МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

**ШАТАЛОВ СЕРГІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ**

УДК 636.5:612.3:591.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**

# ПОКАЗНИКИ БАР'ЄРНОЇ ФУНКЦІЇ КИШЕЧНИКА ТА МЕТАБОЛІЗМУ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ВПЛИВУ СУМІШІ ГЛІЦЕРИДІВ ЖИРНИХ КИСЛОТ

211 «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело С.А. Шаталов

науковий керівник:
**Нездвецький Віктор Станіславович**,
доктор ветеринарних наук, професор

Дніпро – 2026

# АНОТАЦІЯ

*Шаталов С. А.* «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів». Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина». Дніпровський державний аграрно-економічний університет. Дніпро, 2026.

Дисертацію присвячено комплексному дослідженню впливу суміші гліцеридів жирних кислот (GFA-B) на бар'єрну функцію кишечника, стан кишкового мікробіому, імунну реактивність, метаболічні процеси та продуктивність курчат-бройлерів у постнатальному онтогенезі з урахуванням молекулярних, клітинних і системних механізмів регуляції.

У дисертації відповідно до поставленої мети наведено теоретичне узагальнення та запропоновано нове вирішення наукової задачі, що полягає у встановленні механізмів впливу GFA-B на інтеграцію бар'єрної функції кишечника, імунозапальної відповіді, мікробіомної організації та метаболічної адаптації організму курчат-бройлерів. Показано, що ефекти GFA-B мають системний характер і реалізуються через координовану перебудову структурно-функціональних взаємозв'язків між епітелієм кишечника, мікробіотою та імунною системою.

Встановлено, що у порожній кишці GFA-B спричиняє виражену віковозалежну модуляцію маркерів бар'єрної функції, яка характеризується хвилеподібною динамікою експресії мРНК E-cadherin і Occludin з транзиторною активацією на 3-му тижні життя та стійким підвищенням вмісту відповідних білків упродовж 3–6 тижнів. Вміст білка E-cadherin перевищував контроль на 27,2–37,1% ($p<0,001$), а Occludin – на 16,3–35,2% ($p<0,001$), що свідчить про посилення міжклітинної адгезії, стабілізацію tight junction-комплексів та підвищення структурної цілісності епітеліального бар'єра.

Показано, що GFA-B модулює імунозапальні процеси у порожній кишці, що проявляється стійким зниженням білкового рівня TNF-α на 16,7–39,1% ($p<0,001$) та підвищенням IFN-γ на 26,8–89,1% ($p<0,001$), що відображає перехід до контрольованої імунної реактивності без надмірної прозапальної активації. Виявлено часткову невідповідність між рівнями мРНК і білків для досліджених маркерів, що свідчить про значну роль посттранскрипційних механізмів регуляції та складність реалізації сигнальних шляхів у кишечнику.

У сліпій кишці GFA-B зумовлює фазну індукцію експресії Occludin із піками на 2-му та 5-му тижнях життя та стабільне підвищення його білкового рівня на 16,3–30,9% ($p<0,001$), що вказує на зміцнення бар'єрної функції в умовах високої мікробної щільності. Водночас відзначається дисоціація між рівнем експресії TNF-α та його вмісту у клітинах кишечника, який був нижчим за контроль на 24,8–35,4% ($p<0,001$), що підтверджує участь посттранскрипційних механізмів і вплив локального мікросередовища на регуляцію імунної відповіді.

Кореляційний аналіз показав, що у контрольній групі взаємозв'язки між показниками мають обмежений характер, тоді як за дії GFA-B формується щільна система позитивних кореляцій між білками E-cadherin, Occludin, TNF-α та IFN-γ ($r = 0,82–1,00$), що свідчить про інтеграцію бар'єрних та імунозапальних процесів на рівні функціональних взаємодій.

Доведено, що інтегральні індекси (BII, IAI, FIBS, BIBI) мають високу діагностичну інформативність, оскільки відображають узагальнений функціональний стан системи «бар'єр–запалення». За дії GFA-B відбувається суттєве зміщення цього балансу у бік бар'єрної домінанти, що проявляється підвищенням BII у 4,2–11,4 раза ($p<0,001$), зниженням IAI на 57,5–94,3% ($p<0,001$) та переходом FIBS і BIBI у стабільно позитивні значення, що характеризує функціональну стабілізацію кишечника.

Показано, що GFA-B сприяє достовірному підвищенню альфа-різноманіття мікробіому ($p = 0,01$) та істотній перебудові його структури, що

підтверджується чітким розмежуванням груп за результатами PCoA (PC1 = 60,7 %, PC2 = 29,3 %) і PERMANOVA (p = 0,01). Виявлено зниження частки потенційно патогенних і патобіонтних бактерій, зокрема Escherichia coli на 8,34 % (p<0,01), *Proteus mirabilis* на 1,296 % (p<0,01) та *Helicobacter pullorum* на 0,49 % (p<0,01). Одночасно виявлено підвищення відносної абундансності низки облігатно анаеробних і сахаролітичних бактерій, зокрема *Papillibacter cinnamivorans*, *Pseudoflavonifractor phocaeensis*, *Fournierella massiliensis*, *Neglecta timonensis* та *Blautia hansenii*, що свідчить про нормалізуючий вплив GFA-B на мікробну екосистему кишечника.

GFA-B сприяє збагаченню мікробіому кишечника курчат-бройлерів ключовими бутират-продукуючими таксонами, а саме *Faecalibacterium prausnitzii*, *Fusicatenibacter saccharivorans*, *Butyricicoccus pullicaecorum* та *Blautia producta*, що вказує на посилення функціонального потенціалу мікробіому щодо синтезу коротколанцюгових жирних кислот. Сукупність цих змін свідчить про формування більш метаболічно зрілої, стабільної та функціонально сприятливої мікробної екосистеми кишечника за дії GFA-B.

Встановлено, що застосування GFA-B не порушує фізіологічної вікової динаміки гематологічних показників, але супроводжується помірним посиленням киснево-транспортної функції крові, а також активацією клітинної і тромбоцитарної ланок імунітету, що відображає підвищення адаптивного потенціалу організму.

Показано, що GFA-B модулює білковий, азотистий та ферментний обмін у критичні періоди росту (4–6 тижнів життя), що проявляється фазними змінами вмісту білкових фракцій, сечової кислоти, креатиніну та активності ферментів (ALT, AST, ALP) без порушення основних показників енергетичного та мінерального обміну. Це свідчить про адаптивний характер метаболічної відповіді та збереження загального гомеостазу.

У виробничих умовах застосування GFA-B супроводжується підвищенням збереженості поголів’я, покращенням ефективності використання корму та збільшенням середньодобового приросту, що

підтверджує його практичну ефективність як засобу оптимізації продуктивності курчат-бройлерів.

Таким чином, GFA-B забезпечує системну оптимізацію функціонального стану кишечника курчат-бройлерів, що проявляється зміцненням бар'єрної функції, регуляцією імунної відповіді, нормалізацією мікробіому та підвищенням продуктивності на тлі збереження метаболічного гомеостазу, що обґрунтовує його застосування як ефективного інструменту у сучасному птахівництві.

**Ключові слова:** GFA-B, мікробіом, бар'єрна функція кишечника, курчата-бройлери, імунна реактивність, гліцериди жирних кислот, метаболізм, продуктивність.

# ANNOTATION

*Shatalov S. A.* “Determination of molecular markers of structural and functional impairments in the intestinal system of broiler chickens”. Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 211 “Veterinary Medicine”. Dnipro State Agrarian and Economic University. Dnipro, 2026.

The dissertation is devoted to a comprehensive study of the effects of a fatty acid glycerides blend (GFA-B) on intestinal barrier function, the gut microbiome, immune reactivity, metabolic processes, and the performance of broiler chickens in postnatal ontogenesis, with consideration of molecular, cellular, and systemic regulatory mechanisms.

