

**ВПЛИВ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ «ГУМІЛІД»
НА ПОКАЗНИКИ ПРОТЕЇНОВОГО Й АМІНОКИСЛОТНОГО ОБМІНІВ
У КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ КРОСУ «КОББ 500»**

Є. О. Михайленко¹, О. О. Дьомшина², Г. О. Ушакова², В. Г. Грибан¹, Л. М. Степченко¹
eugeniePM@ukr.net, olga-d2009@ukr.net

¹Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет,
вул. Сергія Єфремова (Ворошилова), 25, м. Дніпро, 49027, Україна

²Дніпропетровський національний університет імені О. Гончара,
вул. Казакова, 24, м. Дніпро, 49010, Україна

У статті наведені дані щодо вивчення впливу кормової добавки «Гумілід» на загальні біохімічні показники крові та печінки курчат-бройлерів кросу «Кобб 500». Показано, що в курчат, яким у воду додавали «Гумілід», у водорозчинній фракції печінки, найбільша частка якої представлена цитозольною фракцією, та у плазмі крові відбувалось підвищення кількості загального протеїну. У гомогенаті печінки загальна кількість протеїну збільшувалась на 15 %, а у водорозчинній — на 45 %, що дає можливість стверджувати про активізацію синтезу саме водорозчинних протеїнів під впливом речовин гумінової природи. Також отримані дані можуть свідчити про інтенсифікацію процесів використання амінокислот для біосинтезу протеїну, що підтверджено даними про підвищення активності гама-глутамилтранспептидази на 17 % у водорозчинній фракції печінки, яка саме бере участь у транспорті амінокислот у клітину, та аланін-амінотрансферази — на 20 %, що вказує на прискорення реакції трансамінування.

Встановлено, що в період активного росту (42 доби) відбувається активізація процесів трансамінування, а саме за рахунок аланіну і пірувату, які є активними учасниками глюконеогенезу у печінці та глікозо-аланінового циклу у м'язовій тканині, що узгоджується з даними із незначного зниження активності АсАТ порівняно з курчатами контрольної групи. Таке зниження спостерігалось як у плазмі крові, так і в печінці досліджуваних курчат-бройлерів та може свідчити про переключення процесу трансамінування з використання аспарагінової кислоти на аланін в обмінних процесах курчат-бройлерів під впливом речовин гумінової природи та у цей період розвитку.

Показано особливо важливу роль печінки у біосинтезі протеїну та на тканинні особливості метаболізму амінокислот і протеїнів у курчат в умовах застосування добавки «Гумілід».

Ключові слова: КУРЧАТА-БРОЙЛЕРИ, БІОЛОГІЧНО АКТИВНА КОРМОВА ДОБАВКА «ГУМІЛІД», АЛАТ, АСАТ, ГТП, ЛФ, ПРОТЕЇНОВИЙ ОБМІН

**INFLUENCE OF FEED ADDITIVE “HUMILID”
ON PROTEIN AND AMINO ACID METABOLISM INDICATORS
IN BROILER CHICKENS OF COBB 500 CROSS**

E. A. Mikhaylenko¹, O. O. Dyomshina², G. O. Ushakova², V. G. Griban¹, L. M. Stepchenko¹
eugeniePM@ukr.net, olga-d2009@ukr.net

¹Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University,
25 Sergey Efremov (Voroshilov) str., Dnipro 49027, Ukraine

²Dnipropetrovsk National University named after O. Honchar,
24 Kazakova str., Dnipro 49010, Ukraine

The article presents data on the effect of the feed additive “Humilid” the general biochemical parameters of blood and liver in broiler chickens of the Cobb 500 cross. It has been shown that chickens which received “Humilid” with the water had an increase of total protein in blood plasma and a water-soluble fraction of liver, the largest part of which is represented with the cytosolic fraction. Total protein in liver homogenate increased by 15 %, in a water-soluble fraction of liver — by 45 %, thus we can assert an intensification of the synthesis of water-soluble proteins under the influence of humic substances. The data also can indicate an intensification of the use of amino acids for protein synthesis as it has been shown by the increase of the activity

of gamma-glutamyltranspeptidase by 17 % which participates in the transport of amino acids into the cell, and ALT — by 20% which indicates the acceleration of transamination reaction.

