioxidants in broilers / I. Kouvedaki, A. C. Pappas, P. F. Surai, et al. // Antioxidants. 2024. Vol. 13. No. 3. Article 270. URL: <https://www.mdpi.com/2076-3921/13/3/270> (дата обращения: 02.09.2024). doi: 10.3390/antiox13030270.
8. Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутосексной материнской родительской формой: (племенная работа; инкубация яиц; технология выращивания, содержания; кормление; здоровье и биобезопасность) / Д. Н. Ефимов, А. В. Егорова, Ж. В. Емануйлова и др. Сергиев Посад: Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, 2021. 95 с.
9. Экспрессия генов иммунитета и адаптации и состав микробиома у родительского поголовья кур и петухов (*Gallus gallus* L.) линий CM5 и CM9 кросса Смена 9 / Г. Ю. Лаптев, Е. А. Иылдырым, Л. А. Ильина и др. // Сельскохозяйственная биология. 2023. Т. 58. № 2. С. 313–332. doi: 10.15389/agrobiol.2023.2.313rus.
10. Влияние пероксиредоксина 6 на уровень транскрипционного фактора p53 / М. Г. Шарапов, П. Г. Гончаров, С. Б. Парфенюк и др. // Биохимия. 2022. Т. 87. № 7. С. 962–974. doi: 10.31857/S0320972522070107.
11. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2–ΔΔCT method // Methods. 2001. Vol. 25. No. 4. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
12. Effects of dietary inulin supplementation on the composition and dynamics of cecal microbiota and growth-related parameters in broiler chickens / Y. Xia, J. Kong, G. Zhang, et al. // Poultry Science. 2019. Vol. 98. P. 6942–6953. doi: 10.3382/ps/pez483.
13. Антиоксиданты растительного происхождения и их нетрадиционные источники (обзор) / Ю. К. Гончарова, С. В. Гончаров, Е. М. Харитонов и др. // Сельскохозяйственная биология. 2024. Т. 59. № 1. С. 39–53. doi: 10.15389/agrobiol.2024.1.39rus.
14. Licorice extract supplementation affects antioxidant activity, growth-related genes, lipid metabolism, and immune markers in broiler chickens / M. I. Abo-Samaha, Y. S. Alghamdi, S. A. El-Shobokshy, et al. // Life. 2022. Vol. 12. No. 6. Article 914. URL: <https://www.mdpi.com/2075-1729/12/6/914> (дата обращения: 02.09.2024). doi: 10.3390/life12060914.

15. Identification and characterization of the peroxiredoxin gene family in chickens / J. Y. Han, K. D. Song, J. H. Shin, et al. // *Poultry Science*. 2005. Vol. 84. P. 1432–1438. doi: 10.1093/ps/84.9.1432.
16. Исследование гепатопротекторного действия композиций, содержащих шрот расторопши пятнистой, при моделировании подострого гепатита у крыс / Ю. В. Землянова, Е. В. Полякова, Г. И. Боряев и др. // *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. 2023. Т. 253. № 1. С. 107–115. doi: 10.31588/2413_4201_1883_1_253_107.
17. Hepatoprotective effect of flavonoid rich fraction of *Sesbania grandiflora*: Results of in vivo, in vitro, and molecular docking studies / A. Kuttiappan, S. Chenchula, M. Vanangamudi, et al. // *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2024. Vol. 15. Article 101036. doi:10.1016/j.jaim.2024.101036.
18. Журов Д. О. Гистоархитектоника, морфометрические и иммуногистохимические изменения в печени цыплят в условиях антигенной нагрузки и при применении митофена // *Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины*. 2021. Т. 57. № 4. С. 23–28. doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-4-23-28.
19. Investigating the hepatoprotective properties of mulberry leaf flavonoids against oxidative stress in HepG2 cells / Q. Zheng, K. Feng, W. Zhong, et al. // *Molecules*. 2024. Vol. 29. No. 11. Article 2597. URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/11/2597> (дата обращения: 02.09.2024). doi: 10.3390/molecules29112597.
20. An insight into the hepatoprotective activity and structure-activity relationships of flavonoids / C. Majee, R. Mazumder, A. N. Choudhary, et al. // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 23. No. 2. P. 131–149. doi: 10.2174/1389557522666220602141142.
21. A comprehensive review of the pharmacological importance of dietary flavonoids as hepatoprotective agents / Gajender, A. Mazumder, A. Sharma, et al. // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2023. Vol. 2023. Article 4139117. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1155/2023/4139117> (дата обращения: 02.09.2024). doi: 10.1155/2023/4139117.

