

Ультрадисперсные кормовые добавки

УДК 636.52/.58:591.1:636.085.12:546.763

doi: 10.15389/agrobiology.2019.4.810rus

**КИШЕЧНОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ И БИОХИМИЯ КРОВИ
У КУР-НЕСУШЕК (*Gallus gallus* L.) ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОНЫ
МИКРОДОБАВКИ ХРОМА*****В.И. ФИСИНИН, В.Г. ВЕРТИПРАХОВ, А.А. ГРОЗИНА, И.В. КИСЛОВА,
М.В. КОЩЕЕВА**

Хром относится к биогенным элементам, которые необходимы для нормального развития и функционирования организма. Он регулирует синтез жиров, углеводный обмен и содержание глюкозы в крови. Известно о положительном влиянии добавок хрома при его использовании в кормлении молодняка кур. Данные о влиянии микродобавок хрома на процессы пищеварения в научной литературе малочисленны, а на животных с хронической фистулой кишечника отсутствуют. В настоящей работе на курах-несушках с дуоденальной фистулой впервые показано, что при введении в рацион микродобавки хрома в пищеварительном тракте кур изменяется активность ферментов, которые по-разному реагируют на присутствие тяжелого металла в неодинаковых по ингредиентному составу кормах. При этом также изменяются биохимические показатели крови: содержание амилазы, трипсина, глюкозы, триглицеридов, общего белка, мочевой кислоты, щелочной фосфатазы. Целью работы было изучение влияния микродоз (100 мкг/кг корма) добавки Cr_2O_3 на пищеварение и биохимию крови у кур-несушек, получающих разные по ингредиентному составу корма. Опыты выполняли на 10-12-месячных курах-несушках (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White ($n = 10$; ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН, 2018 год). Для получения содержимого 12-перстной кишки птиц оперировали, вживляя канюлю в 12-перстную кишку напротив места впадения панкреатических и желчных протоков. В дуоденальном химусе определяли активность амилазы, липазы и общих протеаз через 1 ч после кормления. Физиологический опыт выполняли методом групп-периодов (по 5 гол. в каждой группе), сформированных по принципу аналогов. Опыт включал два периода (по 7-10 сут каждый): в контрольный птицы не получали добавку, в опытный к основному рациону добавляли ультрадисперсный препарат Cr_2O_3 (ООО «Платина», Россия; метод получения — плазмохимический синтез, $d = 91$ нм, удельная поверхность — $9 \text{ м}^2/\text{г}$, Z-потенциал — $93 \pm 0,52$ мВ, содержание Cr_2O_3 — 99,8 %) в дозе 100 мкг/кг. В первой серии опытов в состав основного рациона был включен соевый, во второй — подсолнечный жмых. Кровь для биохимических исследований получали из подкрыльцовой вены утром натощак, центрифугировали с цитратом натрия для получения плазмы и определяли активность трипсина, щелочной фосфатазы, содержание глюкозы, общего белка, триглицеридов, мочевой кислоты, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы с помощью проточного полуавтоматического биохимического анализатора BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай). Плазму крови исследовали на активность амилазы и липазы на приборе Chem Well 2900 (T) («Awareness Technology», США) с использованием соответствующих наборов реагентов («Human GmbH», Германия). Результаты исследований показали, что микродобавка хрома оказывала неоднозначное действие на фоне разных белковых компонентов рациона кур-несушек. В опытный период, независимо от рациона, при введении добавки оксида хрома отмечалось повышение активности амилазы в плазме крови на 37,8-50,2 %, при этом содержание глюкозы снижалось соответственно на 26,6-17,5 % ($p < 0,05$), что свидетельствует об улучшении ее усвоения. Коэффициенты корреляции (r) между активностью амилазы в дуоденальном содержимом и содержанием глюкозы в крови на разных рационах составляли $-0,72$ ($p < 0,05$) и $-0,45$. При содержании птицы на пшеничном рационе с добавкой соевого жмыха введение Cr_2O_3 способствовало снижению активности липазы в содержимом кишечника, при этом биохимические показатели крови кур-несушек уменьшались на 22-40 % в пределах физиологической нормы. Введение в рацион оксида хрома на фоне подсолнечного жмыха способствовало повышению в дуоденуме активности амилазы, липазы и протеаз, что было связано, по-видимому, с содержанием антипитательных веществ в подсолнечном жмыхе. Следовательно, результат применения в кормах наночастиц оксида хрома зависит от базового рациона, что следует учитывать в практической работе.

Ключевые слова: *Gallus gallus* L., куры-несушки, дуоденальное содержимое, активность пищеварительных ферментов, пищеварительные ферменты крови, оксид хрома (III).

Хром относится к биогенным элементам, которые содержатся в

* Работа выполнена при финансовой поддержке подпрограммы «Изучение механизмов адаптации системы пищеварения млекопитающих животных и птицы к рационам с различным ингредиентным составом кормов» в соответствии с Программой фундаментальных исследований РАН (постановление Президиума РАН № 132 от 05.07.2017).

