

## АНТИГИПОКСИЧЕСКИЙ И ЭНЕРГОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТЫ ГЛИЦИНАТА КОБАЛЬТА В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ПЕРЕПЕЛОВ (*Coturnix japonica*)

И.И. КОЧИШ, Т.В. МОНСТАКОВА<sup>✉</sup>, Т.О. АЗАРНОВА

Гипоксические явления, в том числе сопряженные с особенностями протекания отдельных периодов эмбриогенеза птицы, приводят к замедлению в развитии, а в тяжелых случаях — к многоплановым морфофункциональным нарушениям у зародышей. Многочисленные исследования подтвердили эффективность использования биостимуляторов с выраженными антиоксидантными свойствами, которые позволяют нивелировать негативные последствия гипоксии и обеспечивать условия более быстрого перехода к аэробному гликолизу. К таким биостимуляторам можно отнести глицинат кобальта, синтезированный в Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина. Выбор составляющих биостимулятора основывался на свойствах каждого компонента в отдельности, а также теоретической возможности возникновения взаимодополняющих эффектов. В настоящей работе впервые установлено, что глицинат кобальта оказывает антигипоксическое и энергостимулирующее действие на эмбрионы перепелов и организм перепелят 1-суточного возраста. Цель работы — изучить действие глицината кобальта на энергетический обмен, а также обосновать возможность коррекции гипоксических явлений, возникающих в период эмбриогенеза, у перепелов в условиях промышленной инкубации. Эксперимент проводили в 2020 году в условиях ООО «Шепиловская птицефабрика» на инкубационных яйцах перепелов (*Coturnix japonica*) японской породы, полученных от одновозрастной птицы. Яйца сортировали по 220 шт. в две партии (опытную и контрольную). Опытную партию яиц до инкубации обрабатывали с помощью аэрозольного распылителя HURRICANE 2792 («Curtis Dupa-Fog», США) однократно 0,05 % раствором глицината кобальта. Контрольную партию обработке не подвергали. Яйца помещали в инкубаторы типа ИУВ-Ф-15-31 («Энергомера», Россия; диапазон температур от 38,1 до 36,8 °С, ширина открытия вентиляционных заслонок — 10-15 мм). В эксперименте учитывали основные категории отходов инкубации, выводимость яиц, вывод перепелят, живую массу молодняка 1-суточного возраста, температуру тела, а также проводили индивидуальную оценку особей 1-суточного возраста по критериям качества шкал Пасгар и Опти-старт. Цельную кровь и сыворотку получали от молодняка 1-суточного возраста методом декапитации. Антиоксидантную активность плазмы крови (АОА), содержание продуктов перекисного окисления липидов определяли колориметрическим методом, измеряя оптическую плотность проб на спектрофотометре Beckman DU-7 («Beckman Coulter, Inc.», США), концентрацию общего белка, липидов, глюкозы в сыворотке крови — на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-600B («Dirui Industrial Co., Ltd.», Китай), содержание лактата и пировиноградной кислоты — методом тандемной хромато-масс-спектрометрии с помощью хроматографа Agilent 6410 Triple («Agilent Technologies Inc.», США), содержание АТФ — биолюминесцентным методом с помощью люминометра и набора реагентов «Люмтек» (Россия), pH — методом прямой потенциометрии на анализаторе электролитов крови E-Lyte 5 («High Technology Inc.», США). В опытной группе количество основных категорий отходов инкубации (кровяные кольца и задохлики) было меньше, чем в контроле, соответственно в 1,82 и в 2,28 раза при увеличении вывода перепелят на 8,64 % ( $p < 0,05$ ) и выводимости яиц на 7,97 % ( $p < 0,05$ ). Предынкубационная обработка яиц глицинатом кобальта в оптимальной концентрации способствовала снижению интенсивности свободно-радикальных реакций и липопероксидации. Наибольшие различия (20 %) наблюдались по концентрации оксодиеновых конъюгатов ( $p < 0,05$ ). Редукция интенсивности ПОЛ, возможно, была сопряжена со стимулирующим влиянием глицината кобальта на антиоксидантную систему, что выразилось в повышении АОА на 12,9 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. Концентрация АТФ в сыворотке крови у перепелят из опытной группы была в 1,4 раза больше ( $p < 0,01$ ), чем в контроле, что в сочетании с повышением содержания глюкозы на 8,73 % ( $p < 0,01$ ), пировиноградной кислоты на 12,5 % ( $p < 0,05$ ), pH на 0,67 % и снижением количества лактата на 16 % свидетельствовало о более эффективном использовании энергетических субстратов организмом. У птицы из опытной группы снижалась вероятность развития некомпенсированной формы ацидоза. Наряду с этим стимуляция энергетического обмена обусловила статистически значимое ( $p < 0,01$ ) повышение температуры, измеренной ректально и под крылом, соответственно на 0,4 и 0,3 °С (39,1 и 37,5 °С против 38,7 и 37,2 °С). Отдельно следует отметить повышение концентрации общего белка в сыворотке крови на 3,88 % ( $p < 0,01$ ) при увеличении живой массы на 8,34 % ( $p < 0,05$ ). Таким образом, при обработке яиц перепелов японской породы 0,05 % раствором глицината кобальта в условиях промышленной инкубации снижалась интенсивность свободно-радикальных реакций и, как следствие, липопероксидации. Наряду с этим глицинат кобальта обладал энергостимулирующим эффектом, что выразилось в более быстром переходе перепелят к аэробному