It has been found that in the period of intensive growth (42 days) the processes of transamination are activated by alanine and pyruvate acid, which are active participants of hepatic gluconeogenesis and muscles glucose-alanine cycle. These data are consistent with a slight reduction in AST activity compared to the chickens from the control group. Such a reduction was observed in the blood plasma and in the liver of research broiler chickens and this can indicate the switching of transamination process from the use of aspartic acid to alanine in metabolic processes in broiler chickens under the influence of humic substances and in this period of development.

A particularly important role of the liver in protein biosynthesis and metabolism in the tissue characteristics of proteins and amino acids in birds under the application of "Humilid" is showed.

Keywords: BROILER CHICKENS, BIOACTIVE FEED ADDITIVE "HUMILID", ALT, AST, GTP, ALP, PROTEIN METABOLISM

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ГУМИЛИД» НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО И АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ КРОССА «КОББ 500»

Е. А. Михайленко¹, О. А. Дёмина², Г. А. Ушакова², В. Г. Грибан¹, Л. М. Степченко¹
eugeniePM@ukr.net, olga-d2009@ukr.net

¹Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет,
ул. Сергея Ефремова (Ворошилова), 25, г. Днепр, 49027, Украина

²Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,
ул. Казакова, 24, г. Днепр, 49010, Украина

В статье приведены данные по изучению влияния кормовой добавки «Гумилид» на общие биохимические показатели крови и печени цыплят-бройлеров кросса «Кобб 500». Показано, что у птиц, которым в воду добавляли «Гумилид», в водорастворимой фракции печени, наибольшая часть которой представлена цитозольной фракцией, и в плазме крови происходило увеличение количества общего белка. В гомогенате печени общее количество белка увеличивалось на 15 %, а в водорастворимой — на 45 %, что дает возможность утверждать об активизации синтеза именно водорастворимых белков под влиянием веществ гуминовой природы. Также полученные данные могут свидетельствовать об интенсификации процессов использования аминокислот для биосинтеза белка, что подтверждается данными о повышении на 17 % активности гамма-глутамилтранспептидазы, которая принимает участие в транспорте аминокислот в клетку, и аланинаминотрансферазы — на 20 %, что указывает на ускорение реакции трансаминирования.

Установлено, что в период активного роста (42 сутки) происходит активизация процессов трансаминирования, а именно за счет аланина и пирувата, которые являются активными участниками глюконеогенеза в печени и глюкозо-аланинового цикла в мышечной ткани, что согласуется с данными по незначительному снижению активности АСАТ по сравнению с цыплятами контрольной группы. Такое снижение наблюдали как в плазме крови, так и в печени исследованных цыплят-бройлеров, что может свидетельствовать о переключении процесса трансаминирования с использованием аспарагиновой кислоты на аланин в обменных процессах цыплят-бройлеров под влиянием веществ гуминовой природы и в данный период развития.

Показана особо важная роль печени в биосинтезе белка и на тканевые особенности метаболизма аминокислот и белков у птиц в условиях применения добавки «Гумилид».

Ключевые слова: ЦЫПЛЯТА-БРОЙЛЕРЫ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА «ГУМИЛИД», АЛАТ, АСАТ, ГТП, ЦФ, БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН

Стан протеїнового обміну в організмі курчат бройлерного типу є пріоритетним, що визначає інтенсивність вуглеводного і ліпідного обмінів, впливає на швидкість росту та розвитку птиці [5–9]. Провідну роль в азотистому обміні цілісного організму відіграє

печінка, в якій відбуваються основні процеси протеїнового, амінокислотного, вуглеводного обміну, обміну азотистих основ нуклеїнових кислот, детоксикації ендогенних і екзогенних метаболітів; окрім того, вона є органом, що регулює транспорт азотистих сполук у кліти-

ни печінки і кров [10]. Саме в клітинах гепатоцитів печінки відбувається синтез важливих біологічно активних протеїнів — таких, як альбуміни, окремі класи глобулінів, фібрoneктин та інші. Крім того, після всмоктування з шлунково-кишкового тракту саме в печінці утворюються окремі амінокислоти, які потім формують необхідний пул амінокислот, що бере участь в сукупності пластичних і енергетичних процесів перетворень азотистих речовин в організмі птахів [11]. Ключова роль печінки у протеїновому обміні обумовлює її активну й особисту участь у формуванні біологічної продукції у швидкоростучої птиці бройлерного типу.

