

УДК: 636.5:57 636.5.084:577.1:611-03

Питание и основные метаболіческие пути в развивающемся зародыше ПТИЦЫ

М.Т.Тагіров, А.В.Терещенко

*Институт птицеводства УААН (п. Борки, Харьковская обл., Украина)
tagirov-m@yandex.ru*

В обзоре представлены основные пути энергетического метаболизма в организме птиц, их особенности, связь с обеспечением роста и развития и гормональный контроль ключевых событий в пренатальном периоде развития. Развиваясь в закрытой системе, птичий зародыш выработал уникальный механизм выделения конечных продуктов метаболизма азота в виде мочевой кислоты, что обеспечивает утилизацию аммиака практически без расходования воды. Развивающийся эмбрион в начале и конце инкубации испытывает дефицит кислорода, а в середине инкубации поступление кислорода достаточное. Основным источником питания в начале инкубации является глюкоза, растворенная в белковой фракции яйца, в середине – липиды желтка и в конце инкубации – глюкоза, поставляемая за счет гликогенолиза.

Ключевые слова: птица, эмбрион, метаболизм, питание, гликолиз, липиды, гормоны, мочевая кислота, глюконеогенез.

Живлення й основні метаболічні шляхи у зародку птиці, що розвивається

М.Т.Тагіров, О.В.Терещенко

В огляді представлені основні шляхи енергетичного метаболізму в організмі птахів, їхні особливості, зв'язок із забезпеченням росту й розвитку й гормональний контроль ключових подій у пренатальному періоді розвитку. Розвиваючись у закритій системі, пташиний зародок виробив унікальний механізм виділення кінцевих продуктів метаболізму азоту у вигляді сечової кислоти, що забезпечує утилізацію аміаку практично без витрати води. Ембріон, який розвивається, на початку і в кінці інкубації зазнає дефіцит кисню, а у середині інкубації постачання кисню достатнє. Основним джерелом харчування на початку інкубації є глюкоза, розчинена в білковій фракції яйця, у середині – ліпіди жовтка і наприкінці інкубації – глюкоза, що поставляється за рахунок глікогенолізу.

Ключові слова: птиця, ембріон, метаболізм, харчування, гліколіз, ліпіди, гормони, сечова кислота, глюконеогенез.

Nutrition and main metabolic pathways in the developing chick embryo

M.T.Tagirov, A.V.Tereshchenko

The main metabolic pathways in a chick organism, their peculiarities, relation to growth and development ensuring and hormonal control of key events during prenatal period of development are presented in the review. Developing in closed system a chicken embryo has worked out a unique mechanism of nitrogen metabolism final products discharging in the form of uric acid that ensures ammonia utilization virtually without spending water. A developing embryo feels oxygen deficiency at the beginning and at the end of incubation and its plenty – in the middle. The main source of nourishment at the beginning of incubation is glucose diluted in the protein fraction of egg, in the middle – yolk lipids and at the end – glucose delivered at the expense of glycogenolysis.

Key words: bird, embryo, metabolism, nutrition, glycolysis, lipids, hormones, uric acid, gluconeogenesis.

Введение

Роль исследования эмбрионального периода развития птиц возрастает, особенно в бройлерном производстве, где пренатальный период занимает практически половину всей жизни птицы.

Понимание метаболіческих путей синтеза и расходования углеводов, липидов и белков, их взаимосвязей между собой, с поддержанием энергетического баланса зародыша и с основными событиями эмбрионального роста и развития позволит целенаправленно воздействовать на ход эмбриогенеза с целью его исправления в критические периоды развития, что в свою очередь повысит жизнеспособность зародышей и выведенного молодняка. Использование биохимических критериев в селекционном процессе, а не фармакологические корректировки будут способствовать более продуманному и обоснованному решению задач повышения эффективности производства на долговременной основе.

Первая треть периода эмбрионального развития птиц приходится на закладку зародыша, вторая треть – завершение формирования зародыша и третья треть – подготовку к вылуплению и выход цыпленка из скорлупы (De Oliveira et al., 2008). Основные периоды развития и метаболические изменения в эмбрионе кур представлены на рис. 1.

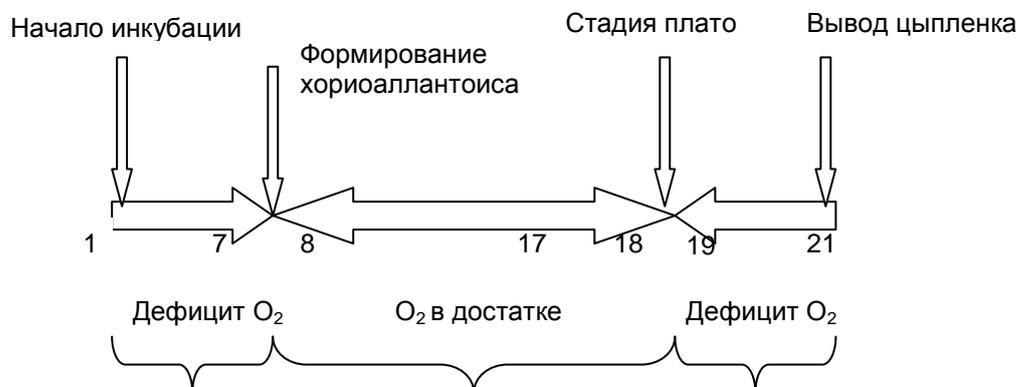


Рис. 1. Основные периоды развития эмбрионов кур и их обеспеченность кислородом (из De Oliveira et al., 2008, с модификациями)

У птиц, также как и у других животных, наиболее метаболически активным органом является печень. Основные метаболические пути, такие как гликолиз, глюконеогенез, цикл трикарбоновых кислот, гликогенез, гликогенолиз, пентозофосфатный цикл наиболее активны в печени. Метаболизм липидов также интенсивно проходит в печени, включая экспорт запасаемых и *de novo* синтезированных холестерина, триацилглицерола и фосфолипидов, в виде липопротеинов низкой плотности (ЛНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) и липопротеинов высокой плотности (ЛВП) (De Oliveira et al., 2008).

В период непосредственно перед выводом, когда наблюдается дефицит кислорода, ткань печени играет важную роль в получении глюкозы путем глюконеогенеза (Scott et al., 1981). Это единственный путь получения глюкозы на этапе от внутреннего проклева до первого приема корма цыпленком. У млекопитающих беременная мать обеспечивает зародыш глюкозой на протяжении всего эмбрионального развития. Другой особенностью птиц является то, что у них в сердце отсутствуют ферменты цикла Кори, поэтому лактат, образующийся во всех остальных тканях при недостатке кислорода, может утилизироваться только в печени при возобновлении кислородной обеспеченности (De Oliveira et al., 2008).

Для поддержания гомеостаза клетки печени находятся под постоянным контролем циркулирующих гормонов, таких как инсулин, глюкагон, кортикостероиды и тиреоидные гормоны.