гликолизу при снижении вероятности развития ацидоза некомпенсированной формы. Более высокая концентрация АТФ у особей 1-суточного возраста из опытной группы свидетельствовала об отсутствии состояния истощения энергетического обмена в предшествующие периоды развития и указывала на лучшие возможности реализации терморегулирующих механизмов, характеризующих естественную резистентность и биологическую полноценность, что определило превосходство по эмбриональной жизнеспособности.

**Ключевые слова:** гипоксия, эмбриогенез, перепела, антиоксидант, глицинат кобальта, выводимость.

Гипоксические явления, в том числе физиологически обусловленные и сопряженные с особенностями процессов, происходящих в разные периоды эмбриогенеза птицы, приводят к замедлению в развитии, а в тяжелых случаях — к многоплановым морфофункциональным нарушениям у зародышей (1-3). По данным М.Т. Тагирова и О.В. Терещенко (4), даже в стандартных условиях промышленной инкубации яиц кур переход к использованию кислорода организмом эмбриона после замыкания аллантаоиса или вывода затягивается, что практически не наблюдается при естественном насиживании. Это неизбежно сопровождается избыточным накоплением лактата и, как следствие, усугублением ацидоза и возрастающей возможностью перехода в состояние некомпенсированной формы (5). Повышение концентрации молочной кислоты из-за несовершенства систем ее утилизации у эмбриона вызывает необратимые негативные явления во всех клетках и тканях зародыша (4). Описанные процессы отрицательно влияют на жизнеспособность эмбрионов и приводят к существенному росту таких отходов инкубации, как кровяные кольца и задохлики (6, 7).

Острое состояние недостаточности кислорода делает невозможной реализацию реакций биологического окисления, критично снижая синтез АТФ и определяя таким образом развитие острых гипоэнергетических состояний. При этом интенсивность субстратного фосфорилирования увеличивается в разы, что не позволяет в должной мере обеспечить нужного количества макроэргов в организме птицы (4, 8). Снижается возможность становления и реализации механизмов адаптации, необходимых для успешного преодоления стрессовых состояний (9). Энергодефицитное состояние также обуславливает недостаточный термогенез, а следовательно, недостаточную иммунобиологическую активность и резистентность особи (10). При воздействии гипоксического стресса в критические периоды эмбрионального развития в дальнейшем у птиц снижаются функциональные характеристики органов и тканей, неполно реализуются адаптационные возможности и продуктивные качества, что вызывает весомые производственные потери и снижение рентабельности не только отдельного птицеводческого предприятия, но и отрасли в целом.

Многочисленные исследования подтвердили эффективность использования различных биостимуляторов с выраженными антиоксидантными свойствами, которые позволяют нивелировать негативный эффект гипоксии и обеспечить более быстрый переход к аэробному гликолизу (11-13). Наибольшую эффективность показали те из них, которые обладали не только антиоксидантной активностью, но и способностью поддерживать функциональность митохондриальной дыхательной цепи (МДХ) (14, 15).

К таким биостимуляторам можно отнести глицинат кобальта, синтезированный в Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина (16). Выбор составляющих биостимулятора основывался на свойствах каждого компонента в отдельности (17-19). Так, глицин способен поддерживать функциональность МДХ, сохраняя интенсивность энергосинтеза (19, 20). Наряду с этим он проявляет антиоксидантные свойства благодаря включению в структуру

глутатиона. Значительное содержание аминокислотной кислоты наблюдается в кератинах и коллагене, необходимых для формирования костей, хрящей и кожи. Она также участвует в синтезе пуриновых азотистых оснований, которые входят в состав ДНК, РНК, коферментов НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФАД, ФМН, макроэргических соединений (19, 20). Глицин относится к гликогенным аминокислотам и способен поддерживать углеводный обмен.

Следует отметить возможность обеих составляющих биостимулятора оказывать влияние на трофику тканей, прежде всего благодаря участию в синтезе гема (глицина как участника первой реакции и кобальта как активатора ряда ферментов этого процесса) (19-22). Кроме этого, кобальт способствует созреванию эритроцитов в костном мозге, повышая количество ретикулоцитов в периферической крови (18).