тканях растений и животных и необходимы для нормального развития и функционирования организма. Его важнейшая биологическая роль состоит в регуляции синтеза жиров, углеводного обмена и содержания глюкозы в крови. Хром входит в состав низкомолекулярного органического комплекса — фактора толерантности к глюкозе, обеспечивающего ее нормальное содержание в крови. Он действует как регулятор количества сахара в крови (1, 2), обеспечивая нормальную активность инсулина. Хром вовлечен в регуляцию обмена холестерина (входит в состав трипсина) и служит активатором некоторых ферментов, участвуя в поддержании нормальной работы сердечной мышцы и функционирования кровеносных сосудов. Также хром способствует выведению из организма токсинов, солей тяжелых металлов, радионуклидов (3).

Биологическая активность хрома объясняется главным образом способностью ионов Cr^{3+} образовывать комплексные соединения. Ионы Cr^{3+} участвуют в стабилизации структуры нуклеиновых кислот. Хром оказывает действие на процессы кроветворения и обладает способностью активировать трипсин, поскольку входит в состав кристаллического трипсина в виде лабильного соединения, способного отщеплять ионы хрома (4). Хром проникает через кишечную стенку, причем скорость его всасывания возрастает в зависимости от концентрации, при уменьшении размеров частиц и наличии пищеварительных агентов (витамины, фитаты, аминокислоты) (5, 6).

Известно о положительном влиянии хромовых добавок при кормлении молодняка кур (7, 8). Показано (9, 10), что введение в рацион цыплят-бройлеров наночастиц хрома в дозировках 100-200 мкг/кг стимулирует обмен химических элементов. Существует противоположное мнение (11-14) о том, что хром может оказывать отрицательное воздействие на организм. Поскольку реакция на определенное количество тяжелого металла разная, при введении в рацион хрома в дозировках 100 мкг/кг происходит как стимуляция, так и торможение некоторых процессов, которые напрямую зависят от его количества в корме.

В настоящей работе на курах-несушках с дуоденальной фистулой впервые показано, что при введении в рацион микродобавки хрома в пищеварительном тракте кур изменяется активность ферментов, которые по-разному реагируют на присутствие тяжелого металла в неодинаковых по ингредиентному составу кормах. При этом также изменяются биохимические показатели крови: содержание амилазы, трипсина, глюкозы, триглицеридов, общего белка, мочевой кислоты, щелочной фосфатазы.

Целью работы было изучение влияния добавки Cr_2O_3 на пищеварение и биохимию крови кур-несушек при ее вводе в разные по ингредиентному составу корма в микродозах (100 мкг/кг корма).

Методика. Опыты выполняли на 10 курах-несушках (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White 10-12-месячного возраста (ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН, 2018 год). Все манипуляции проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 1986; <https://www.msu.ru/bioetika/doc/konv.doc>). Для получения содержимого 12-перстной кишки птицу оперировали, вживляя канюлю в 12-перстную кишку напротив места впадения панкреатических и желчных протоков. Хирургические операции выполняли с применением седативных и обезболивающих средств. Курицу фиксировали в левом боковом положении в специальном станке.

Разрез делали с правой стороны от последнего ребра по краю бокового отростка грудной кости на 4-5 см. Извлекали 12-перстную кишку, находили место впадения протоков в 12-перстную кишку и напротив него накладывали кисетный шов длиной 0,5-0,6 см. Внутри кисетного шва делали разрез, вставляли канюлю и затягивали кисетный шов. Тщательно обрабатывали участок вокруг вживленной канюли, при необходимости накладывали дополнительный кисетный шов. Кишечник погружали вглубь грудобрюшной полости и зашивали операционную рану узловатыми швами, захватывая все слои. После операции птица в течение 16-18 ч имела доступ к воде, но корм не получала. Через 5-7 сут после хирургической операции, когда здоровье птицы полностью восстанавливалось, приступали к физиологическим опытам.

Физиологический опыт выполняли методом групп-периодов (в каждой группе по 5 гол.), сформированных по принципу аналогов. Опыт включал два периода (по 7-10 сут каждый): в контрольный период птица не получала добавку, в опытный к основному рациону добавляли ультрадисперсный препарат Cr_2O_3 (ООО «Платина», Россия; метод получения — плазмохимический синтез, $d = 91$ нм, удельная поверхность — $9 \text{ м}^2/\text{г}$, Z-потенциал — $93 \pm 0,52$ мВ, содержание Cr_2O_3 — 99,8 %) в дозе 100 мкг/кг. В первой серии опытов в состав основного рациона был включен соевый, во второй — подсолнечный жмых. Для получения достоверных результатов на каждой курице проводили не менее трех опытов по пищеварению в каждый учетный период.

Корм готовили в соответствии с зоотехническими нормами. Птица получала комбикорм по 30 г/гол. утром натощак, остальную часть скармливали в течение дня. Через 1 ч после кормления выполняли сбор дуоденального химуса (5 мл), образцы сразу центрифугировали (5 мин при 5000 об/мин) и разводили охлажденным раствором Рингера (1:10).