In accordance with the research objective, the dissertation presents a theoretical generalization and proposes a novel solution to a scientific problem, which consists in elucidating the mechanisms by which GFA-B influences the integration of intestinal barrier function, immune-inflammatory responses, microbiome organization, and metabolic adaptation in broiler chickens. It is demonstrated that the effects of GFA-B are systemic and are realized through coordinated restructuring of structural and functional interactions between the intestinal epithelium, microbiota, and immune system.

It was established that in the jejunum, GFA-B induces pronounced age-dependent modulation of barrier function markers, characterized by wave-like dynamics of E-cadherin and Occludin mRNA expression with transient activation at week 3 of life and sustained elevation of the corresponding protein levels during weeks 3–6. The protein level of E-cadherin exceeded control values by 27.2–37.1% ($p<0.001$), and Occludin by 16.3–35.2% ($p<0.001$), indicating enhanced intercellular adhesion, stabilization of tight junction complexes, and improved structural integrity of the epithelial barrier.

GFA-B was shown to modulate immune-inflammatory processes in the jejunum, as evidenced by a consistent decrease in TNF-α protein levels by 16.7–

39.1% ($p<0.001$) and an increase in IFN-γ by 26.8–89.1% ($p<0.001$), reflecting a shift toward controlled immune reactivity without excessive pro-inflammatory activation. A partial mismatch between mRNA and protein levels was observed, indicating the important role of post-transcriptional regulatory mechanisms.

In the cecum, GFA-B induces phase-dependent activation of Occludin expression with peaks at weeks 2 and 5, along with sustained elevation of its protein level by 16.3–30.9% ($p<0.001$), indicating strengthening of the epithelial barrier under conditions of high microbial density. At the same time, a dissociation between TNF-α transcriptional activity and its protein level was observed, the latter remaining lower than control by 24.8–35.4% ($p<0.001$), confirming the involvement of post-transcriptional regulation and local microenvironmental factors.

Correlation analysis demonstrated that in the control group, relationships between parameters were limited, whereas under GFA-B administration, a dense network of positive correlations was formed between E-cadherin, Occludin, TNF-α, and IFN-γ proteins ($r = 0.82–1.00$), indicating functional integration of barrier and immune-inflammatory processes.

It was proven that integral indices (BII, IAI, FIBS, BIBI) possess high diagnostic informativeness as they reflect the overall functional state of the “barrier–inflammation” system. Under GFA-B action, a significant shift toward barrier dominance was observed, manifested by a 4.2–11.4-fold increase in BII ($p<0.001$), a decrease in IAI by 57.5–94.3% ($p<0.001$), and stabilization of FIBS and BIBI in the positive range, indicating functional stabilization of the intestine.

GFA-B was shown to significantly increase alpha diversity of the gut microbiome ($p = 0.01$) and induce substantial restructuring of its composition, confirmed by clear group separation in PCoA (PC1 = 60.7%, PC2 = 29.3%) and PERMANOVA ($p = 0.01$). A decrease in the relative abundance of potentially pathogenic bacteria, including Escherichia coli, Proteus mirabilis, and Helicobacter pullorum, was observed, alongside an increase in obligate anaerobic and saccharolytic taxa such as Papillibacter cinnamivorans, Pseudoflavonifractor

phocaeensis, Fournierella massiliensis, Neglecta timonensis, and Blautia hansenii, indicating normalization of the gut microbial ecosystem.

GFA-B also promoted enrichment of the microbiome with key butyrate-producing taxa, including Faecalibacterium prausnitzii, Fusicatenibacter saccharivorans, Butyricicoccus pullicaecorum, and Blautia producta, suggesting enhanced functional capacity for short-chain fatty acid production and improved metabolic maturity of the microbiome.

It was established that GFA-B does not disrupt the physiological age-related dynamics of hematological parameters, but contributes to moderate enhancement of oxygen transport capacity and activation of cellular and platelet components of immunity, reflecting increased adaptive potential of the organism.

GFA-B modulates protein, nitrogen, and enzymatic metabolism during critical growth periods (weeks 4–6), as evidenced by phase-dependent changes in protein fractions, uric acid, creatinine, and enzyme activities (ALT, AST, ALP), without affecting key indicators of energy and mineral metabolism. This indicates an adaptive metabolic response and preservation of overall homeostasis.

Under production conditions, GFA-B application was associated with improved flock survival, enhanced feed conversion efficiency, and increased average daily weight gain, confirming its practical effectiveness as a tool for optimizing broiler productivity.

Thus, GFA-B ensures systemic optimization of intestinal functional status in broiler chickens, manifested by strengthening of barrier function, modulation of immune responses, normalization of the microbiome, and improvement of productivity while maintaining metabolic homeostasis, which substantiates its use as an effective strategy in modern poultry production.

***Keywords:*** GFA-B, microbiome, intestinal barrier function, broiler chickens, immune reactivity, short-chain fatty acids, metabolism, productivity.

# СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## Статті у наукових фахових виданнях України

1. **Shatalov S. A.**, Kirici M. PCR method application to assess the molecular markers of intestinal barrier integrity in farming broilers. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2024. Vol. 12, No. 4. P. 31–36. DOI: https://doi.org/10.32819/2024.12020 *(Здобувач брав участь у плануванні дослідження, відборі та підготовці біологічного матеріалу, проведенні молекулярно-генетичних досліджень, аналізі отриманих результатів і підготовці рукопису статті).*

2. **Shatalov S. A.** Glycerides blend supplementation modulates the composition and diversity of gut microbiota in broiler chickens. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences.* 2025. Vol. 8, No. 3. P. 104–111. DOI: https://doi.org/10.32718/ujvas8-3.14

3. **Shatalov S. A.** Fatty acid glycerides modulate the expression of intercellular adhesion proteins and cytokines in the small intestine of broiler chickens. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2025. Vol. 13, No. 4. P. 3–11. DOI: https://doi.org/10.32819/2025.13016

4. **Shatalov S. A.,** Nedzvetsky V. S. Effects of a glyceride mixture on metabolic parameters and productivity of broiler chickens during the period of intensive growth. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 2026. Vol. 9, No. 1. P. 99–105. DOI: https://doi.org/10.32718/ujvas9-1.17. *(Здобувач брав участь у проведенні виробничого експерименту, визначенні метаболічних і продуктивних показників, статистичному аналізі даних та підготовці матеріалів до друку).*

5. **Shatalov S. A.** Modulation of barrier integrity and inflammation in the caecum of broiler chickens exposed to glycerides blend. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2026. Vol. 14, No. 1. P. 24–29. DOI: https://doi.org/10.32819/2026.14004

**Тези наукових доповідей**

1. Нездвецький В. С., **Шаталов С. А.**, Волков А. Р. Застосування методу RT-PCR для характеристики бар'єрної функції кишечника курчат-бройлерів. *Вплив змін клімату на здоров'я, добробут і продуктивність сільськогосподарських тварин : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. Одеса, 18 трав. 2023 р.* С. 96–99. (*Здобувачем виконано аналіз наукових джерел, проведено експериментальні дослідження та підготовлено текст тез*)

2. **Shatalov S.**, Nezdvetsky V., Baydas G., Baselga R., Benito A., Arnal J. L. Advantages in RT-PCR method application to assess intestinal barrier function in broiler chickens. *Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи: матеріали VIII Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 7–8 черв. 2023 р.* С. 16–18. (*Здобувачем обґрунтовано методичний підхід, виконано основний обсяг експериментальних досліджень та узагальнено отримані результати*)

3. **Shatalov S. A.**, Baselga R., Benito A., Arnal J. L., Nedzvetsky V. S. Evaluation of intestinal barrier function in broiler chickens using polymerase chain reaction method. *Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи: матеріали IX Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 28–29 трав. 2024 р.* С. 161–162. (*Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку результатів та підготовлено текст публікації.*)

4. **Shatalov S.**, Gordiienko I., Nedzvetsky V. Assessment of intestinal barrier function in broiler chickens using polymerase chain reaction (PCR) techniques. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: матеріали VII Міжнар. наук. конф. Дніпро, 3–4 жовт. 2024 р.* С. 81. (*Здобувачем виконано основний обсяг експериментальних досліджень, проведено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів*)