Сообщалось о важной роли кобальта для образования азотистых оснований, формирования первичной структуры РНК и ДНК, синтеза аминокислот, интенсивности метаболизма углеводов и липидов (19, 20, 23). Также доказано, что органические соединения кобальта участвуют в реакциях, подавляющих синтез свободных радикалов, в избытке образующихся при стрессах (24-29).

В целом, совокупность антиоксидантных, мембранопротекторных, обменостимулирующих свойств синтезированного нами биостимулятора имеет несомненную ценность, прежде всего для интенсивного и полноценного развития эмбрионов в условиях промышленной инкубации яиц птицы. Глицин и кобальт обладают свойствами, которые обуславливают позитивный синергетический эффект при нивелировании негативных последствий гипоксии различной этиологии, а также могут стать корректорами условий энергосинтетических процессов (15, 30).

В настоящей работе впервые установлено, что глицинат кобальта оказывает антигипоксическое и энергостимулирующее действие на эмбрионы перепелов и организм перепелят 1-суточного возраста.

Цель работы — изучить действие глицината кобальта на энергетический обмен, а также обосновать возможность коррекции гипоксических явлений, возникающих в период эмбриогенеза, у перепелов в условиях промышленной инкубации.

*Методика.* Эксперимент проводили в 2020 году в условиях ООО «Шепиловская птицефабрика» (Московская обл., г. Серпухов, д. Шепилово) на инкубационных яйцах перепелов (*Coturnix japonica*) японской породы, полученных от одновозрастной птицы (63 сут). Условия содержания родительского стада для всех групп были одинаковыми, кормление 2-кратное комбикормами ячменно-сорго-соевого типа, сбалансированными согласно существующим нормам РАСХН. Яйца сортировали по 220 шт. в две партии (опытную и контрольную), подбирая по принципу аналогов с учетом условий и времени хранения, сроков снесения и массы. Оптимальная концентрация биостимулятора была выявлена в серии предшествующих экспериментов (16, 30, 31).

Опытную партию яиц до инкубации обрабатывали с помощью аэрозольного распылителя HURRICANE 2792 («Curtis Dyna-Fog», США) однократно 0,05 % раствором глицината кобальта. Контрольную партию обработке не подвергали (сухой контроль). Яйца помещали в инкубаторы типа ИУВ-Ф-15-31 («Энергомера», Россия; диапазон температур от 38,1 до 36,8 °С), корректируя ширину открытия вентиляционных заслонок в пределах 10-15 мм в зависимости от суток инкубации.

В эксперименте учитывали основные категории отходов инкубации, выводимость яиц, вывод перепелят, живую массу молодняка 1-суточного

возраста, температуру тела, а также проводили индивидуальную оценку особей 1-суточного возраста по критериям качества шкал Пасгар и Оптистарт.

Цельную кровь и сыворотку получали от молодняка 1-суточного возраста методом декапитации. Антиоксидантную активность плазмы крови (АОА), содержание продуктов перекисного окисления липидов — алкадиенов с изолированными двойными связями (ИДС), диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), оксодиеновых конъюгатов (ОДС), оснований Шиффа (ОШ) определяли колориметрическим методом, измеряя оптическую плотность проб на спектрофотометре Beckman DU-7 («Beckman Coulter, Inc.», США), концентрацию общего белка, липидов, глюкозы в сыворотке крови — на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-600B («Dirui Industrial Co., Ltd.», Китай) с использованием коммерческих биохимических наборов для ветеринарии (ЗАО «ДИАКОН-ДС», Россия), содержание лактата и пировиноградной кислоты (ПВК) — методом тандемной хромато-масс-спектрометрии с использованием хроматографа Agilent 6410 Triple («Agilent Technologies Inc.», США), содержание АТФ — биолюминесцентным методом с помощью люминометра и набора реагентов «Люмтек» (Россия), рН — методом прямой потенциометрии на анализаторе электролитов крови E-Lyte 5 («High Technology Inc.», США) (32).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли в программе Microsoft Office Excel 2007. Рассчитывали средние значения ( $M$ ) и стандартные ошибки средних ( $\pm SEM$ ). Статистическую значимость различий оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента.

**Результаты.** Предынкубационная обработка яиц глицинатом кобальта в оптимальной концентрации способствовала снижению интенсивности свободно-радикальных реакций и, как следствие, уменьшению липопероксидации у перепелят из опытной группы. Это создало предпосылки для сохранения целостности клеточных структур, в том числе митохондрий, что необходимо для осуществления реакций биологического окисления, которые обеспечивают зародышей основным пулом макроэргов в периоды эмбриогенеза, не связанные с гипоксией (27).