Активность амилазы в химусе устанавливали по гидролизу крахмала (15) с использованием фотометра КФК-3 («Загорский оптико-механический завод», Россия) при $\lambda = 670$ нм и выражали в миллиграммах расщепленного крахмала на 1 мл химуса в течение 1 мин. Липолитическую активность измеряли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P с проточной кюветой («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием набора реактивов для липазы (ООО «ДИАКОН-ВЕТ», Россия). Активность протеаз определяли по расщеплению казеина по Гаммерстену («EMD Millipore Corp., Billerica», США) с колориметрическим контролем на КФК-3 при $\lambda = 450$ нм (16).

Кровь для исследований получали натощак из подкрыльцовой вены, добавляли цитрат натрия и центрифугировали 3 мин при 5000 об/мин. Плазму крови исследовали на активность амилазы и липазы на приборе Chem well 2900 (Т) («Awareness Technology», США) с использованием соответствующих наборов реагентов («Human GmbH», Германия). Активность трипсина (17) определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай).

Биохимические исследования крови выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P с проточной кюветой («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием набора реактивов (ООО «ДИАКОН-ВЕТ», Россия).

Условия содержания и кормления кур в период экспериментов соответствовали нормам ВНИТИП (Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы. Сергиев Посад, 2014). Корма были приготовлены на основе пшеницы и ячменя. Корм № 1 содержал

19,4 % соевого жмыха, корм № 2 — 21,4 % подсолнечного жмыха. Количество обменной энергии в кормах было одинаковым (265 ккал/100 г). Корм на основе подсолнечного жмыха содержал на 2,11 % больше сырой клетчатки и на 1,07 % — сырого жира.

Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение JMP Trial 14.1.0 («SAS», США) https://www.jmp.com/en_nl/offers/free-trial.html), с помощью которого рассчитывали среднее значение (M), стандартную ошибку среднего ($\pm SEM$) и корреляцию (r), определяли достоверность различий по t -критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Известно, что панкреатические ферменты адаптируются к качеству поступающего в организм корма (18). В наших опытах при замене в рационе кур-несушек соевого жмыха на подсолнечный наблюдалось изменение активности пищеварительных ферментов в дуоденальном химусе (табл. 1).

1. Активность пищеварительных ферментов в дуоденальном содержимом у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr_2O_3 на фоне различных по ингредиентному составу кормов ($M \pm SEM$, $n = 5$)

Показатель	Корм № 1		Корм № 2	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Амилаза, мг · мл ⁻¹ · мин ⁻¹	1426 ± 144,8	1086 ± 70,0	666 ± 147,6	1747 ± 187,3*
Липаза, Ед/л	3231 ± 484,0	1762 ± 187,6*	2669 ± 144,5	4573 ± 644,5*
Протеазы, мг · мл ⁻¹ · мин ⁻¹	66 ± 6,0	65 ± 3,6	65 ± 4,3	80 ± 8,0*

Примечание. Описание групп и кормов см. в разделе «Методика».

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

Активность амилазы при замене в рационе соевого жмыха на подсолнечный уменьшалась на 53,3 % ($p < 0,05$). При этом активность липазы и общих протеаз оставалась без изменений. Микродобавка хрома, введенная в рацион на фоне соевого жмыха, уменьшала активность амилазы на 24,0 %, липазы — на 45,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (корм № 1). Добавка к корму хрома на фоне подсолнечного жмыха (корм № 2) приводила к повышению активности амилазы на 162,3 % ($p < 0,05$), липазы — на 71,4 % ($p < 0,05$), протеаз — на 23,1 % ($p < 0,05$). Следовательно, микродобавка хрома на фоне низкой ферментативной активности в кишечнике выступала стимулятором секреторной функции поджелудочной железы, а на фоне высокой — ингибировала активность липазы.

Адаптация пищеварительных ферментов к ингредиентам корма и микроэлементам отражалась на переваримости питательных веществ (табл. 2).

2. Переваримость питательных веществ у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr_2O_3 на фоне различных по ингредиентному составу кормов ($M \pm SEM$, $n = 5$)

Переваримость, %	Корм № 1		Корм № 2	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Протеин	91,5 ± 0,25	92,1 ± 0,46	89,9 ± 0,33*	90,7 ± 0,25
Клетчатка	33,3 ± 2,40	31,6 ± 2,04	20,9 ± 2,10*	23,1 ± 1,78
Жир	91,2 ± 0,38	90,4 ± 0,34	93,4 ± 3,10	91,3 ± 0,47

Примечание. Описание групп и кормов см. в разделе «Методика».

* Различия между контролями статистически значимы при $p < 0,05$.

Переваримость протеина при замене соевого жмыха на подсолнечный (контрольные периоды) снижалась на 1,5 % ($p < 0,05$). Количество лизина, выделяемого с пометом птицы в контроле (корм № 2), превышало аналогичный показатель для корма № 1 на 25,0 % ($p < 0,05$), содержание метионина в контрольные периоды существенно не изменялось и составля-

ло $0,001 \pm 0,0002$ г. Сырая клетчатка в корме, содержащем соевый жмых, переваривалась на 12,4 % лучше ($p < 0,05$) по сравнению с подсолнечным. Следовательно, на фоне более высокой активности пищеварительных ферментов переваримость протеина и клетчатки для соевого жмыха была выше, чем для подсолнечного. Введение в рацион наночастиц хрома не оказывало существенного влияния на переваримость питательных веществ при использовании разных белковых ингредиентов в корме.