5. **Шаталов С. А.**, Погрібняк А. М., Недзвецький В. С. Застосування методу полімеразної ланцюгової реакції для оцінки стану бар'єрної функції

кишечника у бройлерів. *Від діагностики до лікування: нові горизонти: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. Дніпро, 13–14 груд. 2024* р. С. 47. (*Здобувачем проведено експериментальні дослідження, узагальнено результати та підготовлено текст тез*)

6. **Shatalov S. A.**, Nedzvetsky V. S. Molecular markers application to find out the efficacy of antibiotics replacers. *Тези доповідей XXIII Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених. Львів, 15–16 трав. 2025 р.* С. 78. (*Здобувачем виконано експериментальні дослідження, проведено аналіз молекулярних маркерів та сформульовано висновки*)

7. **Shatalov S. A.**, Faraj A. M. PCR method application to assess the molecular markers of intestinal barrier integrity in farming broilers. *Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи : матеріали X Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 20–21 трав. 2025 р.* С. 14. (*Здобувачем розроблено дизайн дослідження, виконано експериментальну частину та здійснено узагальнення результатів*)

8. **Шаталов С. А.**, Недзвецький В. С. Оцінка впливу суміші моногліцеридів на кишковий бар’єр та імунну відповідь у бройлерів. Актуальні питання ветеринарної патології: матеріали *Міжнар. наук. конф. Київ, 2–3 жовт. 2025 р.* С. 106. (*Здобувачем виконано експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку та інтерпретацію результатів*)

9. **Шаталов С. А.**, Недзвецький В. С. Кормові добавки препарату гліцеридів регулюють склад та різноманітність мікробіому бройлерів/ *Актуальні питання ветеринарної морфології, патології та біотехнології: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. Дніпро, 19–20 берез. 2026 р.* С. 110. (*Здобувачем виконано дослідження мікробіому, проведено біоінформатичний аналіз та узагальнено отримані результати.*)

ЗМІСТ

ГЛОСАРІЙ УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ 14
ВСТУП 15
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 21
1.1. Бар'єрна функція кишечника курчат-бройлерів 21
1.2. Метаболічні маркери бар'єрної функції кишечника бройлерів 34
1.3. Коротколанцюгові та середньоланцюгові жирні кислоти як регулятори бар'єрної функції кишечника бройлерів 40
1.4. Висновки до розділу 1 42
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ 44
2.1. Загальна схема досліджень 44
2.2. Використані методи досліджень 45
2.2.1. Молекулярно-генетичні та імунохімічні дослідження 45
2.2.2. Дослідження стану мікробіому 47
2.2.3. Гематологічні та біохімічні дослідження 48
2.2.4. Статистичний аналіз 49
2.2.5. Етичні аспекти 49
2.3. Узагальнення до матеріалів і методів досліджень 49
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ 50
3.1. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів бар'єрної та імунної функцій у курчат-бройлерів 50
3.1.1. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B 50
3.1.2. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B 67
3.1.3. Взаємозв'язки модуляції молекулярних маркерів у порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B 75
3.1.4. Інтегральні індекси функціонального стану порожньої і сліпої кишки курчат-бройлерів за дії GFA-B 81

3.2. Склад, різноманіття та структурна організація кишкової мікробіоти кишечника курчат-бройлерів за дії GFA-B 90

3.2.1. Альфа- та бета-різноманіття мікробіому кишечника курчат за дії GFA-B 90

3.2.2. Зміни таксономічної структури та функціонального профілю мікробіому кишечника курчат під впливом GFA-B 94

3.3. Гематологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів за дії GFA-B 101

3.3.1. Зміни гематологічних і імунних показників крові курчат-бройлерів під впливом GFA-B 101

3.3.2. Динаміка біохімічних показників крові курчат-бройлерів за дії GFA-B 108

3.4. Продуктивність та збереженість курчат за дії GFA-B 118

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 120

ВИСНОВКИ 131

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ 134

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 135

ДОДАТКИ 162

# ГЛОСАРІЙ УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ALP – лужна фосфатаза

ALT – аланінамінотрансфераза

AST – аспартатамінотрансфераза

BII – індекс бар'єрної цілісності

BIBI – індекс співвідношення бар'єрної цілісності та запальної активації

E-cadherin – Е-кадгерин

FN – фібронектин

FIBS – індекс функціонального балансу порожньої кишки

IAI – індекс запальної активації

IFN – інтерферон

IFN-α – інтерферон альфа

IFN-γ – інтерферон гамма

IgA – імуноглобулін А

IL – інтерлейкін

MCFA – середньоланцюгові жирні кислоти

MCFA-M – моногліцериди середньоланцюгових жирних кислот

SCFA – коротколанцюгові жирні кислоти

GFA-B – моногліцериди коротколанцюгових жирних кислот

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

M – середнє арифметичне значення

SD – стандартне відхилення

n – кількість тварин у групі

r – коефіцієнт кореляції

qRT-PCR – кількісна зворотньо-транскриптазна полімеразна ланцюгова реакція

p – рівень статистичної значущості

ум. од. – умовні одиниці

# ВСТУП

**Актуальність теми.** Сучасне інтенсивне птахівництво характеризується високими темпами росту та значним технологічним навантаженням на організм птиці, що підвищує ризик розвитку функціональних і метаболічних порушень [1]. У цих умовах ключову роль у забезпеченні гомеостазу, резистентності та продуктивності відіграє інтестинальна система, яка інтегрує бар'єрну, імунну, мікробіомну та метаболічну складові [2–4].

Інтестинальна система забезпечує не лише травлення і всмоктування поживних речовин, але й виконує бар'єрну та імунорегуляторну функції [2]. Порушення її структурно-функціонального стану супроводжується підвищенням проникності кишечника, транслокацією мікроорганізмів, активацією прозапальних процесів і розвитком дисбіозу, що негативно впливає на метаболізм і продуктивність птиці [5].

Важливу роль у підтриманні цілісності інтестинального бар'єра відіграють білки міжклітинних контактів, зокрема E-cadherin і Occludin, які забезпечують стабільність епітелію та регуляцію проникності [6, 7]. Їх дисфункція є одним із ключових механізмів порушення бар'єрної функції та розвитку запальних процесів [8].

Інтестинальна система функціонує як єдиний інтегрований комплекс, у якому мікробіом відіграє визначальну роль у регуляції імунних і метаболічних процесів [9, 10]. Формування стабільної мікробної екосистеми у ранній постнатальний період є критично важливим для розвитку організму, тоді як її порушення асоціюється зі зниженням синтезу коротколанцюгових жирних кислот і розвитком дисбіотичних змін [11, 12].

У зв'язку з обмеженням використання антибіотиків актуальним є пошук альтернативних засобів, здатних комплексно впливати на інтестинальну систему [13]. Перспективними у цьому напрямі є коротколанцюгові жирні кислоти та їх похідні, зокрема суміш гліцеридів жирнох кислот (GFA-B), які мають антимікробні, протизапальні та метаболічні властивості [12].

Водночас механізми впливу GFA-B на інтеграцію бар'єрних, імунних, мікробіомних і метаболічних процесів залишаються недостатньо вивченими [14, 15]. Тому дослідження їх ролі у формуванні функціонального стану інтестинальної системи курчат-бройлерів є актуальним і має важливе теоретичне та практичне значення [16].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлені в дисертаційній роботі результати виконано в межах кафедральної наукової теми «Молекулярні та клітинні механізми функціонування системи життєзабезпечення у тварин» (№ державної реєстрації 0122U000273) та держбюджетних фундаментальних тем МОН України: «Концепція альтернативної використанню антибіотиків стратегії для забезпечення ефективної бар'єрної функції кишечника продуктивних тварин» (№ 0122U001318, 2022–2024 рр.) і «Концепція формування здорового кишечника продуктивних тварин як стратегії щодо боротьби з антибіотикорезистентністю і забезпечення прибутковості» (№ 0125U001550, з 2025 р.).