**1. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защитной системы у перепелов (*Coturnix japonica*) японской породы 1-суточного возраста, выведенных после обработки яиц 0,05 % раствором глицината кобальта ( $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ ; ООО «Шепиловская птицефабрика», Московская обл., 2020 год)**

Показатель	Группа	
	контроль (без обработки)	опыт
АОА, %	49,60 $\pm$ 1,43	56,00 $\pm$ 1,00**
ИДС, ед. ОП/мл	7,00 $\pm$ 0,32	6,20 $\pm$ 0,37
ДК, ед. ОП/мл	2,30 $\pm$ 0,03	2,16 $\pm$ 0,04
ТК, ед. ОП/мл	0,93 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,03
ОДК, ед. ОП/мл	0,90 $\pm$ 0,04	0,75 $\pm$ 0,01*
ОШ, ед. ОП/мл	0,50 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,05*

Примечание. АОА — антиоксидантная активность сыворотки крови, ИДС — алкадиены с изолированными двойными связями, ДК — диеновые конъюгаты, ТК — триеновые конъюгаты, ОДК — оксодиеновые конъюгаты, ОШ — основания Шиффа; ОП — оптическая плотность.  
\* и \*\* Различия с контролем статистически значимы соответственно при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

У перепелов 1-суточного возраста из опытной группы наблюдалось снижение показателей липопероксидации относительно контроля (табл. 1). При этом наибольшие различия (20 %) были установлены по концентрации ОДК ( $p < 0,05$ ), чем подтверждается предположение о возможности сохранения целостности фосфолипидов мембран, в том числе благодаря предупреждению образования гидроперекисей (33, 34). Сравнительно высокий показатель ОДК у перепелов из контрольной группы свидетельствовал о

более интенсивном течении свободнорадикальных процессов (35), а также о модификации и увеличении ионной проницаемости бислоя мембран, что приводит к снижению синтеза АТФ и нарушению функциональности клетки (33, 36-39).

Уменьшение количества оснований Шиффа в 1,38 раза относительно контроля ( $p < 0,05$ ) в опытной группе можно рассматривать как положительное явление. Так, по данным Ю.А. Владимирова (33), этот показатель характеризует возможность соединения эндогенных альдегидов (фрагментов кислотных составляющих фосфолипидов) с аминокруппами белков, что приводит к образованию межмолекулярных сшивок, негативно влияющих на функциональность органелл в целом (40). Кроме того, снижение интенсивности образования оснований Шиффа свидетельствует об уменьшении вероятности развития аллергических реакций и патологий аутоиммунного генеза (41).

Следует отметить, что редукция интенсивности ПОЛ, возможно, была сопряжена со стимулирующим влиянием глицината кобальта на антиоксидантную систему, что выразилось в повышении АОА на 12,9 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. В работах И.С. Луговой (42) доказано, что создание условий для регресса избыточной липопероксидации позволяет сохранить целостность не только клеточных структур, но и активность ферментов, в том числе необходимых для образования энергии, что в целом согласуется с нашими данными.

**2. Биохимические показатели сыворотки крови у перепелов (*Coturnix japonica*) японской породы 1-суточного возраста, выведенных после обработки яиц 0,05 % раствором глицината кобальта ( $M \pm SEM$ ,  $n = 5$ ; ООО «Шепиловская птицефабрика», Московская обл., 2020 год)**

Показатель	Группа	
	контроль (без обработки)	опыт
АТФ, мкмоль/л	2,89±0,21	4,01±0,14**
Глюкоза, ммоль/л	9,62±0,16	10,54±0,15**
Пировиноградная кислота, ммоль/л	0,24±0,01	0,27±0,01*
Лактат, ммоль/л	1,09±0,04	0,94±0,05
pH	7,42±0,03	7,47±0,02
Общий белок, г/л	27,20±0,14	28,30±0,21**
Общие липиды, ммоль/л	2,56±0,08	2,69±0,09

Примечание. АТФ — аденозинтрифосфорная кислота.

\* и \*\* Различия с контролем статистически значимы соответственно при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

Концентрация АТФ в сыворотке крови у перепелят из опытной группы была в 1,4 раза больше ( $p < 0,01$ ), чем в контроле, что наряду с повышением содержания глюкозы на 8,73 % ( $p < 0,01$ ), ПВК на 12,5 % ( $p < 0,05$ ), pH на 0,67 % и снижением количества лактата на 16 % свидетельствовало о более эффективном использовании энергетических субстратов у птиц, полученных из обработанных глицинатом кобальта яиц, вследствие более быстрого перехода организма к энергетически более выгодному аэробному гликолизу (табл. 2). У перепелят из опытной группы снижалась вероятность развития некомпенсированной формы ацидоза. Стимуляция энергетического обмена также обусловила статистически значимое ( $p < 0,01$ ) увеличение температуры, измеряемой ректально и под крылом, соответственно на 0,4 и 0,3 °С (39,1 и 37,5 °С против 38,7 и 37,2 °С), что указывало на повышение биологической полноценности молодняка и его естественной резистентности (43-45).