3. Биохимические показатели плазмы крови у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr₂O₃ на фоне различных по ингредиентному составу кормов ($M \pm SEM$, $n = 5$)

Показатель	Корм № 1		Корм № 2	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Амилаза, Ед/л	288±18,8	397±32,7*	271±25,0	407±35,2*
Липаза, Ед/л	58±2,8	62±7,5	61±3,0	63±0,2
Трипсин, Ед/л	202±43,7	154±16,8	95±37,9	135±53,6
Глюкоза, ммоль/л	11,3±0,40	8,3±0,51*	12,0±0,33	9,9±0,42*
Щелочная фосфатаза, Ед/л	1155±161,3	853±97,3	1293±68,8	1635±185,6
Общий белок, г/л	41,9±1,91	33,0±1,12*	42,4±1,71	38,7±2,30
Триглицериды, ммоль/л	1,8±0,30	1,4±0,21	3,6±0,40	4,3±0,40
Мочевая кислота, ммоль/л	245±34,7	182±19,1	233±21,1	180±16,2
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	7,7±0,91	5,4±0,53*	7,9±0,54	7,5±0,91
Аспартагатаминотрансфераза, Ед/л	197,2±8,81	118,3±16,63*	211,2±6,65	190,2±11,21

Примечание. Описание групп и кормов см. в разделе «Методика».

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

Полученные нами ранее данные свидетельствуют об изменении активности пищеварительных ферментов в плазме крови у мясных кур при включении в рацион различных биопрепаратов (19). В этих опытах биохимические показатели крови у птицы не имели существенных различий при использовании неодинаковых по ингредиентному составу кормов. Исключением были триглицериды, количество которых оказалось в 2 раза выше в варианте с кормом № 2 по сравнению с кормом № 1 (табл. 3), что указывает на лучшее усвоение жира при одинаковой активности липазы в дуоденальном содержимом. При добавлении хрома на фоне соевой белковой добавки наблюдалось увеличение активности амилазы в плазме крови на 37,8 % ($p < 0,05$), остальные показатели имели тенденцию к снижению по сравнению с контролем: по трипсину — на 23,8 % ($p < 0,05$), глюкозе — на 26,3 % ($p < 0,05$), щелочной фосфатазе — на 26,1 % ($p < 0,05$), общему белку — на 21,4 % ($p < 0,05$), триглицеридам — на 22,2 % ($p < 0,05$), мочевой кислоте — на 25,7 % ($p < 0,05$), аланинаминотрансферазе (АлАТ) — на 29,9 % ($p < 0,05$), аспартагатаминотрансферазе (АсАТ) — на 40,1 % ($p < 0,05$). При использовании микродобавки хрома на фоне рациона с подсолнечным жмыхом активность амилазы увеличивалась на 50,1 % при одновременном снижении глюкозы на 17,2 % ($p < 0,05$).

Мы установили зависимость между активностью амилазы в дуоденальном химусе и содержанием глюкозы: чем выше активность фермента, тем меньше глюкозы содержалось в крови (рис. 1). Если корреляция в контроле не была достоверной, то в опыте коэффициент корреляции между активностью амилазы в дуоденальном химусе и содержанием глюкозы в крови оставался устойчиво отрицательным: в варианте с кормом № 1 $r = -0,72$ ($p < 0,05$), с кормом № 2 — $r = -0,45$. Это позволяет заключить, что хром существенно влияет на углеводный обмен благодаря лучшему использованию глюкозы организмом. Известно, что хром регулирует гомеостаз глюкозы, активируя рецепторы инсулина, тем самым усиливая передачу сигнала и увеличивая чувствительность к инсулину (20-22).

Триглицериды — это сложные эфиры, которые служат основными составляющими жира у всех живых организмов. Попадая в кишечник вме-

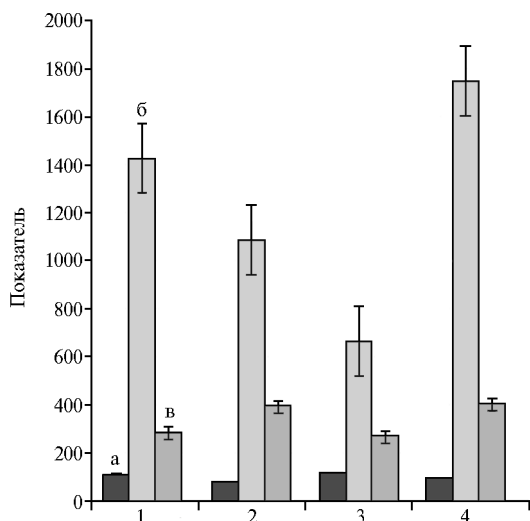


Рис. 1. Содержание глюкозы (ммоль/л) (а) и активность амилазы в плазме крови (Ед/л) (в), активность амилазы и дуоденальном содержимом ($\text{мг} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) (б) у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr_2O_3 на фоне различных по ингредиентному составу кормов: 1 — контроль (корм № 1), 2 — опыт (корм № 1), 3 — контроль (корм № 2), 4 — опыт (корм № 2). Описание групп и кормов см. в разделе «Методика». Показатели содержания глюкозы увеличены в 10 раз.