**Мета і завдання дослідження.** Метою дослідження було: фізіологічні та молекулярно-біологічні механізми впливу GFA-B на бар'єрну функцію кишечника, імунозапальну відповідь, структурно-функціональну організацію мікробіому, метаболічну адаптацію та продуктивність курчат-бройлерів з обґрунтуванням його застосування як засобу підвищення резистентності та ефективності вирощування.

Для досягнення поставленої мети вирішувалися такі завдання:

− оцінити вплив GFA-B на бар'єрну функцію кишечника за показниками експресії та вмісту білків E-cadherin і Occludin у порожній та сліпій кишці;

− дослідити модуляцію імунозапальної відповіді (TNF-α, IFN-γ) та роль цитокінів у посттранскрипційної регуляції за умов дії GFA-B;

− проаналізувати інтеграцію бар'єрних і імунних механізмів на основі кореляційних зв'язків та інтегральних індексів (BII, IAI, FIBS, BIBI);

− дослідити альфа-різноманіття мікробіому кишечника за умов дії GFA-B;

− визначити таксономічні зсуви мікробіому, зокрема щодо патобіонтів і бутират-продукуючих бактерій;

− дослідити збагачення мікробіому ключовими бутират-продукуючими бактеріями;

− дослідити вплив GFA-B на гематологічні показники та метаболічні процеси організму;

− оцінити ефективність застосування GFA-B за продуктивними показниками курчат-бройлерів.

*Об'єкт дослідження* – – інтестинальна система курчат-бройлерів та її функціональний стан за дії GFA-B.

*Предмет дослідження* – вплив GFA-B на бар'єрну функцію кишечника, імунозапальну відповідь, структурно-функціональну організацію мікробіому та метаболічну адаптацію курчат-бройлерів.

**Методи дослідження:** клініко-фізіологічні, мікробіологічні, морфологічні, біохімічні та фізико-хімічні методи (спектрофотометрія, фотоколориметрія, електрофорез у поліакриламідному гелі), молекулярно-генетичні (ПЛР, секвенування) та імунохімічні методи (імуноблотинг), статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше на основі комплексної оцінки молекулярних, мікробіологічних та фізіолого-біохімічних показників встановлено вплив задавання GFA-B на функціональний стан інтестинальної системи, що проявляється зміцненням бар'єрної функції кишечника, оптимізацією імунозапальної відповіді та формуванням стабільної мікробної екосистеми курчат-бройлерів.

Вперше досліджено молекулярні механізми регуляції бар'єрно-імунного гомеостазу кишечника за участю GFA-B, зокрема динамічна модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів у кишечнику курчат-бройлерів.

Вперше встановлено формування інтегрованої мережі функціональних взаємозв'язків між маркерами бар'єрної та імунозапальної ланок кишечника за дії GFA-B, що свідчить про посилення узгодженості регуляторних процесів.

Вперше запропоновано та проведено комплексну інтегральну оцінку функціонального стану кишечника із застосуванням індексів BII, IAI, FIBS та BIBI, що дозволило кількісно охарактеризувати зміщення бар'єрно-імунного балансу.

Показано, що застосування GFA-B зумовлює спрямовану перебудову кишкового мікробіому, яка характеризується зниженням частки патобіонтів та збагаченням бутират-продукуючих бактерій, що супроводжується підвищенням резистентності, метаболічної адаптації та продуктивності курчат-бройлерів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень мають фундаментальне та прикладне значення для оцінки функціонального стану інтестинальної системи курчат-бройлерів шляхом встановлення закономірностей модуляції бар'єрної функції кишечника, імунозапальної відповіді та структурно-функціональної організації мікробіому у порожній і сліпій кишці.

Отримані дані щодо впливу задавання GFA-B курчатам-бройлерам протягом технологічного циклу на бар'єрну функцію кишечника, мікробіом, загальну резистентність та метаболічну адаптацію можуть бути використані біологами, фізіологами, біохіміками та спеціалістами птахівництва при проведенні наукових досліджень і розробці нових підходів до підвищення стійкості організму птиці.

Розроблено підхід до мінімізації застосування антибактеріальних препаратів у птахівництві, який передбачає використання GFA-B і забезпечує підвищення збереженості поголів'я, покращення конверсії корму та збільшення середньодобових приростів маси тіла курчат-бройлерів.

Результати досліджень можуть бути впроваджені у виробничу практику птахівничих господарств як ефективний інструмент підвищення

продуктивності та біобезпеки, а також використані у навчальному процесі закладів вищої освіти при викладанні дисциплін «Фізіологія тварин», «Фізіологія сільськогосподарських тварин», «Клінічна біохімія тварин» та «Патофізіологія тварин», «Ветеринарна дієтологія» (Додаток Б–В).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем самостійно виконано всі етапи дисертаційного дослідження: проведено пошук, систематизацію та критичний аналіз наукових джерел, обґрунтовано наукову ідею, сформульовано мету та завдання роботи, розроблено дизайн експерименту. Автором одноосібно здійснено постановку та виконання експериментальних досліджень, відбір біологічного матеріалу, проведення лабораторних аналізів, а також повну статистичну обробку отриманих результатів. Інтерпретацію даних, їх узагальнення, встановлення наукових закономірностей і формулювання висновків здобувач здійснив самостійно; науковий керівник брав участь у консультативному супроводі та обговоренні результатів дослідження. Усі основні положення, що виносяться на захист, отримані автором особисто. Особистий внесок здобувача у наукові праці, опубліковані у співавторстві, конкретизовано у списку публікацій.

**Апробація результатів дисертації**: Основні положення та результати дисертаційної роботи були представлені на: Міжнародній науково-практичній конференції «Вплив змін клімату на здоров’я, добробут і продуктивність сільськогосподарських тварин» (м. Одеса, 18 травня 2023 р.); VIII Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 7–8 червня 2023 р.); IX Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 28–29 травня 2024 р.), VII Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (м. Дніпро, 3–4 жовтня 2024 р.) та Всеукраїнській науково-практичній конференції «Від діагностики до

лікування: нові горизонти» (м. Дніпро, 13–14 грудня 2024 р.); XXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених (м. Львів, 15–16 травня 2025 р.); X Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 20–21 травня 2025 р.); Міжнародній науковій конференції «Актуальні питання ветеринарної патології» (м. Київ, 2–3 жовтня 2025 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання ветеринарної морфології, патології та біотехнології» (м. Дніпро, 19–20 березня 2026 р.).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 173 сторінках комп'ютерного тексту і складається з: анотацій, вступу, чотирьох розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертаційна робота проілюстрована 24 рисунками і 18 таблицями. Список використаних джерел містить 201 джерело латиницею.

**Публікації**. Основні положення дисертаційної роботи та отримані результати досліджень висвітлені у 5 наукових працях у фахових виданнях України, тез доповідей – 9. Результати досліджень були представлені та обговорені на наукових конференціях різного рівня.

# РОЗДІЛ 1
# ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

## 1.1. Бар’єрна функція кишечника курчат-бройлерів

Кишечник бройлерів, який перебуває у безпосередньому контакті із зовнішнім середовищем, виконує не лише травну та абсорбційну функції, а й є одним із найважливіших імунних органів та ключовим внутрішнім бар’єром організму [17]. Кишкове мікросередовище являє собою складну динамічну систему, у якій підтримання структурної та функціональної цілісності кишкового бар’єра має визначальне значення для збереження гомеостазу [18].

Кишковий епітеліальний бар’єр забезпечує вибіркове всмоктування води та поживних речовин, водночас обмежуючи проникнення патогенних мікроорганізмів, токсинів і інших екзогенних агентів [19, 20]. Його цілісність підтримується епітеліальними клітинами, слизовим шаром, системою щільних міжклітинних контактів, а також клітинними елементами місцевого імунного захисту. Порушення щільних контактів супроводжується підвищенням проникності кишкової стінки, транслокацією мікроорганізмів та активацією запальної відповіді, що формує патологічне коло ушкодження бар’єра [19].