Целью данного обзора является обобщение и анализ литературных данных по энергетическому метаболизму в пренатальном периоде развития птиц, его связи с ключевыми событиями эмбриогенеза и гормональному контролю роста и развития.

Утилизация аммиака

Метаболизм азота у эмбрионов птиц в основном проходит в печени, где он освобождается в ходе дезаминирования аминокислот при глюконеогенезе и распада азотистых оснований, переводится в менее токсичную форму, транспортируется в почки, а затем депонируется с другими продуктами отхода в аллантаоисе. Аммиак (NH_3) при физиологических значениях pH присутствует в основном в виде аммоний иона NH_4^+ . Оба этих соединения токсичны для птицы, особенно для развития нервной системы, поэтому должны быть инактивированы и удалены из организма. У водных животных происходит непосредственное удаление NH_4^+ через жабры (аммонотелические животные), у наземных животных, включая и человека, большая часть аммиака перед выделением конвертируется в мочевины (урикотелические животные). Также как и пресмыкающиеся, птицы, как правило, являются урикотелическими, то есть их почки извлекают азотсодержащие отходы из кровотока в виде мочевой кислоты и выделяют их наружу. Некоторые птицы, как например колибри, составляют исключение – более 50% их азотистых отходов могут выделяться в виде аммиака, то есть эти птицы при определенных условиях кормления могут стать аммонотелическими (Tsahar et al., 2005).

Хотя мочевая кислота изначально и рассматривалась как азотсодержащий конечный продукт, она также выполняет функцию мощного антиоксиданта как у млекопитающих (Davies et al., 1986;

Becker, 1993; Schlotte et al., 1998; Spitsin et al., 2000), так и у птиц (Simoyi et al., 2002, 2003). Антиоксидантные свойства мочевой кислоты особенно выражены у животных, которые не вырабатывают фермент гулонолактоноксидазу (L-gulonolactone oxidase) и, следовательно, не обладают способностью синтезировать аскорбиновую кислоту, другой важный антиоксидант (Chatterjee, 1973).

Мочевая кислота выделяется в аллантаис (у эмбрионов), клоаку (в постнатальный период) в форме уратов калия и натрия и обволакивает пометную массу в виде белого налета. У птиц отсутствуют мочевой пузырь или отдельный мочевыводящий канал.

Проблемы с удалением из организма мочевой кислоты возникают при поражении почек, так как у здоровой птицы они легко выводят из организма избыточное количество этого продукта. Наиболее распространенной причиной является поражение эпителии почечных канальцев из-за недостатка в рационе кур витамина А. Если содержание этого витамина в инкубационных яйцах низкое, то мочекислый диатез развивается у эмбрионов или у молодняка в первые дни жизни.

Причиной нарушения функции почек у кур часто является недостаток витаминов В₆ или В₁₂ в кормах, а также воздействие вредных для организма химических соединений, в частности, протравы для зерна, избытка кальция и нарушения кальций-фосфорного соотношения, эндотоксинов микроорганизмов, прежде всего грибов.

Метаболизм глюкозы

Закладка зародыша начинается после оплодотворения в воронке яйцевода. Питательные вещества для роста зародыша поступают из желтка и белка. Переносчиком кислорода в этот период развития является примитивный гемоглобин. Кислород лимитирован и поступает только путем диффузии через поры в скорлупе. Энергия для растущего организма обеспечивается путем гликолиза доступной глюкозы. Глюкоза накапливается в наружном жидком слое белка в период перед формированием скорлупы в маточном отделе яйцевода (Moran, 2007).

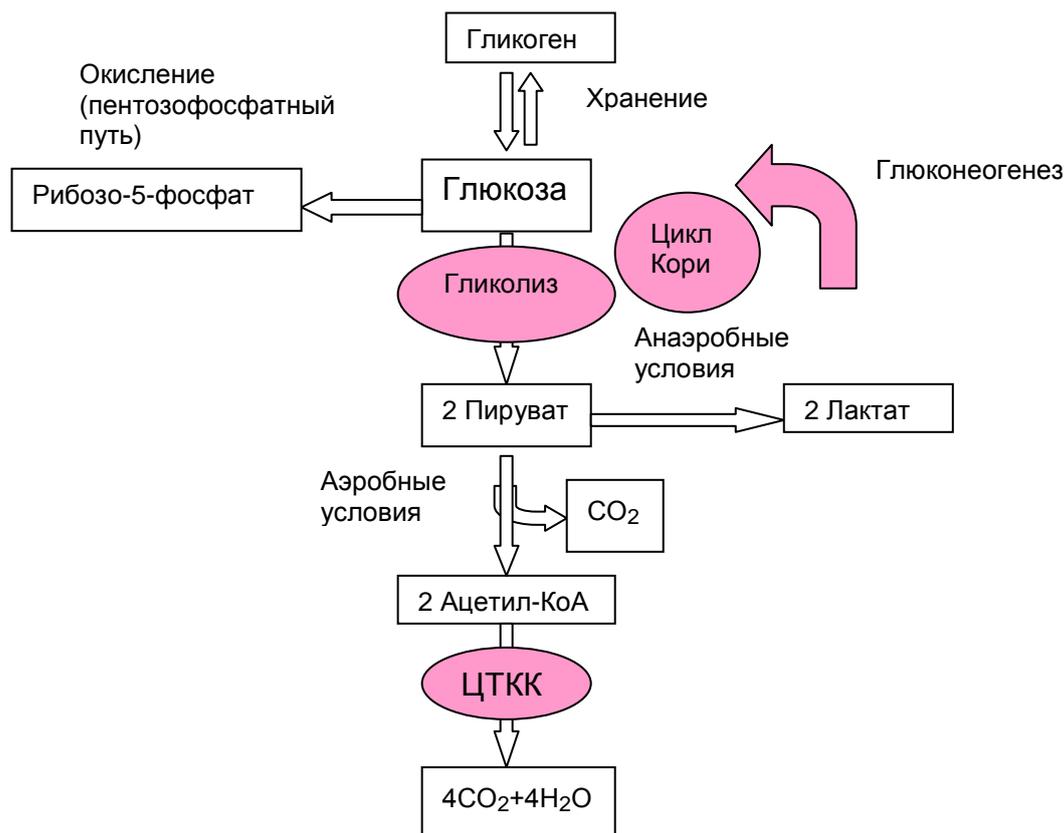


Рис. 2. Метаболизм глюкозы

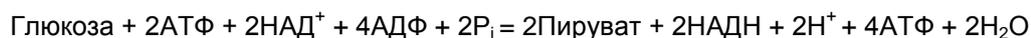
Глюконеогенез – процесс получения глюкозы из различных углерод-насыщенных компонентов, таких как аминокислоты, глицерол и другие углеводы. Глюкоза синтезируется путем глюконеогенеза только в печени и почках. Она может быть транспортирована в другие ткани или отложена в виде гликогена в печени и мышцах для дальнейшего использования (рис. 2). За несколько дней до

проклева амниотическая жидкость и, возможно, протеины из мышц используются для накопления гликогена в печени и мышцах. Эти запасы гликогена играют важную роль для питания позднего эмбриона до начала потребления корма, так как являются основным источником энергии (Romanoff, 1967; Uni et al., 2005).