эти процессы, улучшая усвоение жиров организмом.

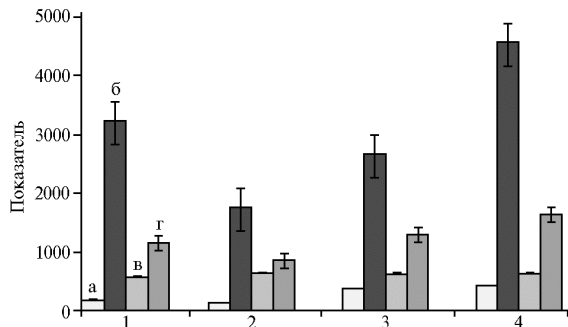


Рис. 2. Содержание триглицеридов (ммоль/л) (а), активность липазы (Ед/л) (в) и щелочной фосфатазы (Ед/л) (г) в плазме крови, активность липазы в дуоденальном содержимом (Ед/л) (б) у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr_2O_3 на фоне различных по ингредиентному составу кормов: 1 — контроль (корм № 1), 2 — опыт (корм № 1), 3 — контроль (корм № 2), 4 — опыт (корм № 2). Описание групп и кормов см. в разделе «Методика». Показатели содержания триглицеридов увеличены в 100 раз, липазы в крови — в 10 раз.

крови в основном представлены альбуминами, которые обеспечивают поддержание онкотического давления крови. В нашем опыте уменьшение содержания общего белка в пределах физиологической нормы было связано с введением в корм микродобавки хрома (рис. 3). Одновременно с этим

сте с пищей, триглицериды подвергаются расщеплению липазой желудочного сока и поджелудочной железы на глицерин и жирные кислоты (23), однако вопросы жирового обмена в организме птицы до конца не изучены (24). По нашим данным, при увеличении активности липазы в химусе повышалось количество триглицеридов в плазме крови (рис. 2).

Величина липазно-жирового соотношения в плазме крови при использовании в рационе кур-несушек корма с соевой добавкой почти в 2 раза превышала показатели контроля с добавкой подсолнечного жмыха. Прямая зависимость наблюдалась между активностью липазы в дуоденальном химусе и триглицеридами, то есть чем лучше проходил гидролиз жиров в кишечнике, тем больше липидов поступало в кровь (коэффициент корреляции r колебался от 0,42 до 0,63; $p < 0,05$). Микродобавка хрома усиливала

Активность щелочной фосфатазы, которая секретируется в печени, зависит от содержания липазы в дуоденальном химусе (25). Мы обнаружили зависимость между активностью липазы в дуоденальном содержимом и активностью щелочной фосфатазы в плазме крови (см. рис. 2). Обратная связь между этими показателями в некоторых случаях оказалась сильной (значение $r = -0,90$, $p < 0,05$).

Общий белок в плазме крови — это относительно стабильный показатель у здоровых животных, его колебания могут быть связаны с низким содержанием протеина в корме или с заболеванием. Белки

изменялось количество мочевой кислоты в крови и активность АлАТ, что указывает на нормализацию функции печени и поджелудочной железы (26).

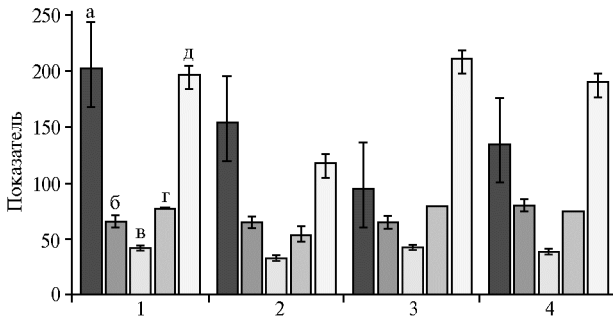


Рис. 3. Активность трипсина (Ед/л) (а), содержание общего белка (г/л) (б), активность аланинаминотрансферазы (Ед/л) (г), аспартатаминотрансферазы (Ед/л) (д) в крови и активностью протеаз (мг · мл⁻¹ · мин⁻¹) (б) в дуоденальном содержимом у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) кросса Hisex White при введении в рацион наночастиц оксида хрома Cr₂O₃ на фоне различных по ингредиентному составу кормов: 1 — контроль (корм № 1), 2 — опыт (корм № 1), 3 — контроль (корм № 2), 4 — опыт (корм № 2). Описание групп и кормов см. в разделе «Методика». Показатели содержания аланинаминотрансферазы увеличены в 10 раз.

Анализ содержания ферментов в крови широко используется в медицине для оценки состояния сердца и печени. Фернандо Де Ритис (Fernando De Ritis) в 1957 году установил, что важное значение имеет не только собственно активность АлАТ и АсАТ в сыворотке крови, но и их соотношение (коэффициент де Ритиса). Колебания этого показателя у человека находятся в диапазоне от 1 до 2. У подопытных кур его значение было чрезвычайно высоким — 21,8-26,7. Возможно, следует отказаться

от расчета коэффициента де Ритиса для кур, но отметим, что выполненный нами корреляционный анализ показал прямую и достаточно устойчивую связь между АсАТ и АлАТ, для которой величина r достигала 0,98 ($p < 0,05$). При добавлении наночастиц оксида хрома коэффициент де Ритиса незначительно снижался в опытных группах по сравнению с контролем. В отличие от тканевых, панкреатические ферменты гидролизуют белки, жиры и углеводы в желудочно-кишечном тракте до мономеров, а затем поступают в кровь, где участвуют в регуляции метаболизма. Из литературы известно (27), что существует прямая зависимость между активностью трипсина в крови и количеством глюкозы: чем больше трипсина в крови, тем выше содержание глюкозы. Эта закономерность была подтверждена нами в исследованиях на птице в постпрандиальный период (28).