Отдельно следует отметить увеличение концентрации общего белка в сыворотке крови на 3,88 % ( $p < 0,01$ ) при повышении живой массы на 8,34 % ( $p < 0,05$ ) ( $8,88 \pm 0,21$  г в контроле,  $9,62 \pm 0,19$  г в опытной группе,  $n = 5$ ), то есть мономеры белка использовались организмом не столько на

энергетические нужды, сколько на рост и развитие, что необходимо для реализации хозяйственно полезных качеств особи в дальнейшем онтогенезе.

Содержание общего белка, общих липидов, глюкозы, зафиксированные в контроле, были близки к нижним границам референтных значений (46), что указывает на перерасход макроэргов в эмбриогенезе. Очевидно, это было необходимо для повышения эффективности механизмов адаптации и вместе с тем свидетельствовало об истощении организма вследствие воздействия стрессоров, обусловленных условиями промышленной инкубации.

По данным Ю.С. Ермоловой (47), поддержание антиоксидантного баланса и, как следствие, оптимизация интенсивности энергообмена обеспечивают повышение эмбриональной жизнеспособности и функциональной полноценности формируемых органов и тканей особи, что согласуется с полученными нами данными (табл. 3). Так, в опытной группе мы выявили значимое снижение всех категорий отходов инкубации, особенно сопряженных с гипоксией. В частности, доля кровяных колец и задохликов (15) была меньше, чем в контроле, соответственно в 1,82 и в 2,28 раза при достоверном увеличении вывода перепелят на 8,64 % ( $p < 0,05$ ) и выводимости яиц на 7,97 % ( $p < 0,05$ ). Это сопровождалось повышением качества молодняка 1-суточного возраста (оценка в баллах по шкалам Пасгар и Оптистарт выше соответственно на 1,0 при  $p < 0,05$  и на 1,3 при  $p < 0,01$ ). Полученные данные, очевидно, во многом обусловлены сохранением целостности всех мембранных структур клетки, а значит, и их функциональности, что необходимо для тканевого дыхания растущего эмбриона (48).

**3. Показатели биоконтроля инкубации (%) у перепелов (*Coturnix japonica*) японской породы 1-суточного возраста, выведенных после обработки яиц 0,05 % раствором глицината кобальта ( $M \pm SEM$ ,  $n = 220$ ; ООО «Шепиловская птицефабрика», Московская обл., 2020 год)**

Группа	Отходы инкубации					Выводимость яиц		Вывод перепелят	
	1	2	3	4	5	всего	к контролю	всего	к контролю
Контроль	6,82±1,70	3,64±1,26	8,18±1,85	3,64±1,26	2,27±1,00	80,98±2,65		75,45±2,90	
Опыт	5,45±1,53	1,82±0,90	5,91±1,59	1,36±0,78	1,36±0,78	88,94±2,11*	+7,97	84,09±2,47*	+8,64

Примечание. 1 — неоплод (включая ложный), 2 — кровяные кольца, 3 — замершие, 4 — задохлики, 5 — слабые.

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Таким образом, при обработке яиц перепелов японской породы 0,05 % раствором глицината кобальта в условиях промышленной инкубации происходила оптимизация обменных процессов, в том числе благодаря сохранению активности ферментов за счет снижения интенсивности перекисного окисления липидов, что позволило обеспечить более быстрый переход перепелят к аэробному гликолизу при снижении вероятности развития ацидоза некомпенсированной формы. Как следствие, особи из опытной группы превосходили контрольных по эмбриональной жизнеспособности. Наряду с этим глицинат кобальта в оптимальной концентрации обладал энергостимулирующим эффектом. Более высокая концентрация АТФ у особей 1-суточного возраста из опытной группы свидетельствовала об отсутствии состояния истощения энергетического обмена в предшествующие периоды развития, что создало условия для лучшей терморегуляции, характеризующей естественную резистентность и биологическую полноценность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Smith F., Hu D., Young N.M., Lainoff A.J., Jamniczky H.A., Maltepe E., Hallgrimsson B., Marcucio R.S. The effect of hypoxia on facial shape variation and disease phenotypes in chicken