Важливу роль у підтриманні бар’єрної функції відіграють імунні клітини власної пластинки слизової оболонки. Вони беруть участь у регуляції місцевої та системної імунної відповіді на патогени, а також забезпечують толерантність до коменсальної мікробіоти, запобігаючи надмірному запаленню та ушкодженню тканин [21]. До складу цього клітинного пулу входять плазматичні клітини, макрофаги, дендритні клітини, лімфоцити та, рідше, нейтрофіли [22]. Порушення структурних і функціональних компонентів кишкового бар’єра асоціюється з розвитком запальних захворювань кишечника, коліту та інших патологічних станів, пов’язаних із хронічним запаленням [23].

Бар’єрна функція кишкового епітелію визначається інтенсивністю проліферації та оновлення епітеліальних клітин, цілісністю міжклітинних

контактів і функціональним станом імунної системи слизової оболонки [24]. Швидке оновлення епітелію є важливим механізмом захисту, оскільки сприяє обмеженню проникнення патогенів і шкідливих чинників із просвіту кишечника та знижує ризик розвитку запалення й інфекційного процесу [25]. Епітеліальні клітини, які формують основний структурний компонент бар'єра, з'єднані між собою системою сполучних комплексів, що забезпечують когезію ентероцитів, збереження вибіркової проникності епітелію та регуляцію проліферації, диференціювання, ремоделювання, міграції й апоптозу клітин [26, 27].

У птахівництві для оцінки кишкової проникності у бройлерів переважно застосовують непрямі методи. До них належать визначення експресії білків щільних контактів методом qRT-PCR [28], оцінка бар'єрних біомаркерів за допомогою ELISA, а також гістологічне дослідження морфології ворсинок і крипт. Однак ці підходи здебільшого є непрямими, трудомісткими та термінальними, що нерідко зумовлює суперечливість результатів і обмежує їх широке застосування для рутинного моніторингу цілісності кишечника у виробничих умовах [29].

Серед чинників, що негативно впливають на кишковий бар'єр бройлерів, важливе місце посідає тепловий стрес. Встановлено, що за умов хронічного теплового навантаження у птиці знижується трансепітеліальна резистентність, підвищується проникність епітелію та порушується цілісність слизової оболонки кишечника [30]. Надмірне утворення реактивних форм кисню і прозапальних цитокінів за цих умов спричиняє зниження експресії білків щільних контактів та погіршення функціонального стану бар'єра. Показано, що введення бетаїну до раціону позитивно впливає на стан кишечника бройлерів за теплового стресу, пригнічуючи запальну реакцію та сприяючи відновленню бар'єрної функції слизової оболонки [31, 32]. Подібний ефект встановлено і для синбіотичної добавки, яка за умов циклічного теплового стресу частково або повністю нівелювала негативні зміни морфометричних показників слизової оболонки, активності діаміноксидази у сироватці крові та

експресії білків щільних контактів, зокрема occludin і ZO-1 [33]. Також показано, що гліцин покращує функцію кишкового бар'єра у бройлерів за теплового стресу шляхом зниження інтенсивності оксидативного стресу [34].

Порушення бар'єрної функції кишечника може бути індуковане імунним стресом. Так, введення ліпополісахариду, який є потужним ендотоксином грамнегативних бактерій, викликало зниження висоти ворсинок, експресії оклюдину та посилення кишкової проникності, що супроводжувалося вираженою запальною відповіддю [35]. Додавання ресвератролу до раціону в таких умовах послаблювало негативні зміни, зменшувало інтенсивність запалення, відновлювало експресію білків щільних контактів і поліпшувало морфологічний стан слизової оболонки [35]. Подібно, хлорогенова кислота послаблювала ушкодження кишкового бар'єра та запальні реакції у бройлерів за умов LPS-індукованого імунного стресу [36].

Важливе місце серед засобів підтримання цілісності кишкового бар'єра посідають полісахариди рослинного походження. Відомо, що вони характеризуються широким спектром біологічної активності, зокрема антиоксидантною, протизапальною та імуномодулюючою дією [37]. Застосування полісахаридів астрагала у бройлерних курчат сприяло потовщенню слизового шару, зменшенню глибини крипт, підвищенню експресії білків щільних міжклітинних контактів, а також модулювало склад кишкової мікробіоти, зокрема збільшувало чисельність *Parabacteroides distasonis* та *Bacteroides uniformis* [38]. Полісахарид *Artemisia annua* також зменшував ушкодження кишечника, покращував бар'єрну функцію, посилював антиоксидантний та імунний захист і сприятливо змінював кишкову мікробіоту у бройлерів, інфікованих *Escherichia coli* [39].

Амінокислоти є важливими метаболічними регуляторами, здатними модулювати бар'єрну функцію кишечника та перебіг запальних процесів. До функціональних амінокислот, що сприяють відновленню цілісності кишечника за умов ушкодження або стресу, належать аргінін, глутамін і треонін. Показано, що додаткове введення аргініну, а також комбінації

аргініну з глутаміном, покращує продуктивність, знижує кишкову проникність і послаблює запалення у бройлерів, особливо при використанні раціонів зі зниженим вмістом сирого протеїну [40]. Окремо встановлено, що глутамін позитивно впливає на імунітет і експресію генів, пов'язаних із бар'єрною функцією, у бройлерів, інфікованих Salmonella Enteritidis [41].

Суттєву роль у підтриманні цілісності кишечника відіграють і вітаміни. У бройлерів, коінфікованих кокцидіями та Clostridium perfringens, введення вітаміну А сприяло покращенню ростових показників і бар'єрної функції кишечника, хоча не усувало повністю негативний вплив патогенів на антиоксидантний статус [42]. Також показано позитивний вплив вітаміну С на морфологію кишечника, бар'єрну функцію та імунну відповідь [43].

За експериментального моделювання підвищеної проникності шлунково-кишкового тракту у бройлерів встановлено, що значне ушкодження бар'єра можуть спричиняти як інфекційні чинники, так і стресові моделі, зокрема використання синтетичних глюкокортикоїдів, тепловий стрес, раціони з високим вмістом некрохмальних полісахаридів і періоди голодування [44]. Інфікування Escherichia coli погіршує стан кишечника, спричиняє запалення, знижує темпи росту та збільшує смертність бройлерів. За цих умов додавання до раціону Lactobacillus acidophilus зменшувало смертність, рівні маркерів запалення і кишкової проникності, підвищувало експресію оклюдину та ZO-1 і пригнічувало експресію прозапальних генів [45]. Позитивний ефект щодо бар'єрної функції та мікробіоти при зараженні E. coli також встановлено для елагової кислоти [46].

Серед кормових добавок, здатних покращувати функцію кишкового бар'єра, окрему увагу привертають пробіотики і постбіотичні засоби. Включення Clostridium butyricum до раціону бройлерів покращувало ріст, ефективність використання корму, імунну відповідь, підтримувало цілісність кишкового бар'єра та модулювало мікрофлору [47]. Крім того, ця добавка проявляла захисну дію в умовах експериментального інфікування Clostridium perfringens [48]. У дослідженні із двоштамовим Bacillus subtilis встановлено

покращення морфології порожньої кишки, зокрема збільшення висоти ворсинок, зменшення глибини крипт і підвищення експресії оклюдину, що свідчило про зміцнення бар'єрної функції [49]. Аналогічно, антимікробний пептид мікроцин С7 сприяв зростанню чисельності лактобактерій, зменшенню кількості Escherichia coli у сліпій кишці, підвищенню вмісту коротколанцюгових жирних кислот та поліпшенню росту, імунного статусу і бар'єрної функції у бройлерів [50].