Наши экспериментальные данные также согласуются с результатами исследований (1, 2), в которых показано, что хром регулирует гомеостаз глюкозы в крови, активируя рецепторы инсулина и тем самым, как уже отмечалось, модулирует сигнальную трансдукцию и повышает чувствительность к инсулину (29, 30). Что касается липидного обмена, то мы, в отличие от А.А. Оганяна с соавт. (3), не обнаружили достоверного влияния микродобавки хрома на концентрацию триглицеридов в крови. Однако нами установлено, что микродобавка хрома при низкой ферментативной активности в кишечнике выступает стимулятором активности дуоденальных ферментов, а при высокой — ингибирует активность липазы. Следовательно, есть основания полагать, что при низкой ферментативной активности добавка хрома оказывает положительное влияние на липидный обмен. В белковом обмене при добавлении в корм Cr₂O₃ мы отметили некоторые изменения: общий белок снижался в пределах физиологической нормы (на 24,1 %) при содержании кур на рационе с добавкой соевого жмыха, активность протеаз увеличивалась на 23,1 % при использовании в рацион подсолнечного жмыха, но при этом переваримость сырого протеина существенно не изменялась.

В опытах на крысах (31) сравнительный анализ использования раз-

ных форм хрома в рационе показал, что активность амилазы в поджелудочной железе увеличивается при дозе наночастиц оксида хрома 300 мкг/кг. Включение пиколината хрома (CrPic) в аналогичной дозировке в корм крыс стимулирует активность липазы и протеазы. Увеличенная доза (500 мкг/кг) CrCl₃ и CrPic уменьшает активность липазы в 12-перстной кишке и снижает активность амилазы и липазы в плазме крови, что свидетельствует о депрессирующем влиянии высоких доз хрома на энтеропанкреатическую циркуляцию пищеварительных ферментов и нарушении обмена Mg и Fe в крови. Количество триглицеридов снижается при максимальных дозах хрома в форме хлорида и пиколината, что подтверждает их участие в липидном обмене. Кроме того, на крысах установлено значительное увеличение частоты повреждений ДНК в лейкоцитах периферической крови и печени после воздействия оксида хрома в дозах 300 и 1000 мг/кг (32).

Результаты, полученные нами на курах, согласуются с описанием действия оксида хрома в форме наночастиц на крыс. Преимущество наших экспериментов состоит в том, что мы впервые изучили влияние оксида хрома в опытах *in vivo* на канюлированных курах на фоне разных белковых добавок.

Таким образом, у кур-несушек кросса Hiseх White микродобавка хрома на фоне разных белковых компонентов рациона оказывает неоднозначное действие. В опытный период, независимо от рациона, при введении добавки оксида хрома отмечается повышение активности амилазы в крови на 37,8-50,2 % ($p < 0,05$), при этом содержание глюкозы в базальный период снижается на 26,6-17,5 % ($p < 0,05$), что свидетельствует об улучшении усвоения глюкозы. Установлена связь между активностью амилазы в дуоденальном содержимом и количеством глюкозы в крови: коэффициенты корреляции в опытный период на разных рационах — $-0,72$ ($p < 0,05$) и $-0,45$. При содержании птицы на пшеничном рационе с добавкой соевого жмыха введение оксида хрома способствует снижению активности липазы в содержимом кишечника, при этом биохимические показатели крови кур-несушек уменьшаются на 22-40 % ($p < 0,05$) в пределах физиологической нормы. Введение оксида хрома на фоне подсолнечного жмыха способствует повышению активности амилазы, липазы и протеаз в дуоденуме, что связано, по-видимому, с содержанием антипитательных веществ в подсолнечном жмыхе. Это указывает на роль базового рациона в действии оксида хрома на организм птицы.

ФНИЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН,
141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад,
ул. Птицеградская, 10,
e-mail: Vertiprakhov63@mail.ru ✉, olga@vnitip.ru,
Alena_fisinina@mail.ru, irina.kislova1606198@yandex.ru, vlk.733@mail.ru

*Поступила в редакцию
4 апреля 2019 года*

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2019, V. 54, № 4, pp. 810-819

THE EFFECTS OF CHROMIUM MICROADDITIVE IN DIFFERENT DIETS FOR LAYING HENS (*Gallus gallus* L.) ON THE INTESTINAL DIGESTION AND CERTAIN BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS

V.I. Fisinin, V.G. Vertiprakhov, A.A. Grozina, I.V. Kislova, M.V. Kosheyeva

Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail Vertiprakhov63@mail.ru (✉ corresponding author), olga@vnitip.ru, Alena_fisinina@mail.ru, irina.kislova1606198@yandex.ru, vlk.733@mail.ru