- embryos. *Disease Models and Mechanisms*, 2013, 6(4): 915-924 (doi: 10.1242/dmm.011064).
2. Cruz S.R., Romanoff A.L. Effect of oxygen concentration on the development of the chick embryo. *Physiological Zoology*, 1944, 17(2): 184-187 (doi: 10.1086/physzool.17.2.30151721).
  3. Tintu A., Rouwet E., Verlohren S., Brinkmann J., Ahmad S., Crispi F., van Bilsen M., Carmeliet P., Staff A.C., Tjwa M., Cetin I., Gratacos E., Hernandez-Andrade E., Hofstra L., Jacobs M., Lamers W.H., Morano I., Safak E., Ahmed A., le Noble F. Hypoxia induces dilated cardiomyopathy in the chick embryo: mechanism, intervention, and long-term consequences. *PLoS ONE*, 2009, 4(4): e5155 (doi: 10.1371/journal.pone.0005155).
  4. Тагиров М.Т. Питание и основные метаболические пути в развивающемся зародыше птицы. *Вестник Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Серия: биология*, 2009, 10: 48-59.
  5. De Oliveira J., Uni Z., Ferket P. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. *World's Poultry Science Journal*, 2008, 64(4): 488-499 (doi: 10.1017/S0043933908000160).
  6. Отрыганьев Г.К. *Технология инкубации*. М., 1989.
  7. Салех Х.К. *Классификация и анализ причин эмбриональной смертности при инкубации яиц кур. Автореф. канд. дис.* М., 1981.
  8. Слепнева Л.В. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими растворами. *Трансфузиология*, 2013, 14(2): 49-65.
  9. Фисинин В.И. Первые дни жизни цыплят: от защиты от стрессов к эффективной адаптации. *Птицеводство*, 2012, 2: 11-15.
  10. Епимахова Е.Э. *Научно-практическое обоснование повышения выхода инкубационных яиц и кондиционного молодняка сельскохозяйственной птицы в ранний постнатальный период. Автореф. докт. дис.* Ставрополь, 2013.
  11. Кармолиев Р.Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных. *Ветеринария*, 2005, 4: 42-47.
  12. Zarubina I.V., Lukk M.V., Shabanov P.D. Antihypoxic and antioxidant effects of exogenous succinic acid and aminothiol succinate-containing antihypoxants. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2012, 153(3): 336-339 (doi: 10.1007/s10517-012-1709-5).
  13. Gonchar O., Klyuchko E., Seredenko M., Oliynik S. Corrections of prooxidant-antioxidant homeostasis of organism under hypoxia of different genesis by yackton, a new pharmacological preparation. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.*, 2003, 27(2-3): 53-58.
  14. Азарнова Т.О. *Научно-практические аспекты профилактики оксидативного стресса, как способа оптимизации условий инкубации и акселерации эмбрионов кур. Докт. дис.* М., 2013.
  15. Schlüter T., Struy H, Schönfeld P. Protection of mitochondrial integrity from oxidative stress by the triaminopyridine derivative flupirtine. *FEBS Letters*, 2000, 481(1): 42-46 (doi: 10.1016/s0014-5793(00)01923-2).
  16. Монстакова Т.В. Роль оптимизации метаболических процессов в системе снижения отходов инкубации. *Птицеводство*, 2020, 7-8: 44-50.
  17. Логинов Г.П. *Влияние хелатов металлов с аминокислотами и гидролизатами белков на продуктивные функции и обменные процессы организма животных. Докт. дис.* Казань, 2005.
  18. Senthilkumar R., Sengottuvelan M., Nalini N. Protective effect of glycine supplementation on the levels of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in the erythrocyte of rats with alcohol-induced liver injury. *Cell Biochemistry and Function*, 2004, 22(2): 123-128 (doi: 10.1002/CBF.1062).
  19. Wang W, Wu Z, Dai Z, Yang Y, Wang J, Wu G. Glycine metabolism in animals and humans: implications for nutrition and health. *Amino Acids*, 2013, 45(3): 463-477 (doi: 10.1007/s00726-013-1493-1).
  20. Марри Р. *Биохимия человека*. М., 2009.
  21. Razak M.A., Begum P.S., Viswanath B., Rajagopal S. Multifarious beneficial effect of nonessential amino acid, glycine: a review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017: 1716701 (doi: 10.1155/2017/1716701).
  22. Калиман П.А. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крысы. *Биохимия*, 1986, 51(8): 1307-1308.
  23. Бинкевич В.Я. *Влияние марганца и кобальта и их хелатов на физиологические процессы, производительность и мясные качества цыплят-бройлеров. Автореф. канд. дис.* Львов, 1997.
  24. Левитин И.Я. Регистрация ответа опухолевых клеток на воздействие комплексами Со (III) и Fe(III) методом 31P-ЯМР-спектроскопии. *Экспериментальная онкология*, 2002, 2: 128-134.
  25. Miodragović D.U., Bogdanović G.A., Miodragović Z.M., Radulović M.D., Novaković S.B., Kaluderović G.N., Kozłowski H. Interesting coordination abilities of antiulcer drug famotidine and antimicrobial activity of drug and its cobalt (III) complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2006, 100(9): 1568-1574 (doi: 10.1016/J.JINORGBIO.2006.05.009).
  26. Осинский С. Селективность действия редоксактивных комплексов кобальта (III) на опухолевую ткань. *Экспериментальная онкология*, 2004, 2: 18-24.
  27. Azarnova T.O., Yartseva I.S., Indyukhova Ye.N., Naydenskiy M.S., Zaitsev S.Yu. Effects of the nanostructured complex of biologically active compounds on the free-radical processes and the