Гликолиз и глюконеогенез имеют много общих ферментов, которые обладают двойкой активностью в ходе всего эмбрионального развития в зависимости от обеспеченности организма питательными веществами. На последних стадиях развития, когда наблюдается нехватка кислорода (фаза плато), и до внешнего проклева эти ферменты наиболее активны (De Oliveira et al., 2008).

При дефиците кислорода гликолиз – единственный путь получения энергии для клеток (Nelson, Cox, 2004).

Путем гликолиза глюкоза расщепляется до двух молекул пирувата с образованием четырех молекул АТФ. Обычно пируват входит в цикл трикарбоновых кислот (ЦТКК), где окисляется дальше с образованием АТФ – процесс, требующий кислорода (Matthews, Holde, 1990). Общий баланс процесса гликолиза можно представить следующим образом:



В аэробных условиях глюкоза, жирные кислоты и аминокислоты расщепляются с образованием ацетил-КоА, который входит в цикл ТКК, протекающий в митохондриальном матриксе.

В анаэробных условиях, что характерно для куриного зародыша в начале, до формирования кровеносной системы аллантоиса, и в конце пренатального периода развития, до внешнего проклева, картина метаболических путей меняется кардинально. Так как O_2 , играющий роль акцептора электронов в дыхательной цепи, отсутствует, восстановительный эквивалент НАДН, образующийся в ходе метаболических реакций, дальше не может переокисляться. Из-за высокой концентрации НАДН и отсутствия НАД^+ ингибируется ЦТКК и практически полностью останавливается метаболизм митохондриального матрикса. β -окисление жирных кислот, которое зависит от наличия свободного НАД^+ , также останавливается. Клетки оказываются полностью зависимыми от расщепления глюкозы путем гликолиза. А для продолжения гликолиза также необходимо окисление НАДН. В этих условиях пируват, образующийся в ходе гликолиза, берет на себя функцию акцептора электронов от НАДН, в результате чего регенерируется НАД^+ , а пируват восстанавливается до лактата. В ходе синтеза лактата из глюкозы образуются всего две молекулы АТФ (Nelson, Cox, 2004).

Таким образом, для вышеуказанных периодов развития зародышей птиц характерно временное накопление лактата (Kucera et al., 1984). Птицы способны обратно превращать лактат в глюкозу в печени в цикле Кори при восстановлении уровня кислорода.

Структура альбумина играет ключевую роль в переходе зародыша от анаэробного к аэробному метаболизму (Christensen, 2001). Халазы совместно с плотным альбумином ограничивают движения желтка внутри жидкого слоя белка. Большие запасы липидов в желтке способствуют его всплытию таким образом, что хорионическая и амниотическая мембраны сближаются с внутренней подскорлупной мембраной, что способствует также близости с внешним слоем жидкого белка, где находятся запасы глюкозы. Однако обогащение яйца глюкозой путем применения дифференциального давления не приводит к снижению количества мертвых зародышей, что можно было бы ожидать (Moran, Reinhart, 1981). Постоянные повороты яиц во время инкубации или насиживания обеспечивают равномерное проникновение глюкозы из жидкого белка через верхнюю часть внутрь яйца. Успех данного процесса, главным образом, зависит от целостности альбумина. Долгое или неадекватное хранение яиц до инкубации не только препятствует формированию полностью функционального хориоаллантоиса, но, напротив, способствует образованию белкового мешка в остром конце яйца, что является причиной повышенного отхода яиц в первой половине инкубации (Tona et al., 2005).

Кровеносная система хориоаллантоиса после восьми суток инкубации куриных зародышей обеспечивает быстрый обмен CO_2 и O_2 содержимого яйца с окружающей средой через поры в скорлупе (Tazawa, Ono, 1974). Доступ к кислороду обеспечивает полное окисление жирных кислот, которые используются в качестве источника энергии и основы для развития зародыша.

Когда эмбрион достигает стадии плато в потреблении кислорода, последний становится лимитирующим фактором, и энергетический метаболизм переключается от использования жирных кислот к преимущественному использованию углеводов. Синтез глюкозы происходит в результате утилизации протеинов (аминокислот) в ходе глюконеогенеза, и он хранится в печени и тканях в виде полимера гликогена. Синтез гликогена (гликогенез) и его распад (гликогенолиз) жизненно важны на последних стадиях развития зародыша.

Пентозофосфатний путь

Важность этого пути обусловлена ролью пятиуглеродных сахаров при синтезе ДНК и РНК. Так как в свежем яйце количество нуклеиновых кислот минимальное, они должны синтезироваться в ходе развития зародыша, особенно в периоды быстрого роста.

Синтез жирных кислот и β -окисление в перинатальном возрасте

Успешное развитие зародыша птиц зависит от доставки достаточного количества липидов в определенном соотношении из желтка эмбриону и метаболической способности тканей зародыша к их утилизации для роста и дифференциации.

У всех животных, от рыб до птиц, основными питательными компонентами для развития зародышей служат вителлогенин и липопротеиды. Местом синтеза вителлогенина является печень матери, от которой через кровяное русло он транспортируется к яичникам, где с помощью специфических механизмов поглощается растущими яйцеклетками (Griffin et al., 1984). В ооцитах вителлогенин подвергается специфическому протеолитическому процессингу с образованием фосвитина и липовителлинов. Фосвитин и липовителлин – ЛВП желтка, образующиеся из вителлогенина в ходе перехода через стенку яйца. В отличие от ЛОНП, которые диспергированы в водной фазе, ЛВП организованы в гранулы, которые агрегируются в шаровидные структуры. Фосвитин содержит большие количества фосфора.

Мембрана желточного мешка (ЖМ) играет ключевую роль в метаболизме липидов, будучи ответственной за их поглощение из желтка и передачу в эмбрион (Noble, Gocchi, 1990). Внутренняя эндодерма мембраны ЖМ состоит из слоя столбчатых клеток, которые находятся в контакте с содержимым желтка. Площадь поглощения ЖМ значительно увеличивается за счет формирования сложных складок и выростов на его поверхности. Более того, апикальная поверхность эндодермальных клеток богата микроворсинками (Mobbs, MacMillan, 1979). Для абсорбирования интактных липопротеинов очень низкой плотности они используют рецептор-опосредованный эндоцитоз. Эти клетки также имеют целый ряд различных ферментов, способных изменять абсорбированные липиды до их поступления в кровоток (Powell et al., 2004). Липиды, поглощенные апикальной поверхностью эндодермальных клеток ЖМ, подвергаются гидролизу, реэстерификации, объединяются с апопротеинами, секретируются в виде частиц ЛОНП из базальной поверхности эндодермы и доставляются в кровеносную систему эмбриона. Сеть капилляров, подходящих к базальной поверхности эндодермального слоя, объединяются в главные вителлиновые вены, которые входят в порталную систему эмбриона через стембелек ЖМ. В тканях эмбриона первостепенную роль в утилизации поступивших желточных липидов играет липопротеинлипаза, активность которой в различных тканях быстро растет, начиная с шестого дня инкубации. Специальные депо, которые развиваются во многих местах под кожей эмбриона, служат для хранения этих триглицеридов, в то время как связанный холестерол преимущественно откладывается в печени, увеличивая ее размер и придавая ей характерный слабо-желтый цвет (Speake et al., 1998).