ORCID:

Fisinin V.I. orcid.org/0000-0003-0081-6336

Kosheyeva M.V. orcid.org/0000-0002-0744-1883

Vertiprakhov V.G. orcid.org/0000-0002-3240-7636

Kislova I.V. orcid.org/0000-0001-6399-6886

Grozina A.A. orcid.org/0000-0001-9654-7710

The authors declare no conflict of interests

Abstract

Chromium (Cr) is a biogenic element necessary for normal growth and development in animals and poultry. Cr regulates the synthesis of fats, carbohydrate exchange, and circulatory glucose concentration. Cr additives in the diets were reported to affect growth efficiency positively in broiler chicks (I.Z. Gubaydulina et al., 2018); supplementation of diets with Cr nanoparticles (100-200 ppb) stimulated mineral exchange in broilers. With the lack of the research related to the effects of Cr microadditives on the digestion in animals and the absence of the studies on animals with chronic intestinal fistulae, the aim of our study was to investigate the effects of Cr microadditive (100 ppb) as nanoparticles in different wheat-based diets for laying hens (with soybean cake or sunflower cake as main protein sources) on the intestinal digestion and certain biochemical blood parameters. The trial was performed on Hisex White chicken (*Gallus gallus* L.) (10-12 months of age, 5 birds per treatment, diet shifts in 7-10 day periods) with chronic duodenal fistulae. Cr (III) oxide (99.8 %) nanoparticles (d = 91 nm, specific surface area 9 m²/g, Z-potential 93±0.52 mV) (Platina LLC, Moscow, Russia) were produced by plasmochemical synthesis. The activities of amylase, lipase and total proteases were determined in the duodenal digesta sampled in 1 hour after the feeding. The blood was sampled from the axillary vein in the morning from starved birds and centrifuged with sodium citrate to obtain serum. The activities of trypsin and alkaline phosphatase, concentrations of glucose, total protein, triglycerides, uric acid, alanine and aspartic acid transaminases in serum were determined using semiautomatic flow biochemical analyzer BS-3000P (SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd, China). The activities of amylase and lipase in serum were determined using analyzer Chem Well 2900 (T) (Awareness Technology, USA) and reagent kits (Human GmbH, Germany). Cr microadditive was found to produce different effects within different diets. The digestibility of protein and fiber from the diets with sunflower cake tended to be higher in compare to soybean cake. When the birds were fed Cr-supplemented diets the serum amylase activity increased by 37.8-50.2 % irrespective of the diet, with simultaneous reduction in serum glucose concentration by 26.6-17.5 % evidencing the improvement in glucose assimilation. The latter is in agreement with the negative correlation between the activity of amylase in the duodenal digesta and serum glucose concentration ($r = -0.72$ and -0.45 for different diets, $p < 0.05$). The supplementation of soybean-based diet with Cr decreased the duodenal activity of lipase with simultaneous reduction in certain biochemical blood parameters by 22-40 %; however, these parameters remained within the physiologically normal ranges. The supplementation of sunflower-containing diet with Cr increased duodenal activities of amylase, lipase, and total proteases; it is probably related to the presence of antinutritive factors in sunflower cake. These results lead to the conclusion that the effects of Cr oxide nanoparticles depend on the composition of basic diet; this fact one should take into account in practice of poultry nutrition.

Keywords: *Gallus gallus* L., laying hens, duodenal digesta, activities of digestive enzymes, digestive enzymes in blood serum, chromium (III) oxide.

REFERENCES

1. Kargar S., Mousavi F., Karimi-Dehkordi S., Ghaffari M.H. Growth performance, feeding behavior, health status, and blood metabolites of environmentally heat-loaded Holstein dairy calves fed diets supplemented with chromium. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(11): 9876-9887 (doi: 10.3168/jds.2017-14154).
2. Yudina T.A., Seryakov I.S. *Zhivotnovodstvo i veterinarnaya meditsina*, 2013, 2: 9-14 (in Russ.).
3. Oganyan A.A., Neelova O.V. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2011, 8: 227-229 (in Russ.).
4. Wang M.Q., Xu Z.R., Zha L.Y., Lindemann M.D. Effects of chromium nanocomposite supplementation on blood metabolites, endocrine parameters and immune traits in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 139(1-2): 69-80 (doi: 10.1016/j.anifeeds.2006.12.004).
5. Wei X., Hu L.L., Chen M.L., Yang T., Wang J.H. Analysis of the distribution pattern of chromium species in single cells. *Anal. Chem.*, 2016, 88(24): 12437-12444 (doi: 10.1021/acs.analchem.6b03810).
6. Kononskii A.I. *Biokhimiya zhivotnykh* [Animal biochemistry]. Moscow, 1992 (in Russ.).
7. Prostokishin A.S., Babukhadiya K.R., Nimaeva V.Ts., Krasnovskii K.A., Gornaya E.N. *Zootekhnika*, 2014, 4: 16-17 (in Russ.).
8. Gubaidulina I.Z., Gavrish I.A., Markova I.V., Mustafina A.S. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2018, 6: 263-265 (in Russ.).
9. Tahami Z., Hosseini S.M., Bashtani M. Effect of organic acids supplementation on some gastrointestinal tract characteristics and small intestine morphology of broiler chickens. *Animal Production Research*, 2014, 3(3): Pe1-Pe9.
10. Anderson R.A. Chromium and insulin resistance. *Nutrition Research Reviews*, 2003, 16(2): 267-275 (doi: 10.1079/NRR200366).