- liver state of the chicken cross «Shaver 2000». *Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology*, 2013, 2(5): 1-3 (doi: 10.4172/2324-8777.1000123).
28. Piotrowska-Kirschling A., Drzeżdżon J., Kloska A., Wyrzykowski D., Chmurzyński L., Jacewicz D. Antioxidant and cytoprotective activity of oxydiacetate complexes of cobalt(ii) and nickel(ii) with 1,10-phenantroline and 2,2'-bipyridine. *Biological Trace Element Research*, 2018, 185(1): 244-251 (doi: 10.1007/s12011-018-1243-z).
  29. Inan C., Kiliç K., Kotiloğlu E., Akman H.O., Kiliç I., Michl J. Antioxidant therapy of cobalt and vitamin E in hemosiderosis. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1998, 132(2): 157-65 (doi: 10.1016/s0022-2143(98)90011-7).
  30. Кочиш И.И. Патент RU №2706563. Способ оптимизации гомеостаза у эмбрионов и молодняка кур. МПК A01K 45/00, A01K 67/00. Опубликовано. 19.11.2019. Бюл. № 32. Конвенционный приоритет 12.03.2019.
  31. Кочиш И.И. Антиоксидантные и гематопротекторные свойства препарата нового поколения — глицината кобальта. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*, 2019, 1: 149-151.
  32. Кондрахин И.П. *Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики*. М., 2004.
  33. Владимиров Ю.А. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах*. М., 1972.
  34. Catalá A., Díaz M. Impact of lipid peroxidation on the physiology and pathophysiology of cell membranes. *Front. Physiol.*, 2016, 7: 1-3 (doi: 10.3389/fphys.2016.00423).
  35. *Биохимия оксидативного стресса* /Под ред. М.С. Карбышева, Ш.П. Абдуллаева. М., 2018.
  36. Panov A.V., Dikalov S.I. Cardioplipin, perhydroxyl radicals, and lipid peroxidation in mitochondrial dysfunctions and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 8: 1323028 (doi: 10.1155/2020/1323028).
  37. Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 1992, 13(4): 341-390 (doi: 10.1016/0891-5849(92)90181-f).
  38. Georgieva E., Ivanova D., Zhelev Z., Bakalova R., Gulubova M., Aoki I. Mitochondrial dysfunction and redox imbalance as a diagnostic marker of "free radical diseases". *Anticancer Research*, 2017, 37(10): 5373-5381 (doi: 10.21873/anticancer.11963).
  39. Зентов Н.К. *Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты*. М., 2001.
  40. Тугушева Ф.А. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек. *Нефрология*, 2007, 11(3): 29-47.
  41. Земсков М.А. Ключевые показатели иммунопатологических реакций при различных заболеваниях. *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*, 2007, 2: 408-411.
  42. Луговая И.С. *Профилактика стресс-индуцированных нарушений у эмбрионов кур при трансвариальном применении естественных метаболитов. Автореф. канд. дис.* М., 2018.
  43. Кочиш И.И. Трансвариальное использование препарата, содержащего селен и витамин С, для оптимизации температурного гомеостаза у суточных цыплят. *Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*, 2017, 2: 117-119.
  44. Забудский Ю.И. Термотолерантность сельскохозяйственной птицы. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2012, 1: 5-16.
  45. Akbarian A., Michiels J., Degroote J., Majdeddin M., Golian A., De Smet S. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. *J. Anim. Sci. Biotechno*, 2016, 7: 1-14 (doi: 10.1186/s40104-016-0097-5).
  46. Васильева Е.А. *Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных*. М., 1982.
  47. Ермолова Ю.С. *Обработка яиц кур биологически активными препаратами для стимуляции резистентности цыплят на различных стадиях онтогенеза. Автореф. канд. дис.* М., 2010.
  48. Кочиш И.И. *Профилактика свободнорадикальных аномалий у кур в раннем онтогенезе*. М., 2019.