Только очень незначительное количество желточных липидов транспортируется в эмбрион в первую половину инкубации. Метаболические пути, связанные с липидами, наиболее активны в эмбрионе с середины инкубации до 2–3 дней перед внутренним проклевом. Около 12 суток инкубации эмбрион входит в фазу основного метаболического перехода, характеризующегося очень быстрым переносом липидов из желтка в эмбрион через мембрану ЖМ (Noble, Gocchi, 1990). В этот период эмбрион обеспечивается достаточным количеством кислорода, и жирные кислоты желтка используются как основной источник энергии. К моменту вылупления около 75% липидов ЖМ уже доставлены в эмбрион. Состав желтка типичного куриного яйца весом 60 г представлен в табл. 1. Масса желтка составляет 20 г, из которых половина – сухие вещества.

Пальмитиновая (16:0) и олеиновая (18:1n-9) кислоты – основные компоненты класса липидов. Состав полиненасыщенных жирных кислот, главным образом, зависит от состава корма, и, по крайней мере, у современных коммерческих кроссов линолевая кислота (18:2n-6) является основным полиненасыщенным компонентом, в то время как содержание α -линоленовой кислоты (18:3n-3) крайне низко. Полиненасыщенные жирные кислоты с длинной цепью: арахидоновая (20:4n-6) и докозагексаеновая (22:6n-3) представлены в значительных количествах во фракции фосфолипидов, уровни которых также зависят от состава корма (Speake et al., 1998).

Синтез жирных кислот начинается при повышении уровня глюкозы в крови, но у птиц такая ситуация почти никогда не возникает из-за небольших запасов углеводов в яйце. Углеводы, растворенные в белке яйца, играют незначительную роль в производстве энергии на самых ранних стадиях развития (Freetman, Vince, 1974). Значительные количества гликогена, аккумулированные в ЖМ и печени в ходе последней недели развития, являются результатом процесса глюконеогенеза, и быстрое истощение этих запасов в период выхода цыпленка из скорлупы указывает на их роль в этот

критический период развития. В середине инкубации содержание глюкозы в яйце низкое, а кислорода достаточно. Для большей части эмбрионального периода значение дыхательного коэффициента находится на уровне 0,7. Подсчитано, что 94% общей метаболической энергии эмбриона в ходе развития генерируется в результате окисления жирных кислот (Noble, Goschi, 1990). Жирные кислоты, хранящиеся в яйце, триацилглицерол и фосфолипиды используются в ходе всего периода инкубации для построения мембран клеток и как источник энергии. Триацилглицерол из желтка распадается на три молекулы жирной кислоты, а оставшийся глицерол превращается в глюкозу через глюконеогенез. Распад жирных кислот проходит через каскад реакций, которые приводят к формированию сначала комплекса ацил-КоА, а затем нескольких молекул ацетил-КоА (Nelson, Cox, 2004). Этот метаболический путь называется β -окислением (рис. 3). Ацетильные группы дальше окисляются до CO_2 с образованием АТФ в цикле ТКК.

Таблица 1.

Состав желтка куриного яйца весом 60 г.

Компонент	Содержание, г
Протеин	3
Липиды	6
Состав липидов	(%)
Триацилглицерол	67 (массовая доля)
Фосфолипиды	25
Свободный холестерин	5
Эфиры холестерина, свободные жирные кислоты	Следы
Состав фосфолипидов	(%)
Фосфатидилхолин	70
Фосфатидилэтаноламин	25
Фосфатидилсерин	3

Наиболее характерным свойством для печени в плане метаболизма липидов в эмбриональный период развития является значительное накопление эфиров холестерина в форме липидных капель в цитозоле клетки (Noble, Goschi, 1990). Печень путем рецептор-опосредованного эндоцитоза поглощает остатки ЛОНП, липидный компонент которых затем подвергается лизосомному гидролизу. Продукты гидролиза транспортируются в эндоплазматический ретикулум, где они реэстерифицируются, чтобы вновь формировать эфиры холестерина и триацилглицериды. Таким образом, в отличие от ЖМ, основная функция печени – это хранение липидов, а не их транспорт, хотя есть данные, свидетельствующие о способности печени включать липиды в липопротеины для секреции, и ЛОНП, регистрируемые в плазме крови, могут происходить как из ЖМ, так и из печени (Ferrari et al., 1987; Tarugi et al., 1994).

Кровеносная система полностью формируется вскоре после завершения формирования хориоаллантаоиса, что обеспечивает интенсивный обмен O_2 и CO_2 . Жирные кислоты представляют собой наиболее предпочтительный источник энергии для завершения формирования эмбриона в этот период. Повышенное соотношение эссенциальных жирных кислот, появляющихся в составе яйца в ходе инкубации, указывает на их роль в формировании мембран, в то время как насыщенные жирные кислоты с их более высоким энергетическим потенциалом используются для получения энергии. Исследования на млекопитающих подтвердили роль печени в обеспечении докозагексаеновой кислотой клеток мозга и сетчатки глаза (Scott, Bazan, 1989). Очень высокие пропорции этой эссенциальной жирной кислоты в составе триглицеридов печени эмбрионов птиц и данные, свидетельствующие о секреции липопротеинов данной тканью, возможно, указывают на роль печени в обеспечении клеток мозга полиненасыщенными жирными кислотами.

Энергия, высвобождающаяся в результате катаболизма жирных кислот, используется с одной стороны – для синтеза новых (рост), а с другой – для поддержания имеющихся тканей (сохранение). Цена сохранения в энергетическом эквиваленте зависит от массы зародыша и поэтому является наибольшей в конце эмбриогенеза. Напротив, энергия, необходимая для роста, будет наибольшей в период наиболее интенсивного роста тканей (около 13–17 суток инкубации), но будет очень низкой в конце инкубации, когда рост временно прекращается (Hoyt, 1987). Эмбрион представляет собой пойкилотермный организм и поддерживает постоянную температуру тела за счет внешних источников (Tazawa, Rahn, 1987). Однако новорожденный цыпленок быстро становится гомеотермным и уровень

потребления кислорода очень быстро возрастает при рождении благодаря уникальной системе дыхания, характерной для птиц. Высвобождающаяся энергия частично расходуется для покрытия затрат, необходимых для терморегуляции. Таким образом, энергия, получаемая при β -окислении жирных кислот, разделяется между различными функциями в зависимости от стадии развития.