Першою й основною ланкою біохімічного контролю протеїнового гомеостазу є кількісні характеристики вмісту загального протеїну у плазмі крові. Цей інтегральний показник відображає статус метаболізму всього організму курчат та тісно пов'язаний з метаболічною активністю у печінці.

Інтенсивність метаболізму протеїнів в організмі тварин певною мірою характеризують також показники активності ензимів, що беруть участь у процесах трансамінування — аспаратамінотрансфераза (АсАТ, К.Ф.2.6.1.1.), аланінамінотрансфераза (АлАТ, К.Ф.2.6.1.2.). Реакція трансамінування дуже часто є першою реакцією в процесі деградації амінокислоти або останньою реакцією її синтезу.

Особливістю активності амінотрансфераз у крові та тканині печінці бройлерів є залежність від віку та інтенсивності росту і розвитку птиці. У період найінтенсивнішого росту відзначається підвищення активності АсАТ та АлАТ [4, 2]. Існує вірогідна кореляційна залежність активності ензимів трансамінування у крові з рівнем абсолютних приростів живої маси курчат, хоча характер їх взаємозв'язку різний та може відображати рівень використання субстратів реакцій трансамінування у процесах метаболізму амінокислот.

Крім того, у метаболізмі протеїнів провідну роль відіграє процес транспорту амінокислот через клітинну мембрану за участі мембранно-пов'язаного ензиму γ -глутаміл-трансферази (ГТП, К.Ф.2.3.2.2.), який каталізує перенесення γ -глутамільної групи внутрішньо-

клітинного трипептиду глутатіону на транспортовану амінокислоту і подальший перенос комплексу в клітину. Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1), що є цинковмісним металопротеїном, має особливе значення у період активного росту та є показником стану гепатобіліарної системи у тварин [10].

У літературі є дані щодо поліфункціонального впливу кормових добавок гумінової природи на організм сільськогосподарської птиці [9, 3], однак повідомлення щодо стану протеїнового обміну в курчат-бройлерів кросу «Кобб 500» порівняно з референтними показниками цього гомеостазу у крові і тканині печінки за умов додавання до основного раціону «Гуміліду» відсутні.

Тому метою роботи було визначити вплив «Гуміліду» на активність основних біохімічних маркерів інтенсивності протеїнового та амінокислотного обміну у крові та печінці курчат бройлерного типу кросу «Кобб 500».

Матеріали та методи

Експеримент проводили на курчатах бройлерного типу кросу «Кобб 500» від 0- до 42-денного віку, яких утримували у стандартних умовах ТОВ «Птахокомплекс Дніпровський» Нікопольського району Дніпропетровської області. Утримання птиці підлогове. Маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1985 р.). Птахи були розділені на дві групи (по 23000 у кожній): у пташнику № 1 були інтактні курчата (контроль), а в пташнику № 2 (дослід) — курчата, яким у воду при випоюванні додавали «Гумілід» в оптимальній кількості за раніше запропонованою схемою [5]. На 42-у добу розвитку після вибіркового зважування відбирали по 5 курчат з середньою живою масою для груп тварин. Наприкінці експерименту у піддослідних курчат-бройлерів у віці 42 доби проводили взяття крові з підкрильцевої вени до годування. Для отримання печінки проводили декапітацію курчат під етерним наркозом.

Відібрану кров з антикоагулянтом центрифугували при швидкості 1000–1200 об/хв протягом 10–15 хв. Відбирали надосадову рідину, яку використовували для подальшого аналізу. Водорозчинну фракцію печінки отримували методом диференційного центрифугування гомогенату при швидкості 1000 об/хв протягом 10 хв.

Отримані плазму, гомогенат і водорозчинну фракцію печінки використовували для визначення загальної кількості протеїну, активності АлАТ, АсАТ, ГТП, ЛФ з використанням стандартних лабораторних методик тест-наборів («Фелісіт», Україна, м. Дніпро) за методами [1, 12].

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили у програмі *Microsoft Excel*.

Результати й обговорення

З біохімічних тестів функціонального стану печінки найчастіше визначають вміст

загального протеїну, активність АсАТ, АлАТ, ГТП, ЛФ. Для визначення статусу метаболізму всього організму визначали кількість загального протеїну у гомогенаті, водорозчинній фракції печінки та сироватці крові дослідних курчат (табл. 1).