Позитивний вплив на кишечник бройлерів мають і фітогенні кормові добавки [51]. Зокрема, транс-анетол у дозі 400 мг/кг раціону покращував перетравність поживних речовин, експресію транспортерів і білків щільних контактів, морфологію кишки та мікробіотичний профіль [45]. Екстракт листя турпінії посилював функцію кишкового бар'єра у бройлерів за умов LPS-індукованого стресу, що проявлялося покращенням морфології кишки та підвищенням експресії ZO-1, [52]. Ізохінолінові алкалоїди, отримані з Macleaya cordata, сприяли покращенню антиоксидантного захисту та структурно-молекулярних компонентів кишкового бар'єра, особливо у дванадцятипалій кишці [53, 54]. Комбінована добавка гесперидину, тимолу та розмаринової кислоти також покращувала морфологію клубової кишки, підвищувала експресію ZO-1, claudin-1, occludin і MUC2, знижувала інтенсивність запалення та сприятливо модулювала мікробіоту [55]. Позитивний ефект щодо бар'єрної функції в умовах інфікування Clostridium perfringens продемонстрував також екстракт Scutellaria baicalensis і Lonicerae flos [56].

Окремий інтерес становлять кормові фактори, що впливають на стан мікробіоти та слизової оболонки. Додавання Chlorella vulgaris до раціону бройлерів супроводжувалося підвищенням кількості $CD4^+$ Т-клітин, посиленням експресії генів, пов'язаних із цілісністю кишкового бар'єра, а також збільшенням різноманітності мікробіоти сліпої кишки [57]. Ксилоолігосахариди також покращували ростові показники, імунну функцію та здоров'я кишечника шляхом посилення бар'єрної функції і регуляції

різноманіття мікробіоти [55]. Рамноліпіди позитивно впливали на ріст, імунний статус, склад мікробіоти та функціональний стан кишечника [54].

Важливим пошкоджувальним чинником для кишечника бройлерів є мікотоксини. Дезоксиніваленол, який часто виявляється у кормах, порушує структурну та функціональну цілісність кишкового тракту, негативно впливає на мікробіоту та знижує продуктивність птиці [58]. На цьому тлі байкалін проявляв захисну дію, покращуючи стан кишкового бар'єра та мікробіоти [59, 60].

Цікавими є також дані щодо впливу зовнішніх фізичних чинників. Показано, що монохроматичне синє і зелене освітлення покращує бар'єрну функцію кишечника бройлерів, ймовірно, через підвищення секреції мелатоніну. За цих умов збільшувались висота ворсинок, співвідношення ворсинка/крипта, кількість келихоподібних та IgA-позитивних клітин, а також експресія Claudin-1, Occludin, ZO-1 і MUC2. Видалення епіфіза нівелювало ці ефекти, що підтверджує важливу роль мелатоніну у підтриманні цілісності кишкового бар'єра [61].

Таким чином, бар'єрна функція кишечника бройлерів є багатокомпонентною системою, що залежить від структурної цілісності епітелію, стану щільних міжклітинних контактів, активності місцевого імунного захисту та складу кишкової мікробіоти. Її порушення спостерігається за дії теплового, інфекційного, імунного та токсичного стресу й супроводжується морфологічними змінами слизової оболонки, посиленням проникності, розвитком запалення та зниженням продуктивності птиці. Водночас численні дослідження свідчать, що використання амінокислот, пробіотиків, фітогенних сполук, полісахаридів, вітамінів та інших біологічно активних речовин може бути ефективним підходом до підтримання або відновлення бар'єрної функції кишечника у бройлерів. Це визначає перспективність подальших досліджень, спрямованих на пошук дієвих засобів профілактики кишкової дисфункції та підвищення резистентності птиці в умовах промислового вирощування.

*Мікробіом кишечника курей та його роль у підтриманні бар'єрної функції і гомеостазу.* Баланс кишкового мікробіому є визначальним чинником підтримання структурно-функціональної цілісності кишечника курей та регуляції метаболічних і імунних процесів. Кишкова мікробіота, яка представлена сукупністю мікроорганізмів, що колонізують різні відділи травного тракту, виконує інтегративну роль у забезпеченні травлення, трансформації поживних речовин, формуванні колонізаційної резистентності, підтриманні бар'єрної функції епітелію та модулюванні імунної відповіді [62]. Висока лабільність мікробіому зумовлює його чутливість до екзогенних факторів, зокрема складу раціону, застосування антимікробних препаратів, технологічних умов утримання та інфекційного навантаження [63, 64].

Формування мікробіому розпочинається у ранній постнатальний період, який визначає подальший морфогенез кишечника та імунну реактивність організму [65, 66]. Початково мікробіота характеризується низькою різноманітністю з переважанням представників *Enterobacteriaceae,* однак у процесі постнатального розвитку відбувається ускладнення її структури з домінуванням анаеробних грампозитивних бактерій, зокрема *Clostridiales* [67, 68]. Така сукцесія мікробіоти відображає адаптацію кишечника до умов функціонування та формування стабільного мікробіомного профілю.

Родина *Enterobacteriaceae* є однією з ключових таксономічних груп, що формують початкову мікробіоту кишечника курчат у ранньому постнатальному періоді [69]. До її складу входять факультативно анаеробні грамнегативні бактерії, зокрема представники родів *Escherichia, Salmonella, Klebsiella, Enterobacter* та інші, які характеризуються високою метаболічною пластичністю, швидким ростом і здатністю адаптуватися до змінних умов середовища [70].

Фізіологічною особливістю *Enterobacteriaceae* є здатність до факультативно анаеробного типу метаболізму, що дозволяє їм ефективно функціонувати як у присутності кисню, так і за його обмеження [71]. У щойно вилуплених курчат просвіт кишечника містить відносно підвищену

концентрацію кисню, що створює сприятливі умови саме для колонізації факультативними анаеробами [72]. На відміну від облігатно анаеробних бактерій, які потребують строго анаеробного середовища, *Enterobacteriaceae* здатні першими заселяти ці екологічні ніші [73].

Крім того, *Enterobacteriaceae* характеризуються високою швидкістю проліферації та ефективним використанням доступних субстратів, включаючи прості вуглеводи та інші легкодоступні поживні речовини, що наявні у просвіті кишечника в ранній постнатальний період [74]. Вони також мають розвинені механізми адгезії до епітелію та здатність утворювати біоплівки, що сприяє їх закріпленню на слизовій оболонці та конкурентній перевазі над іншими мікроорганізмами.

Важливим екологічним аспектом є те, що колонізація кишечника Enterobacteriaceae сприяє подальшому формуванню анаеробного середовища. У процесі метаболічної активності ці бактерії активно споживають кисень, знижуючи окисно-відновний потенціал у просвіті кишечника. Це створює умови для подальшої колонізації облігатно анаеробними мікроорганізмами [75], зокрема представниками порядку *Clostridiales*, які домінують у більш зрілому мікробіомі [76].

Таким чином, Enterobacteriaceae виконують роль первинних колонізаторів кишечника курчат, забезпечуючи початкове формування мікробіомної екосистеми та створюючи передумови для її подальшої сукцесії. Незважаючи на те, що окремі представники цієї родини можуть проявляти патогенні властивості, у фізіологічних умовах вони є важливим компонентом раннього мікробіому, який бере участь у становленні бар’єрної функції кишечника та імунної системи організму.

Мікробіом кишечника курей має виражену регіональну специфічність. У тонкому кишечнику, особливо в клубовій кишці, переважають представники *Lactobacillales*, тоді як у сліпій кишці домінують облігатно-анаеробні бактерії, насамперед *Clostridiales, Ruminococcaceae, Lachnospiraceae* та *Bacteroidetes* [77–80]. Сліпа кишка виступає основною зоною мікробної ферментації та

характеризується максимальною щільністю і різноманіттям мікробного населення, що забезпечує утворення коротколанцюгових жирних кислот, необхідних для енергетичного метаболізму ентероцитів і підтримання бар'єрної функції слизової оболонки [81, 79].

Склад кишкової мікробіоти визначається комплексною дією генетичних і середовищних чинників. Генотип господаря впливає на формування мікробного профілю та рівень резистентності до інфекційних агентів [82, 83]. Водночас раціон є ключовим регулятором мікробіомної структури. Зокрема, раціони з високим вмістом некрохмальних полісахаридів або тваринного білка створюють умови для проліферації *Clostridium perfringens* та розвитку дисбіотичних змін [84]. Встановлено, що варіабельність мікробіому асоціюється з показниками продуктивності, ефективністю конверсії корму та особливостями енергетичного обміну птиці [85].