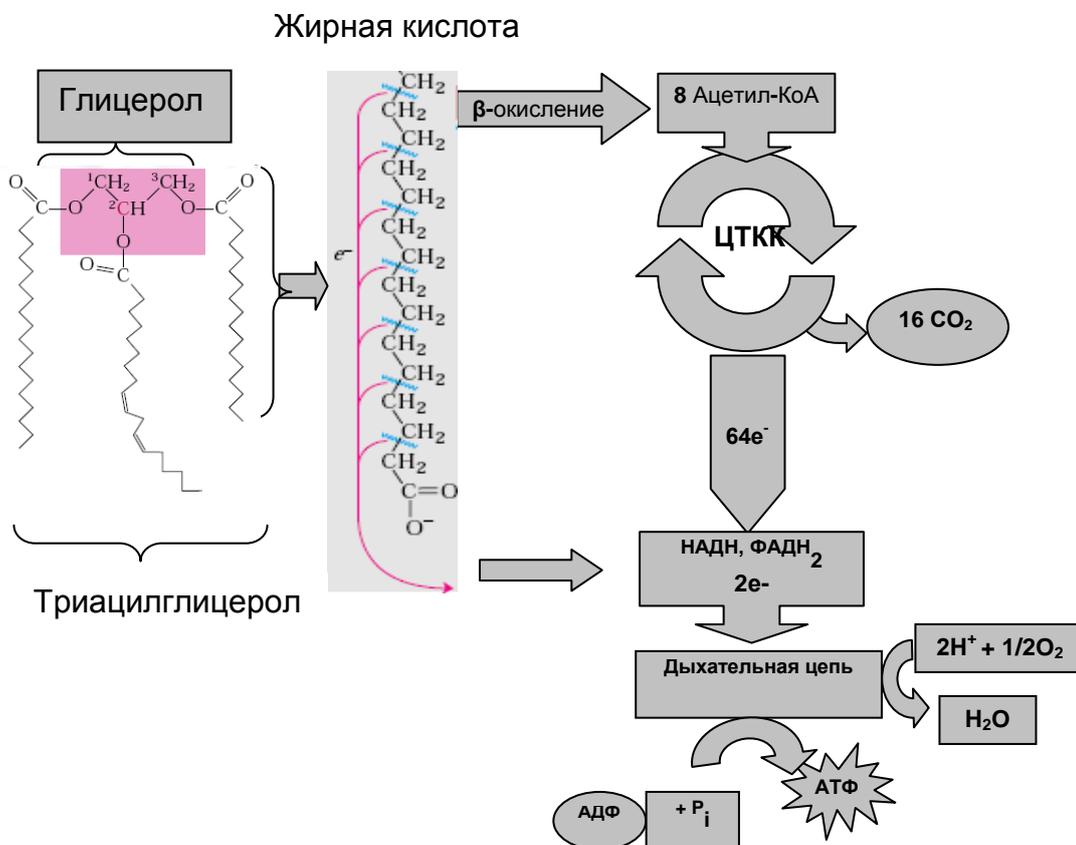


Рис. 3. Метаболизм триглицеридов (из Nelson, Cox, 2004, с модификациями)

Дыхательная система птиц считается одной из самых сложных среди всех групп животных. Лёгкие устроены таким образом, что воздух проходит через них насквозь. При вдохе только 25% наружного воздуха остаётся непосредственно в лёгких, а 75% проходит через них и попадает в специальные воздушные мешки. При выдохе воздух из воздушных мешков опять идёт через лёгкие, но уже наружу, образуется так называемое двойное дыхание. Таким образом, лёгкие постоянно насыщаются кислородом, как во время вдоха, так и выдоха. Воздушные мешки расположены в промежутках между органами, под кожей и даже внутри полых костей.

Хотя структурно формирование эмбриона завершается к 14-м суткам инкубации, в последние 7 суток остро ощущается необходимость обеспечения зародыша питательными веществами для перехода к независимой жизни.

Цикл ТКК

ЦТКК – это главный катаболический путь, в котором производные распада углеводов, жиров и протеинов окисляются до CO_2 , а большая часть высвобождающейся энергии окисления временно сохраняется в акцепторах электронов ФАДН_2 и НАДН . В ходе аэробного метаболизма эти электроны переносятся на O_2 , и энергия потока электронов фиксируется в молекулах АТФ (Nelson, Cox, 2004).

ЦТКК генерирует основную часть АТФ в ходе всего периода инкубации, так как он получает ацетил-КоА в результате β -окисления жирных кислот желтка. Так как цикл ТКК зависит от наличия кислорода, то его активность сильно снижается на стадии плато потребления последнего. Как только происходит проклев скорлупы, кислород доставляется через дыхание легкими (De Oliveira et al., 2008).

ЦТКК можно суммировать как превращение ацетил-КоА в несколько промежуточных молекул с образованием богатых энергией молекул НАДН , ГТФ и ФАДН_2 . НАДН и ФАДН_2 являются восстановительными эквивалентами, которые позже участвуют в получении АТФ в цепи переноса электронов. На каждую молекулу ацетил-КоА в ходе окисления в цикле восстанавливаются три

молекулы НАДН и одна молекула ФАДН₂, и образуется одна молекула нуклеозидтрифосфата (АТФ или ГТФ) (Nelson, Cox, 2004).

Кроме продуцирования энергии ЦТКК предоставляет другим метаболическим путям различные промежуточные компоненты. Молекулы, содержащие атомы углерода, могут подключаться к ЦТКК на различных этапах.

Подготовка цыпленка к вылуплению

Начиная с 14 суток инкубации, свободный альбумин у куриных зародышей начинает поступать в амниотическую полость через серозо-амниотический канал и формирует комплекс, состоящий из двух сред (Feher, 1984). В течение двух суток белок без остатка перекачивается в амниотическую полость. Дифференциал давления, создаваемый растущим организмом, усиливает оральное потребление содержимого амниона, которое затем проходит через желудочно-кишечный тракт (Sugimoto et al., 1999). На 18 сутки инкубации белково-амниотическая смесь уже полностью используется эмбрионом. При прохождении альбуминно-амниотического состава через двенадцатиперстную и тощую кишки происходит частичная абсорбция протеина энтероцитами. Несмотря на наличие полного комплекта энзимов панкреатической железы, процесс внутрикишечного переваривания сильно ингибируется антитрипсиновыми факторами (Yoshizaki et al., 2002).

Овомукоид – один из основных протеинов белка, который появляется в крови и продолжает регистрироваться там и после вылупления цыпленка. Он также известен своей ярко выраженной трипсинингибирующей активностью, однако последующее смешивание энзимного комплекса с липопротеинами в желточном мешке значительно снижает эту активность (De Oliveira et al., 2008).

Альбумин совместно с комплексом ферментов поджелудочной железы поступают в ЖМ через стебелек последнего с помощью антиперистальтической активности ободочной кишки (Bryk, Ghegi, 1990). Ворсинки тонкой кишки у птиц имеют специальные энтероциты, способные переносить жидкость и макромолекулы, что способствует расширению кровеносной системы с началом потребления протеинов белка. Такая абсорбция и потребление питательных веществ продолжается, пока не закончится альбуминно-амниотическая жидкость на 18 сутки инкубации и не начнется внутренний проклев.