Збагачення раціону курчат-бройлерів кросу «Кобб 500» «Гумлідом» призводило до підвищення концентрації загального протеїну в гомогенаті печінки у середньому на 15 % порівняно з контрольними значеннями. Водночас цей показник у водорозчинній фракції печінки, що містить більший відсоток цитозольних протеїнів, збільшився на 45 % ($P < 0,01$). Порівняння співвідношення концентрації загального протеїну у тварин контрольної групи в гомогенаті та водорозчинній фракції печінки складало 1:2, а в дослідній — 1:1,35. Отже, отримані дані свідчать про інтенсифікацію біосинтезу протеїну саме водорозчинної фракції печінки, що підтверджується отриманими даними з підвищення концентрації загально-

Таблиця 1

Кількість загального протеїну у тканинах курчат-бройлерів кросу «Кобб 500», $M \pm m$, $n=5$ Content of total protein in tissues of broiler chickens of the *Cobb 500* cross, $M \pm m$, $n=5$

Тканина / Tissue	Контрольна група Control group	Дослідна група Experimental group
Водорозчинна фракція печінки, мг/кг тканини Water-soluble fraction of liver, mg/kg of tissue	589,74±33,92	1059,83±45,23**
Гомогенат печінки, мг/кг тканини Homogenate of liver, mg/kg of tissue	1230,77±51,28	1435,90±106,25*
Плазма крові, мг/л Blood plasma, mg/l	32,0±0,57	34,3±0,73*

Примітка: тут і далі * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ відносно контрольної групи птиці.
Note: in this and next tables * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ compared to the control group.

Таблиця 2

Активність АсАТ і АлАТ у тканинах курчат-бройлерів кросу «Кобб 500», $M \pm m$, $n=5$ AST and ALT activity in tissues of broiler chickens of the *Cobb 500* cross, $M \pm m$, $n=5$

Ензим / Enzyme	Контрольна група Control group	Дослідна група Experimental group
Плазма крові (Од/л) Blood plasma (E/l)		
АсАТ / AST	284,1±4,39	229,3±10,11***
АлАТ / ALT	43,5±1,27	39,1±0,55**
Водорозчинна фракція печінки (Од/кг тканини) Water-soluble fraction of liver, (E/kg of tissue)		
АсАТ / AST	240,71±3,17	232,27±3,66**
АлАТ / ALT	103,35±1,67	123,36±2,01*

Активність ГТП і ЛФ у тканинах курчат-бройлерів кросу «Кобб 500», $M \pm m$, $n=5$
GTP and ALP Activity in tissues of broiler chickens of the Cobb 500 cross, $M \pm m$, $n=5$

Ензим / Enzyme	Контрольна група Control group	Дослідна група Experimental group
Плазма крові (Од/л) Blood plasma (E/l)		
ГТП / GTP	5,43±0,92	4,22±0,48*
ЛФ / ALP	60,81±6,51	57,92±5,15*
Водорозчинна фракція печінки (Од/кг тканини) Water-soluble fraction of liver, (E/kg of tissue)		
ГТП / GTP	19,3±1,49	23,16±5,79**
ЛФ / ALP	105,69±7,12	101,09±4,6***

го протеїну у плазмі крові дослідних курчат-бройлерів в середньому на 7,1 %.

Для оцінки ензиматичної функції та інтенсивності протеїнового, азотного і вуглеводного обмінів у печінці визначали активність АсАТ і АлАТ (табл. 2).

Аналіз активності АлАТ у водорозчинній фракції печінки показав, що в курчат, які отримували «Гумілід», значення цього показника, порівняно з контрольною групою, було на 20 % вищим. Можливо, у період активного росту (42 доби) відбувається активізація процесів трансамінування, а саме за рахунок аланіну і пірувату, які є активними учасниками глюконеогенезу у печінці та глюкозо-аланінового циклу у м'язовій тканині, що узгоджується з даними щодо незначного зниження активності АсАТ порівняно з курчатами контрольної групи. Таке зниження спостерігалось як у плазмі крові, так і в печінці. Ці факти можуть свідчити про переключення процесу трансамінування з використання аспарагінової кислоти на аланін у обмінних процесах, що підтверджує літературні дані [9].

Активність γ -глутамілтрансферази та лужної фосфатази у плазмі крові та водорозчинній фракції печінки представлено у таблиці 3. Встановлено, що в курчат дослідної групи активність ГТП була на 17 % вищою ($P < 0,05 - 0,01$), ніж у контрольній групі. Отримані дані вказують на підвищення інтенсивності γ -глутамільного циклу транспорту амінокислот крізь плазматичну мембрану клітин печінки. Одночасне підвищення активності АлАТ і кількості загального протеїну може вказува-

ти на інтенсифікацію використання вільних амінокислот більшою мірою для забезпечення синтезу протеїну та глюконеогенезу.