11. Saeed A.A., Sandhu M.A., Khilji M.S., Yousaf M.S., Rehman H.U., Tanvir Z.I., Ahmad T. Effects of dietary chromium supplementation on muscle and bone mineral interaction in broiler chicken. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2017, 42: 25-29 (doi: 10.1016/j.jtemb.2017.03.007).
12. Piotrowska A., Pilch W., Tota L., Nowak G. Biological significance of chromium III for the human organism. *Medycyna Pracy*, 2018, 69(2): 211-223 (doi: 10.13075/mp.5893.00625).
13. Rao S.V., Prakash B., Raju M.V., Panda A.K., Kumari R.K., Reddy E.P. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in tropical summer. *Biological Trace Element Research*, 2016, 172(2): 511-520 (doi: 10.1007/s12011-015-0587-x).
14. White P.E., Vincent J.B. Systematic review of the effects of chromium(III) on chickens. *Biological Trace Element Research*, 2019, 188(1): 99-126 (doi: 10.1007/s12011-018-1575-8).
15. Merina-Gluzkina V.M. *Laboratornoe delo*, 1965, 3: 142-146 (in Russ.).
16. Batoev Ts.Zh. *Sbornik nauchnykh trudov Buryatckogo SKHI (Ulan-Ude)*, 1971, 25: 122-126 (in Russ.).
17. Vertiprakhov V.G., Grozina A.A. *Veterinariya*, 2018, 12: 51-54 (doi: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54) (in Russ.).
18. Batoev Ts.Zh. *Fiziologiya pishchevareniya ptits* [Physiology of digestion in birds]. Ulan-Ude, 2001 (in Russ.).
19. Fisinin V.I., Egorov I.A., Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Egorova T.A. Activity of digestive enzymes in duodenal chymus and blood in broilers of parental lines and the meat cross depending on dietary bioactive additives. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2017, 52(6): 1226-1233 (doi: 10.15389/agrobiology.2017.6.1226eng).
20. Liu L., Zhang S.W., Lu J., Pang X.Y., Lv J.P. Antidiabetic effect of high-chromium yeast against type 2 diabetic kk-ay mice. *Journal of Food Science*, 2018, 83(7): 1956-1963 (doi: 10.1111/1750-3841.14138).
21. Egorov I.A., Petrosyan A., Andrianova E.N. *Pitsevodstvo*, 2011, 12: 3-5 (in Russ.).
22. Nikulin V.N., Skitsko E.R. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2017, 3: 167-169 (in Russ.).
23. Titov V.N., Tvorogova M.G. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 1992, 9-10: 5-11 (in Russ.).
24. Serr J., Suh Y., Lee K. Regulation of adipose triglyceride lipase by fasting and refeeding in avian species. *Poultry Science*, 2009, 88(12): 2585-2591 (doi: 10.3382/ps.2009-00265).
25. Mozheiko L.A. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2016, 3: 18-23 (in Russ.).
26. Wang C., Chen Z., Pan Y., Gao X., Chen H. Anti-diabetic effects of *Inonotus obliquus* polysaccharides-chromium (III) complex in type 2 diabetic mice and its sub-acute toxicity evaluation in normal mice. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 108(part B): 498-509 (doi: 10.1016/j.fct.2017.01.007).
27. Tsuda Y., Iwasawa K., Yokoyama M., Yamaguchi M. Trypsin-treated β -lactoglobulin improves glucose tolerance in c57BL/6 mice by enhancing AMPK activation and glucose uptake in hepatocytes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2017, 40(11): 1917-1922 (doi: 10.1248/bpb.b17-00437).
28. Fisinin V.I., Vertiprakhov V.G., Grozina A.A. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*, 2018, 1: 49-53 (in Russ.).
29. Turgut M., Cinar V., Pala R., Tuzcu M., Orhan C., Telceken H., Sahin N., Deeh P.B.D., Komorowski J.R., Sahin K. Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2018, 15(1): 45 (doi: 10.1186/s12970-018-0249-4).
30. Ngala R.A., Awe M.A., Nsiah P. The effects of plasma chromium on lipid profile, glucose metabolism and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. A case – control study. *PLoS ONE*, 2018, 13(7): e019797 (doi: 10.1371/journal.pone.0197977).
31. Lebedev S.V., Gavrish I.A., Gubaidullina I.Z. Different chrome sources influence on morpho-biochemical indicators and activity of digestive enzymes in Wistar rats. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(2): 304-315 (doi: 10.15389/agrobiology.2019.2.304eng).
32. Singh S.P., Chinde S., Kamal S.S., Rahman M.F., Mahboob M., Grover P. Genotoxic effects of chromium oxide nanoparticles and microparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(4): 3914-3924 (doi: 10.1007/s11356-015-5622-0).