Содержание кальция в крови резко возрастает одновременно с переходом ЛОНП из ЖМ в депо эмбриона. Кальций может переходить из кровеносной системы ЖМ через ворсинки и связываться на поверхности сферических структур. Растворение мамиллярных сосочков, прилегающих к хориоаллантаоисной мембране, представляет основной источник кальция крови. Обмен СО₂ в соединении с угольной ангидразой (фермент клеток крови, катализирующий реакцию разложения угольной кислоты до воды и углекислого газа) создает кислые условия для растворения скорлупы и переноса кальция в кровь. Кальций, восстановленный таким образом, не только связывается со сферическими структурами желточного мешка, но и минерализует скелет эмбриона, который раньше представлял хрящ (Roufosse, 1979).

Использование ресурсов для вылупления из яйца и переход к кормлению

Вылупление из яйца начинается внутренним проклевом хориоаллантаоисной и внутренней подскорлупной мембран на периферии воздушной камеры. Отсутствие доступа к кислороду вынуждает эмбрион к одновременному переходу на легочное дыхание. Проклев скорлупы осуществляется с помощью специальных мышц для вывода, яйцевого зуба и поворотом туловища (Bakhuis, 1974). Мышцы для вывода питаются исключительно анаэробным способом, очень хорошо обеспечены гликогеном и имеют специальную нервную систему для координации движений (John et al., 1987). Максимальная васкуляризация в области, прилегающей к воздушной камере на 14–19 сутки инкубации, также способствует ослаблению скорлупы в данном районе из-за высвобождения кальция.

Физическая необходимость вылупления цыпленка обостряется, когда кислородное обеспечение ограничивается к концу инкубации. Наиболее активные мышцы в это время для обеспечения энергией используют гликолиз – метаболизм глюкозы, поставляемой из запасов гликогена. Временное повышение концентрации молочной кислоты, появляющееся в это время, исчезает с началом функционирования легких и адекватным обеспечением кислородом для катаболизма жирных кислот. Хотя дыхательный коэффициент показывает, что окисление жирных кислот доминирует при получении энергии до завершения процесса вылупления, доступ к глюкозе остается важным фактором для полного сгорания жирных кислот без накопления кетоновых тел. Побочное тепло, производимое в ходе сжигания жирных кислот, способствует переходу новорожденного от пойкилотермного к гомеотермному состоянию.

Хотя липопротеины желточного мешка продолжают оставаться важным источником питания в это время, жирные кислоты, получаемые из депо в различных участках тела цыпленка, доминируют. Начинают интенсивно использоваться большие запасы холестерина из печени и незаменимые

жирные кислоты из депо организма для формирования мембран и дальнейшего роста (Uni et al., 2005).

Прекращение поступления кальция из-за деструкции хориоаллантаоиса запускает процесс высвобождения фосфата кальция сферическими структурами ЛВП из ЖМ (Cheville, Coignoul, 1984). Переход от поступления кальция из скорлупы к поступлению кальция и фосфора из ЖМ обеспечивает дальнейшую минерализацию и развитие скелета. Запасы кальция и фосфора, получаемые из сферических структур, истощаются в течение 3–4 дней после вылупления цыпленка в связи с полным использованием содержимого ЖМ. Фосфор, входящий в состав корма несушки, возможно, влияет на формирование вителлогенина и количество сферических структур при формировании яйца.

По мере истощения запасов, полученных из яйца в виде содержимого ЖМ, желудочно-кишечная система цыпленка приспособляется к использованию внешних источников питания. Энтероциты в ворсинках ЖМ предназначены для переноса макромолекул, однако вскоре их роль выполняют энтероциты крипт кишечника. После вылупления у цыпленка присутствуют оба типа энтероцитов, пока не установится нормальное переваривание пищи. Этот период обычно продолжается первые две недели жизни, когда наблюдается рост слизистой оболочки кишечника. Появление повышенных концентраций гормонов совпадает с окончательным созреванием поверхности желудочно-кишечного тракта цыпленка. Потеря ЖМ, исчезновение подкожных запасов и восстановление цвета печени должны совпадать со способностью желудочно-кишечной системы потреблять питательные вещества из корма. Большинство истощенных цыплят не способны к такому переходу и обычно погибают на 3–4 сутки после вылупления. Существует множество стратегий кормления эмбрионов или свежевылупившихся цыплят, которые обеспечивают преимущества для такого перехода, тем самым улучшая производительность (Tako et al., 2004).

Гормональный контроль метаболіческих путей

Метаболические пути взаимозависимо связаны друг с другом и имеют общие промежуточные субстраты, поэтому они требуют точного гомеостатического контроля. Количество и тип имеющихся субстратов запускают синтез гормонов, которые в свою очередь контролируют генную экспрессию ферментов, регулирующих потоки внутри этих путей. К наиболее значимым в метаболизме в пренатальный период развития и затрагивающим фенотипические признаки у цыплят гормонам относятся инсулин, глюкагон, трийодтиронин (Т3), тироксин (Т4) и инсулиноподобные факторы роста (IGF-I и IGF-II).

Контроль инсулином и глюкагоном

Эти гормоны продуцируются поджелудочной железой. Уровень инсулина значительно возрастает по мере развития зародыша, достигает плато на этапе внутреннего проклева, а через 24 часа после первой кормежки начинает расти опять. Напротив, уровень глюкагона низкий на протяжении всего эмбрионального развития, начинает расти только за три дня перед выводом и достигает пика на выводе. Уровень глюкагона падает на 40% через 24 часа после первой кормежки (Lu et al., 2007).

Уровни глюкозы в плазме крови соответствуют кривой уровня инсулина, достигая плато на стадии внутреннего проклева и вывода. Значительное снижение уровня глюкозы в плазме наблюдается за 4 дня до вывода. Пик уровня инсулина приходится на стадию, когда эмбрион потребляет амнион и запасы гликогена в печени и мышцах.

Инсулин секретируется после приема пищи в ответ на повышение концентрации глюкозы в крови. Он стимулирует гликолиз, ЦТКК, гликогенез и синтез жирных кислот. У эмбрионов птиц инсулин регулирует концентрацию аминокислот в плазме, амниотической и аллантаоисной жидкости (Hohlweg et al., 1999). Он также ускоряет морфологическое развитие эмбрионов. Поскольку уровень гормона роста в эмбрионе низкий, возможно, эту роль играет инсулин. В период быстрого эмбрионального роста инсулин способствует отложению протеина. Ярко выраженная позитивная корреляция между массой тела эмбриона и уровнем инсулина плазмы ($r=0,6311$, $P<0,001$) в исследованиях J.W.Lu и др. также указывает на то, что инсулин является важным стимулятором эмбрионального роста. Более того, у птиц уровни инсулина в крови значительно более чувствительны к аминокислотам, чем к углеводам, в отличие от эмбрионов млекопитающих (Lu et al., 2007).