Визначення активності ЛФ у крові та водорозчинній фракції печінки курчат-бройлерів кросу «Кобб 500» показало, що активність цього ензиму дещо знижується в обох тканинах (на 5 %) ($P < 0,05 - 0,01$) порівняно з контрольною групою (табл. 3).

Отже, отримані дані з активності ГТП і ЛФ, які є індикаторами стану гепатобіліарної триади, вказують на її функціонування у нормі.

Висновки

Дослідження стану печінки та крові курчат-бройлерів кросу «Кобб 500» за впливу «Гуміліду» свідчать про інтенсифікацію: біосинтезу цитозольних протеїнів, що підтверджується отриманими даними з підвищення концентрації загального протеїну у плазмі крові; активізацію процесів трансамінування, глюконеогенезу та глюкозо-аланінового циклу; переключення процесу трансамінування з використання аспарагінової кислоти на аланін в обмінних процесах в інтенсивний період розвитку; γ -глутамільного циклу транспорту амінокислот крізь плазматичну мембрану клітин печінки; функціонування у нормі гепатобіліарної системи.

Перспективи подальших досліджень.

Існує необхідність подальших досліджень із впливу біологічно активних добавок на основі гумінових речовин на стан сільськогосподарських тварин у зв'язку із захворюван-

нями, впливу негативних зовнішніх факторів навколишнього середовища, які призводять до зниження продуктивності у тваринництві. Тому пошук препаратів, які б знижували або гальмували негативний вплив, є актуальним завданням.

1. Bertis S. A., Ashvud E. R., Bruns D. *Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed. Filadelfiya, PA, WB Saunders, 2006, 549 p.

2. Derho M. A., Kolesnik E. A. Correlation of weight gain and the preservation of broilers ISA-15 cross-country with the level of blood biochemical parameters. *Agricultural Vestnik Urals*, 2011, no. 3, pp. 27–29. (in Russian)

3. Islam K. M. S., Schuhmacher A., Gropp J. M. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of nutrition*, 2005, 4 (3), pp. 126–134.

4. Kotovich I. V. Activity of test serum enzymes in age aspect, and its association with body weight of broiler chickens. *Veterinary pathology*, 2005, no. 2, pp. 55–59. (in Russian)

5. Mikhailenko E. A., Griban V. G., Stepchenko L. M. Features of protein metabolism in broilers *Cobb 500* for inclusion of “Gumilid” in the diet. Abstracts: «Humic substances and other biologically active compounds in agriculture». Moscow, 2014, pp. 55–58. (in Russian)

6. Stepchenko L. M., Zhorina L. V., Kravtsov L. V. Effect of sodium humate on the metabolism and resistance of highly productive poultry. *Scientific reports of high education. Biological sciences*, 1991, no. 10, pp. 90–95. (in Ukrainian)

7. Stepchenko L. M., Griban V. G. On the mechanism of action of gummy substances on animal and poultry organism. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 1997, no. 7, p. 34–39. (in Ukrainian)

8. Stepchenko L. M., Loseva Ye. O., Skorik M. Physiological aspects of egg-laying chicken productivity prolongation under the influence of hydrohumate. *Physiologic journal*, 2010, vol. 56, no. 3, pp. 305–306. (in Ukrainian)

9. Stepchenko L. M. Biologically active humic substances as regulators of homeostasis of poultry. Articles 7. Internat. Conf. Radostim. 2011 «Phytohormones, humic substances and other biorational pesticides in agriculture», Minsk, 2011, pp. 164–167. (in Russian)

10. Torshkov A. A. Influence of arabinogalactan on productive qualities of broiler chickens. Proceedings of the Orenburg State Agrarian University, 2010, vol. 3, no. 27–1, pp. 203–205. (in Russian)

11. Vorobyov A. V., Lapushkina M. A. Biochemical parameters of broiler chickens under the application of immunostimulant. *Journal of veterinary Medicine*, 2012, vol. 63, no. 4, pp. 132–133. (in Russian)

12. Young D. S. *Effects of disease on clinical laboratory test*. 4th ed. AACCC Press, 2001, 1850 p.