ФГБОУ ВО Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии —  
МВА им. К.И. Скрябина,  
109472 Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23,  
e-mail: kochish.i@mail.ru, tommi@list.ru ✉, azarena@list.ru

Поступила в редакцию  
28 июля 2022 года

*Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2022, V. 57, № 6, pp. 1208-1216

## ANTIHYPoxic AND ENERGY STIMULATING EFFECTS OF COBALT GLYCINATE DURING EMBRYOGENESIS OF QUAILS (*Coturnix japonica*)

I.I. Kochish, T.V. Monstakova✉, T.O. Azarnova

*Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology*, 23, ul. Akademika K.I. Skryabina, Moscow, 109472 Russia, e-mail kochish.i@mail.ru, tommi@list.ru (✉ corresponding author), azarena@list.ru



## Abstract

Hypoxic manifestations, including those associated with certain periods of bird embryogenesis, lead to slowdown in development, and in severe cases, to multifaceted morphological and functional disorders in embryos. Numerous studies have confirmed the effectiveness of biostimulants with pronounced antioxidant properties, which can neutralize negative effects of hypoxia and provide conditions for a faster transition to aerobic glycolysis. These biostimulants include cobalt glycinate, synthesized at Scriabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology. The choice of the biostimulant components was due to the properties of each component separately and their hypothetical complementary effect. In the present work, it was found for the first time that cobalt glycinate has an antihypoxic effect and stimulates energy metabolism in quail embryos and 1-day-old quails. The purpose of the work is to investigate the effect of cobalt glycinate on energy metabolism and to provide a background for correction of adverse effects of hypoxia that occur during embryogenesis in quails under incubation. The experiment was carried out on hatching eggs from Japanese quail (*Coturnix japonica*) of the same age (Shepilovskaya Poultry Farm, Moscow Province, 2020). The eggs were sorted in two batches (experimental and control, 220 eggs each). The experimental eggs were sprayed once with 0.05 % cobalt glycinate solution (an aerosol dispenser HURRICANE 2792, Curtis Dyna-Fog, USA). The control batch was not treated. The eggs were incubated in IUV-F-15-31 type incubators (Energomera, Russia; the temperature range from 38.1 to 36.8 °C, a 10-15 mm ventilation flaps' opening). Key categories of incubation waste, hatchability rate of eggs, hatching, live weight of 1-day-old juveniles, body temperature, and the quality as per Pasgar and Optistart scaled criteria were assessed. Blood of 1-day-old juveniles was sampled by decapitation. Blood antioxidant activity (AOA), the content of lipid peroxidation products were measured using a Beckman DU-7 spectrophotometer (Beckman Coulter, Inc., USA). Concentrations of total blood proteins, lipids, glucose were measured using an automatic biochemical analyzer DIRUI CS-600B (Dirui Industrial Co., Ltd., China). The content of lactate and pyroracemic acid was analyzed by tandem chromatography-mass spectrometry (an Agilent 6410 Triple chromatograph, Agilent Technologies Inc., USA). The ATP content was determined by bioluminescent method (a luminometer and reagents from Lumtek, Russia), pH by direct potentiometry (an E-Lyte 5 blood electrolyte analyzer, High Technology Inc., USA). In the test group, the number of the main incubation wastes (blood rings and died-in-shell birds) was 1.82 and 2.28 times less, respectively, than in the control group, while the hatching rate increased by 8.64 % ( $p < 0.05$ ) and hatchability by 7.97 % ( $p < 0.05$ ). Treatment with an optimal dosage of cobalt glycinate prior to incubation contributed to a decrease in free-radical reactions and lipid peroxidation. The greatest differences (20 %) occurred in the concentration of oxodiene conjugates ( $p < 0.05$ ). The reduced LPO intensity may be due to the stimulating effect of cobalt glycinate on the antioxidant system, which resulted in an increase in AOA by 12.9 % ( $p < 0.01$ ) compared to control. The blood concentration of ATP in quails of the test group was 1.4 times higher ( $p < 0.01$ ) than in the control group. The ATF level, along with an increase in glucose by 8.73 % ( $p < 0.01$ ), pyroracemic acid by 12.5 % ( $p < 0.05$ ), pH by 0.67 % and a decrease in the lactate by 16 %, were indicative of a more efficient use of energy substrates by the birds. The likelihood of development of an uncompensated acidosis decreased in the birds of the test group. Along with this, the stimulation of energy metabolism caused a statistically significant ( $p < 0.01$ ) increase in body temperature measured rectally and under the wing, by 0.4 and 0.3 °C, respectively (39.1 and 37.5 °C vs. 38.7 and 37.2 °C). An increase in the blood concentration of total proteins by 3.88 % ( $p < 0.01$ ) and an increase in live weight by 8.34 % ( $p < 0.05$ ) should be especially noted. Therefore, under industrial conditions, the pre-incubation treatment of Japanese quail eggs with 0.05 % solution of cobalt glycinate reduces the free radical level and, as a result, lipid peroxidation in 1-day-old quails. Additionally, cobalt glycinate stimulates energy metabolism, providing a faster transition of quails to aerobic glycolysis and reducing the likelihood of uncompensated acidosis. A higher concentration of ATP in 1-day-old individuals of the test group indicates both a better thermoregulatory function to ensure natural resistance and viability, and the absence of depleted energy metabolism during the previous periods of development, which determines the superiority in viability of embryos.

Keywords: hypoxia, embryogenesis, quail, antioxidant, cobalt glycinate, hatchability rate.