Глюкагон – гормон голодания, указывает на низкий уровень глюкозы в крови, поэтому только клетки, которые потребляют глюкозу как единственный источник энергии (некоторые клетки мозга, крови, сердца и мышц), поглощают его. Глюкагон запускает мобилизацию гликогена и жира. В печени глюкагон стимулирует глюконеогенез для получения глюкозы из других субстратов. Уровень глюкагона в плазме у птиц в 2–3 раза выше, чем у млекопитающих. Его уровень растет, когда эмбрион нуждается в глюкозе, точнее – в первые 10 суток инкубации и последнюю неделю перед выводом.

Значительное увеличение синтеза гликогена во вторую половину эмбриогенеза, наблюдаемое в исследованиях Picardo и Dickson (Picardo, Dickson, 1982), совпадает с низким уровнем глюкагона в этот период и высоким значением молярного соотношения плазменного инсулина к глюкагону, которое возрастает с 2 на 14 день инкубации до 4 на 17 день (Lu et al., 2007). Истощение запасов гликогена за 1–2 дня до вылупления и повышение уровня глюкагона плазмы можно связать с увеличением энергетических запросов эмбриона, тем более что в этот период наблюдается недостаточный уровень метаболизма липидов в связи со снижением кислородной обеспеченности из-за атрофии хориоаллантоической системы кровообращения (Christensen et al., 2001).

Глюкагон также играет важную роль при переходе от липидного типа кормления, характерного для эмбриона, к углеводному метаболизму, характерному для цыпленка. D.R.Langslow и др. в 1979 г. наблюдали 10-кратное увеличение липолитической чувствительности адипоцитов к глюкагону у 8-суточных цыплят по сравнению с 18-суточными эмбрионами. Подкожные жировые отложения, характерные для эмбрионального периода развития, начинают быстро расходоваться сразу после рождения цыпленка (Langslow et al., 1979).

Также как и инсулин, глюкагон проявляет выраженный рост-стимулирующий характер; существует высокая корреляция между уровнем глюкагона плазмы и массой эмбриона ($r=0,6334$, $P<0,001$) (Lu et al., 2007).

Роль инсулиноподобных факторов роста и тиреоидных гормонов в регуляции метаболизма

Инсулиноподобные факторы роста (IGF-I и IGF-II) у птиц, также как и у млекопитающих, стимулируют рост и развитие (Foye et al., 2006). Эти факторы, прежде всего, стимулируют синтез гликогена и протеина в печени. Уровень IGF-I в плазме крови в ходе инкубации растет и снижается на последних стадиях развития, а после вылупления цыпленка наблюдается новая кривая его быстрого роста. Концентрация IGF-II в ходе инкубации также растет, но к концу эмбрионального периода его значение быстро падает до очень низкого уровня (Lu et al., 2007). Таким образом, можно заключить, что IGF-II играет доминирующую роль в ходе эмбриогенеза, в то время как IGF-I стимулирует рост и развитие в постнатальный период развития.

Тиреоидные гормоны Т3 и Т4 участвуют в ряде физиологических процессов, включая регуляцию теплопродукции, мобилизацию запасов гликогена, рост мышц эмбриона и стимуляцию вывода (Nobikuni et al., 1989). J.W.Lu и др. наблюдали стабильные уровни Т3 в середине инкубации с пиком за день до вывода. Уровни Т4 также растут, достигают максимальных значений в период потребления амниотической жидкости (между 17 и 21 днями инкубации) и снижаются после вывода. Резкое повышение уровня Т3 связывают с переходом на легочное дыхание (Lu et al., 2007).

Подводя итог, можно заключить, что профили уровней инсулина, глюкагона, Т3, Т4, IGF-I и IGF-II у эмбрионов и цыплят птиц указывают на наличие тесных взаимосвязей между данными гормонами и ключевыми событиями развития. Согласно имеющимся данным, наиболее важными гормонами, способствующими росту эмбриона, являются инсулин и IGF-I. IGF-II и Т4 вступают в силу, в основном, в период от вывода до трехнедельного возраста. Глюкагон обеспечивает связь между ростом и функциональностью в период эмбриогенеза, в то время как роль тиреоидных гормонов повышается в период вывода цыплят (De Oliveira et al., 2008).

Заключение

Решение практических задач птицеводства, прежде всего, в отношении повышения жизнеспособности птицы и качества продукции требует более глубокого знания биохимических основ регуляции основных метаболических путей. Только понимание лимитирующих рост и развитие факторов позволит целенаправленно воздействовать с целью корректировки в тот или иной период развития. Знания, накопленные за последние десятилетия в данном направлении, используются как для технологической корректировки процесса инкубации, так и для фармакологического воздействия на развитие зародыша *in ovo*.

Птицы представляют уникальную возможность исследования гормонального контроля в закрытой, не связанной с материнским организмом, системе. Тем не менее, следует отметить скудность работ в этом направлении. Дальнейшие исследования должны быть направлены на достижение лучшего понимания взаимосвязей между гормональным контролем метаболических путей и основными переходными событиями в питании и дыхании зародыша.