Фізіологічно стабільний мікробіом є необхідною умовою підтримання бар'єрної функції кишечника. Коменсальні бактерії стимулюють секрецію слизу, регулюють експресію білків щільних міжклітинних контактів, модулюють синтез антимікробних факторів та забезпечують імунологічну толерантність до симбіонтної мікробіоти [62, 86]. Порушення мікробіомного балансу супроводжується зниженням мікробного різноманіття, збільшенням частки умовно-патогенних бактерій, підвищенням проникності епітелію, активацією прозапальних сигнальних шляхів та зниженням продуктивності птиці. Встановлено, що рівень експресії прозапальних цитокінів у слизовій оболонці кишечника негативно корелює з чисельністю *Firmicutes* і позитивно – з *Proteobacteria*, що свідчить про тісний функціональний зв'язок між мікробіомною структурою та імунним статусом організму [87].

Важливу роль у розвитку патологічних процесів відіграють умовно-патогенні мікроорганізми. *Clostridium perfringens* є ключовим етіологічним агентом некротичного ентериту та проявляє патогенність за умов дисбіозу, коінфекцій і стресового навантаження [88]. *Escherichia coli* може функціонувати як умовно-патогенний агент, а розвиток колібактеріозу

визначається взаємодією вірулентних властивостей ізоляту та стану макроорганізму [89, 90]. *Campylobacter jejuni*, незважаючи на відсутність вираженої патогенності для птиці, має важливе епідеміологічне значення як зоонозний агент [91].

Таким чином, кишковий мікробіом слід розглядати як інтегративну систему, що забезпечує взаємозв'язок між метаболічними, бар'єрними та імунними процесами в організмі курей. Порушення його структури та функціональної активності призводить до розвитку дисбіозу, ушкодження кишкового бар'єра та зниження продуктивності. У зв'язку з цим підтримання стабільного мікробіомного профілю є одним із ключових напрямів профілактики кишкових дисфункцій і підвищення резистентності птиці в умовах інтенсивного вирощування.

**Бар'єрні та імунні маркери стану кишечника курей.** Функціональний стан кишечника курей визначається інтегрованою взаємодією структурних компонентів епітеліального бар'єра та імунних механізмів слизової оболонки. У цьому контексті особливе значення мають білки міжклітинної адгезії та щільних контактів, зокрема E-cadherin і occludin, а також прозапальні цитокіни, серед яких ключову роль відіграють TNF-α та IFN-γ. Сукупна оцінка цих маркерів дозволяє об'єктивно характеризувати ступінь цілісності кишкового бар'єра, інтенсивність запальної відповіді та загальний функціональний стан кишечника.

*Бар'єрні маркери: E-cadherin і occludin.* E-cadherin є трансмембранним глікопротеїном із сімейства кальцій-залежних молекул клітинної адгезії, який локалізується у зоні адгезивних контактів між епітеліальними клітинами та забезпечує їх механічну цілісність і полярність [92, 93]. Він взаємодіє з β-катеніном та актиновим цитоскелетом, формуючи стабільні міжклітинні з'єднання, необхідні для підтримання архітектоніки епітелію [94]. Встановлено, що E-cadherin є критичним регулятором епітеліального фенотипу та бере участь у сигнальних шляхах, зокрема Wnt/β-катенін-залежній трансдукції сигналу [92].

Зниження експресії E-cadherin асоціюється з порушенням міжклітинної адгезії, втратою полярності клітин та активацією епітеліально-мезенхімального переходу (EMT), що супроводжується підвищенням експресії мезенхімальних маркерів (N-cadherin, віментин, фібронектин) [95]. Дисрегуляція E-cadherin може бути індукована транскрипційними факторами EMT (Snail, Slug, Twist), що призводить до репресії його експресії [96, 97]. У контексті патології кишечника зниження рівня E-cadherin розглядається як один із ключових механізмів порушення бар'єрної функції та підвищення проникності епітелію [97]. Додатково показано, що патогенні штами Escherichia coli здатні порушувати локалізацію та функцію E-cadherin, сприяючи інвазії та руйнуванню бар'єра [98].

Occludin є одним із основних трансмембранних білків щільних контактів (tight junctions), що регулює параклітинну проникність епітелію та забезпечує селективний транспорт молекул через епітеліальний шар [6]. Зниження експресії occludin або порушення його локалізації призводить до дестабілізації щільних контактів, підвищення проникності кишечника та транслокації мікроорганізмів і токсинів [99].

Occludin є одним із перших ідентифікованих трансмембранних білків щільних контактів (tight junctions) та локалізується у складі міжклітинних контактних комплексів епітелію [100]. Це тетраспановий білок із двома позаклітинними петлями та цитоплазматичними $NH_2$- і COOH-кінцевими доменами, який інтегрований у структуру щільних контактів і взаємодіє з іншими білками TJ-комплексу. Первинно occludin розглядався як ключовий структурний компонент, необхідний для формування та підтримання бар'єрної функції епітелію [101]. Разом з тим, результати експериментальних досліджень, зокрема на моделях, свідчать, що формування базової структури щільних контактів можливе і за його відсутності, що вказує на функціональну надлишковість або компенсацію іншими білками, такими як клаудини [102]. Це обумовлює наявність дискусії щодо безпосередньої ролі occludin у формуванні бар'єра. Водночас численні дослідження підтверджують, що

зниження експресії або порушення локалізації occludin асоціюється з підвищенням проникності епітелію та розвитком запальних процесів у кишечнику [103–105].

Зокрема, у патологічних станах, що супроводжуються порушенням бар'єрної функції, включаючи запальні захворювання кишечника, відзначається достовірне зниження рівня occludin у слизовій оболонці [106, 107]. Це свідчить про те, що, хоча occludin може не бути критично необхідним для формування щільних контактів, він відіграє важливу регуляторну роль у підтриманні їх функціональної цілісності та контролі параклітинної проникності [108]. Таким чином, occludin слід розглядати не лише як структурний компонент, але і як динамічний маркер функціонального стану епітеліального бар'єра кишечника.

Таким чином, E-cadherin і occludin функціонують як взаємодоповнюючі компоненти бар'єрної системи, що забезпечують як механічну цілісність, так і функціональну селективність епітелію.

*Імунні маркери: TNF-α і IFN-γ.* Серед імунних маркерів, що відображають стан кишкового гомеостазу, провідну роль відіграють прозапальні цитокіни TNF-α та IFN-γ. Інтерферони належать до сімейства цитокінів, які синтезуються клітинами у відповідь на вірусну інфекцію та реалізують виражену противірусну активність [109]. Виділяють три основні типи інтерферонів: IFN-α і IFN-β (інтерферони I типу) та IFN-γ (інтерферон II типу), які продукуються відповідно лейкоцитами, фібробластами та імунокомпетентними клітинами [110].

Сигнальні ефекти інтерферонів реалізуються через активацію JAK-STAT сигнального шляху. Зв'язування інтерферонів із рецепторами призводить до активації тирозинкіназ сімейства JAK, фосфорилювання STAT1 і STAT2 та їх транслокації в ядро з подальшою індукцією експресії інтерферон-стимульованих генів [93]. STAT1 є ключовим медіатором противірусного вродженого імунітету, а його активність регулюється посттрансляційними модифікаціями [113, 114].

IFN-γ, який продукується Т-лімфоцитами та природними клітинами-кілерами, є центральним регулятором клітинного імунітету. Він забезпечує активацію макрофагів, посилює антибактеріальний та противірусний захист, модулює проліферацію та апоптоз клітин, а також регулює міжклітинну взаємодію у межах імунної відповіді [115, 116]. Передача сигналу IFN-γ здійснюється через рецепторний комплекс IFNGR1/IFNGR2 з подальшою активацією шляху JAK/STAT1, що забезпечує реалізацію його біологічних ефектів [117]. Водночас IFN-γ здатний індукувати експресію PD-L1 та опосередковувати імуносупресивні механізми, що має значення у регуляції інтенсивності імунної відповіді [118, 119].