References

1. Miftakhutdinov AV. [Prospects for the development of a comprehensive program for the prevention of technological stress in industrial poultry farming in order to reduce productivity losses and increase the adaptive potential of hens and chickens through the use of pharmacological agents]. *APK Rossii*. 2024;31(1):88-94. Russian. doi: 10.55934/2587-8824-2024-31-1-88-94.
2. Dubrovin AV, Ilydyrym EA, Il'ina LA, et al. [Immune status of industrial poultry in farms: A review]. *Ptitsevodstvo*. 2022;(5):49-54. Russian. doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-5-49-54.
3. Hofmann T, Schmucker SS, Bessei W, et al. Impact of housing environment on the immune system in chickens: a review. *Animals* [Internet]. 2020 [cited 2024 Sep 2];10(7): Article 1138. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/7/1138>. doi: 10.3390/ani10071138.
4. Surai PF, Kochish II, Fisinin VI, et al. Molekulyarnye mekhanizmy podderzhaniya zdorov'ya kishhechnika ptitsy: rol' mikrobioty [Molecular mechanisms of maintaining intestinal health in poultry: The role of microbiota]. Moscow: Sel'skokhozyaistvennyye tekhnologii; 2018. 344 p. Russian.
5. Calabrese V, Guagliano E, Sapienza M, et al. Redox regulation of cellular stress response in aging and neurodegenerative disorders: role of vitagenes. *Neurochem Res*. 2007;32:757-73. doi: 10.1007/s11064-006-9203-y.
6. Surai PF, Fisinin VI, Kochish II. [Concept of vitagenes in dairy and beef cattle breeding]. *Molochnoe i miasnoe skotovodstvo*. 2020;(5):11-8. Russian. doi: 10.33943/MMS.2020.37.76.007.
7. Kouvedaki I, Pappas AC, Surai PF, et al. Nutrigenomics of natural antioxidants in broilers. *Antioxidants* [Internet]. 2024 [cited 2024 Sep 2];13(3): Article 270. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/13/3/270>. doi: 10.3390/antiox13030270.
8. Efimov DN, Egorova AV, Emanuilova ZhV, et al. Rukovodstvo po rabote s ptitsej miasnogo krossa «Smena 9» s avtoseksnoi materinskoj roditel'skoi formoi: (plemennaya rabota; inkubatsiya yajts; tekhnologiya vyrashchivaniya, soderzhanija; kormlenie; zdorov'e i biobezopasnost') [Guide to working with poultry of the meat cross "Smena 9" with an autosex maternal parental form: (breeding work; egg incubation; technology of growing, keeping; feeding; health and biosafety)]. Sergiev Posad (Russia): Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii i tekhnologicheskii institut ptitsevodstva; 2021. 95 p. Russian.
9. Laptev GYu, Ilydyrym EA, Il'ina LA, et al. [Expression of immunity and adaptation genes and microbiome composition in parent stock of hens and roosters (*Gallus gallus* L.) of the CM5 and CM9 lines of Smena 9 cross]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2023;58(2):313-32. Russian. doi: 10.15389/agrobiologiya.2023.2.313rus.
10. Sharapov MG, Goncharov RG, Parfenyuk SB, et al. [Effect of peroxiredoxin 6 on the level of transcription factor p53]. *Biokhimiya*. 2022;87(7):962-74. Russian. doi: 10.31857/S0320972522070107.
11. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-delta-deltaCT} method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
12. Xia Y, Kong J, Zhang G, et al. Effects of dietary inulin supplementation on the composition and dynamics of cecal microbiota and growth-related parameters in broiler chickens. *Poultry Science*. 2019;98:6942-53. doi: 10.3382/ps/pez483.
13. Goncharova YuK, Goncharov SV, Kharitonov EM, et al. [Plant-based antioxidants and their alternative sources (review)]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2024;59(1):39-53. Russian. doi: 10.15389/agrobiologiya.2024.1.39rus.
14. Abo-Samaha MI, Alghamdi YS, El-Shobokshy SA, et al. Licorice extract supplementation affects antioxidant activity, growth-related genes, lipid metabolism, and immune markers in broiler chickens. *Life* [Internet]. 2022 [cited 2024 Sep 2];12(6): Article 914. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-1729/12/6/914>. doi: 10.3390/12060914.
15. Han JY, Song KD, Shin JH, et al. Identification and characterization of the peroxiredoxin gene family in chickens. *Poultry Science*. 2005;84:1432-8. doi: 10.1093/ps/84.9.1432.
16. Zemlyanova YuV, Polyakova EV, Boryaev GI, et al. [Study of the hepatoprotective effect of compositions containing milk thistle meal in modelling subacute hepatitis in rats]. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny im. N.E. Bauman*. 2023;253(1):107-15. Russian. doi: 10.31588/2413_4201_1883_1_253_107.
17. Kuttiappan A, Chenchula S, Vanangamudi M, et al. Hepatoprotective effect of flavonoid rich fraction of *Sesbania grandiflora*: Results of in vivo, in vitro, and molecular docking studies. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2024;15: Article 101036. doi:10.1016/j.jaim.2024.101036.
18. Zhurov DO. [Histoarchitectonics, morphometric and immunohistochemical changes in the liver of chickens under conditions of antigen load and with the use of mitofen]. *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoi meditsiny*. 2021;57(4):23-8. Russian. doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-4-23-28.
19. Zheng Q, Feng K, Zhong W, et al. Investigating the hepatoprotective properties of mulberry leaf flavonoids against oxidative stress in HepG2 cells. *Molecules* [Internet]. 2024 [cited 2024 Sep 2];29(11): Article 2597. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/11/2597>. doi: 10.3390/molecules29112597.
20. Majee C, Mazumder R, Choudhary AN, et al. An insight into the hepatoprotective activity and structure-activity relationships of flavonoids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2023;23(2):131-49. doi: 10.2174/1389557522666220602141142.
21. Gajender, Mazumder A, Sharma A, et al. A comprehensive review of the pharmacological importance of dietary flavonoids as hepatoprotective agents. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 2023 [cited 2024 Sep 2];2023: Article 4139117. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1155/2023/4139117>. doi: 10.1155/2023/4139117.

Поступила в редакцию 16.10.2024 После доработки 18.11.2024 Принята к публикации 11.12.2024