Список літератури

- Bakhuys W.L. Observations on hatching movements in the chick (*Gallus domesticus*) // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – №87. – P. 997–1003.
- Becker B.F. Towards the physiological function of uric acid // Free Radical Bio. Med. – 1993. – №14. – P. 615–631.
- Bryk S.G., Gheri Z.G. On the development of the chick embryo colon: A computerized morphometric study // Z. Mikrosk. Anat. Forsch. – 1990. – №104. – P. 97–118.
- Chatterjee I.B. Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid // Science. – 1973. – №182. – P. 1271–1272.
- Chevillat N., Coignoul F. Calcium in the turkey yolk sac during late development and postembryonic evolution // Am. J. Vet. Res. – 1984. – №45. – P. 2458–2466.
- Christensen V.L. Factors associated with early embryonic mortality // World's Poult. Sci. J. – 2001. – №57. – P. 359–372.
- 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.
- Davies K.J.A., Sevanian A., Muakkassah-Kelly S., Hochstein P. Uric acid – iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid // Biochem. J. – 1986. – №235. – P. 747–754.
- 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.
- Feher G. Development of the albumen sac and changes of its structure in the goose during hatching // Magy. Allatorvosok Lapja. – 1984. – №39. – P. 105–112.
- Ferrari S., Tarugi P., Drasiani E. et al. The complete sequence of chick apolipoprotein A-1 mRNA and its expression in the developing chick // Gene. – 1987. – №60. – P. 39–46.
- Foye O.T., Uni Z., McMurtry J.P., Ferket P.R. The effects of amniotic nutrient administration, “in ovo feeding” of arginine and/or β -hydroxy- β -methyl butyrate (HMB) on insulin-like growth factors, energy metabolism and growth in turkey poults // International Journal of Poultry Science. – 2006. – Vol.5, №4. – P. 309–317.
- Freeman B.M., Vince M.A. The development of the avian embryo. – London: Chapman and Hall, 1974. – P. 119–159.
- Griffin H.D., Perry M.M., Gilbert A.B. Yolk formation // In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. – London: Academic Press, 1984. – Vol.5. – P. 345–380.
- Hohlweg A., Hare T., Milakofsky L. et al. Hormonal effects on amino acids and related compounds in plasma, amniotic fluid, and allantoic fluid of the chicken embryo // Gen. Comp. Endocrinol. – 1999. – №114. – P. 378–386.
- Hoyt D.E. A new model of avian embryonic metabolism // Journal of Experimental Zoology. – 1987. – Suppl.1. – P. 127–138.
- John T.M., George J.C., Moran Jr. E.T. Pre- and posthatch ultrastructural and metabolic changes in the hatching muscle of turkey embryos from antibiotic and glucose treated eggs // Cytobios. – 1987. – №49. – P. 197–210.
- Kucera P., Raddatz E., Baroffio A. Oxygen and glucose uptake in the early chick embryo // In: Respiration and metabolism of embryonic vertebrates / Ed. R.S.Seymour. – Dordrecht, the Netherlands, 1984. – P. 299–309.
- Langslow D.R., Cramb G., Siddle K. Possible mechanisms for the increased sensitivity to glucagon and catecholamines of chicken adipose tissue during hatching // Gen. Comp. Endocrinol. – 1979. – №39. – P. 527–533.
- Lu J.W., McMurtry J.P., Coon C.N. Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks // Poultry Science. – 2007. – №86. – P. 673–683.
- Matthews C.K., Holde K.E. Carbohydrate metabolism I: anaerobic processes in generating metabolic energy // In: Biochemistry. – The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood City, CA. 1990. – P. 670–703.
- Mobbs I.G., MacMillan D.B. Structure of the endodermal epithelium of the chick yolk sac during early stages of development // American Journal of Anatomy. – 1979. – №155. – P. 287–310.
- Moran Jr E.T. Nutrition of the developing embryo and hatchling // Poultry Science. – 2007. – №86. – P. 1043–1049.
- Moran Jr. E.T., Reinhart B.S. Providing glucose to turkey hatching eggs via pressure differential antibiotic dipping: Effects on hatchability, poult quality, and subsequent performance // Poult. Sci. – 1981. – №60. – P. 1544–1548.
- Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. – 4th edition. – 2004. – 1119p.

- Nobikuni K., Koga K.O., Nishiyama H. The effect of thyroid hormones on liver glycogen, muscle glycogen and liver lipids in chicks // *Japanese Journal of Zootechnical Science*. – 1989. – №60. – P. 346–348.
- Noble R.C., Gocchi M. Lipid metabolism and neonatal chicken // *Progress in lipid research*. – 1990. – №29. – P. 107–140.
- Picardo M., Dickson A.J. Hormonal regulation of glycogen metabolism in hepatocyte suspensions isolated from chicken embryos // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1982. – №71. – P. 689–693.
- Powell K.A., Deans E.A., Speake B.K. Fatty acid esterification in the yolk sac membrane of the avian embryo // *J. Comp. Physiol.* – 2004. – №174. – P. 163–168.
- Romanoff A.L. *Biochemistry of the avian embryo: a quantitative analyses of prenatal development*. – Interscience Publishers, New York, 1967. – 398p.
- Roufosse A.H. Identification of brushite in newly deposited bone mineral from embryonic chicks // *J. Ultrastruct. Res.* – 1979. – №68. – P. 235–255.
- Schlotte V., Sevanian A., Hochstein P., Weithmann K.U. Effect of uric acid and chemical analogues on oxidation of human low density lipoprotein *in vitro* // *Free Radical Bio. Med.* – 1998. – №25. – P. 839–847.
- Scott B.L., Bazan N.G. Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver // *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. – 1989. – №86. – P. 2903–2907.
- Scott T.R., Jonson W.A., Satterlee D.G., Gildersleeve R.P. Circulating levels of corticosterone in the serum of developing chick embryos and newly hatched chicks // *Poultry Science*. – 1981. – №60. – P. 1314–1320.
- Simoyi M.F., Falkenstein E., van Dyke K. et al. Allantoin, the oxidation product of uric acid is present in chicken and turkey plasma // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2003. – №135. – P. 325–335.
- Simoyi M.F., van Dyke K., Klandorf H. Manipulation of plasma uric acid in broiler chicks and its effect on leukocyte oxidative activity // *Amer. J. Physiol.* – 2002. – №282. – P. 791–796.
- Speake B.K., Noble R.C., Murray A.M.B. The utilization of yolk lipids by the chick embryo // *World's Poultry Science Journal*. – 1998. – №54. – P. 319–334.
- Spitsin S.V., Scott G.S., Kean R.B. et al. Protection of myelin basic protein immunized mice from free-radical mediated inflammatory cell invasion of the central nervous system by the peroxynitrite scavenger uric acid // *Neurosci. Lett.* – 2000. – №292. – P. 137–141.
- Sugimoto Y., Sanuki S., Ohsako S. et al. Ovalbumin in developing chicken eggs migrates from egg white to embryonic organs while changing its conformation and thermal stability // *J. Biol. Chem.* – 1999. – №274. – P. 11030–11037.
- Tako P., Ferket P.R., Uni Z. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and β -hydroxy- β -methylbutyrate on the development of chicken intestine // *Poult. Sci.* – 2004. – №83. – P. 2023–2028.
- Tarugi P., Nicolini S., Marchi L. et al. Apolipoprotein B-100 production and cholesterol ester content in the liver of the developing chick // *Journal of lipid research*. – 1994. – №35. – P. 2019–2031.
- Tazawa H., Ono T. Microscopic observation of the chorioallantoic capillary bed of chicken embryos // *Respir. Physiol.* – 1974. – №20. – P. 81–89.
- Tazawa H., Rahn H. Temperature and metabolism of chick embryos and hatchlings after prolonged cooling // *Journal of Experimental Zoology*. – 1987. – Suppl.1. – P. 105–109.
- Tona K., Bruggeman V., Onagbesan O. et al. Day-old chick quality: Relationship of hatching egg quality, adequate incubation practice and prediction of broiler performance // *Avian Poult. Biol. Rev.* – 2005. – №16. – P. 109–119.
- Tsahar Ella, del Rio Carlos Martínez, Izhaki Ido, Arad Zeev Can birds be ammonotelic? Nitrogen balance and excretion in two frugivores // *Journal of Experimental Biology*. – 2005. – №208. – P. 1025–1034.
- Uni Z., Ferket P.R., Tako E., Kedar O. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos // *Poult. Sci.* – 2005. – №84. – P. 764–770.
- Yoshizaki N., Ito Y., Hori H. et al. Absorption, transportation and digestion of egg white in quail embryos // *Dev. Growth Differ.* – 2002. – №44. – P. 11–20.

Представлено: І.А.Іоновим / Presented by: I.A.Ionov

Рекомендовано до друку: В.В.Мартиненко / Recommended for publishing by: V.V.Martynenko

Подано до редакції / Received: 31.08.2009.

© М.Т.Тагіров, О.В.Терещенко, 2009
© M.T.Tagirov, A.V.Tereshchenko, 2009