TNF-α є ключовим прозапальним цитокіном, який синтезується макрофагами та іншими імунними клітинами у відповідь на інфекційні та стресові стимули. Він відіграє важливу роль у запуску та підтриманні запальної реакції, активації ендотелію, рекрутуванні імунних клітин та регуляції апоптозу. Взаємодія TNF-α з IFN-γ має синергічний характер і може посилювати імунну відповідь, зокрема шляхом підвищення експресії імунорегуляторних молекул, таких як PD-L1 [120].

*Інтегративна оцінка бар'єрного та імунного стану кишечника.* Стан кишечника курей визначається балансом між бар'єрними та імунними механізмами. Порушення експресії E-cadherin і occludin призводить до дестабілізації епітеліального бар'єра, підвищення його проникності та транслокації мікроорганізмів. У відповідь на це активується імунна система, що супроводжується підвищенням рівнів TNF-α та IFN-γ і розвитком запальної реакції.

Таким чином, зниження рівня бар'єрних білків у поєднанні з підвищенням експресії прозапальних цитокінів є характерною ознакою порушення кишкового гомеостазу. Навпаки, стабільна експресія E-cadherin і occludin у поєднанні з контрольованим рівнем TNF-α та IFN-γ свідчить про збереження функціональної цілісності кишечника та ефективну імунну регуляцію.

Отже, комплексна оцінка бар'єрних (E-cadherin, occludin) та імунних (TNF-α, IFN-γ) маркерів є інформативним підходом до характеристики функціонального стану кишечника курей і може бути використана для моніторингу впливу стресових чинників, інфекцій та кормових добавок на кишкове здоров'я птиці.

### 1.2. Метаболічні маркери бар'єрної функції кишечника бройлерів.

Бар'єрна функція кишечника бройлерів є багатокомпонентною системою, стан якої визначається не лише структурною цілісністю епітелію та міжклітинних контактів, але й характером локального метаболізму слизової оболонки, активністю мікробіоти та спектром утворюваних нею метаболітів. У цьому контексті метаболічні маркери бар'єрної функції слід розглядати як сукупність низькомолекулярних сполук, ферментативних та сигнальних показників, що відображають енергетичне забезпечення ентероцитів, інтенсивність окисно-відновних процесів, стан слизового бар'єра, особливості мікробного метаболізму та ступінь імунометаболічної активації кишечника.

Першою лінією захисту кишечника є слизовий бар'єр, який не лише механічно відмежовує епітелій від вмісту просвіту кишки, але й містить антибактеріальні та імунні компоненти, зокрема β-дефензини, лізоцим, авідин та IgA [121]. Функціонування цього бар'єра безпосередньо пов'язане з метаболічною активністю келихоподібних клітин, синтезом муцину та доступністю субстратів, які підтримують секреторні процеси. Епітеліальні клітини кишечника, насамперед ентероцити, виконують не лише транспортну, але й метаболічну функцію, забезпечуючи засвоєння нутрієнтів, синтез біологічно активних молекул і підтримання локального гомеостазу [122]. Тому порушення цілісності епітелію неминуче супроводжується зниженням ефективності нутрієнтного обміну, ослабленням бар'єрної функції та посиленням проникнення мікробних і токсичних агентів.

Суттєве значення у відновленні кишкового бар'єра мають стовбурові клітини крипт і пов'язані з ними регуляторні сигнальні механізми. Показано,

що функціональна активність кишкових стовбурових клітин є критичною для регенерації епітелію, а її порушення знижує здатність слизової оболонки до репарації. Водночас жовчні кислоти можуть виступати метаболічними регуляторами, активуючи Lgr5+ стовбурові клітини та стимулюючи оновлення епітелію [123, 124]. Це свідчить про тісний зв'язок між жовчнокислотним обміном і підтриманням бар'єрної функції кишечника.

Одним із центральних механізмів порушення бар'єрної функції є дестабілізація щільних міжклітинних контактів на тлі окисно-відновного дисбалансу. За таких умов зростає проникність кишечника, активується транслокація патогенів, ендотоксинів і токсичних метаболітів у системний кровотік, що сприяє розвитку системного запалення [125]. Разом з тим реакція кишечника на стресові чинники не є однозначною. Зокрема, короткотривалий легкий тепловий стрес може активувати адаптаційно-акліматизаційні механізми та тимчасово посилювати бар'єрну функцію, обмежуючи проникнення мікробних компонентів у кров [126]. Натомість хронічний стрес, зокрема індукований кортикостероном, супроводжується глибокою дезрегуляцією гліколіпідного обміну, змінами метаболому слизової оболонки та дисбіозом, що поєднується зі зниженням частки Firmicutes і Faecalibacterium та зростанням Proteobacteria і Escherichia/Shigella [127]. У таких умовах порушення бар'єра слід розглядати як наслідок інтегрованої метаболічної, мікробіологічної та імунної перебудови.

Стан бар'єрної функції кишечника у курчат-бройлерів тісно пов'язаний із гематологічними та імунними показниками крові, оскільки порушення цілісності слизової оболонки сприяє транслокації мікробних компонентів, ендотоксинів і прозапальних метаболітів у системний кровотік [128]. Це супроводжується активацією системної запальної відповіді, що може проявлятися змінами кількості лейкоцитів, зростанням гетерофільно-лімфоцитарного співвідношення, підвищенням вмісту гетерофілів і зниженням частки лімфоцитів [129, 5]. Наприклад, за теплового, імунного або мікотоксичного стресу, які ушкоджують епітеліальний бар'єр кишечника, у

крові бройлерів нерідко реєструють ознаки стрес-лейкограми, що відображає активацію неспецифічної резистентності та розвиток системного запалення [130–132]. Таким чином, зміни лейкоцитарної формули можуть розглядатися як непрямий гематологічний індикатор погіршення бар'єрної функції кишечника.

Порушення кишкового бар'єра також закономірно відбивається на гуморальних і клітинних показниках імунітету. При зниженні експресії білків щільних контактів, послабленні слизового бар'єра та розвитку дисбіозу зростає антигенне навантаження на організм, що супроводжується змінами концентрації імуноглобулінів, цитокінів та білків гострої фази у крові [130]. Зокрема, при бар'єрній дисфункції часто підвищуються рівні прозапальних цитокінів, таких як TNF-α, IL-1β, IL-6, IFN-γ, тоді як концентрація секреторного IgA у кишечнику може знижуватися або перерозподілятися залежно від характеру ушкодження [133]. Прикладом є інфекційне ураження кишечника Escherichia coli, Clostridium perfringens або Eimeria spp. [134], за якого місцеве ушкодження слизової оболонки супроводжується підвищенням системних маркерів запалення, зниженням імунної ефективності та погіршенням продуктивності птиці [135].

Водночас покращення бар'єрної функції кишечника під впливом пробіотиків, пребіотиків, функціональних амінокислот, фітобіотиків або коротколанцюгових жирних кислот зазвичай асоціюється з нормалізацією гематологічних та імунних показників крові [49]. За умов зміцнення слизового й епітеліального бар'єра, зменшення проникності кишечника та пригнічення локального запалення у бройлерів часто відзначають стабілізацію лейкоцитарної формули, зниження гетерофільно-лімфоцитарного індексу, підвищення концентрації імуноглобулінів та зменшення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові [136]. Наприклад, застосування Bacillus subtilis, бутирату, аргініну або поліфенольних сполук може одночасно покращувати морфофункціональний стан кишечника і сприяти більш збалансованій системній імунній відповіді [137, 40]. Отже, гематологічні та імунні показники

крові доцільно розглядати як системне відображення локального стану кишкового бар'єра, а їх комплексний аналіз є важливим для оцінки здоров'я та резистентності курчат-бройлерів.

Сучасні дослідження свідчать, що важливими метаболічними маркерами функціонального стану кишечника є коротколанцюгові жирні кислоти, поліаміни, органічні кислоти, похідні амінокислот, вітаміни групи В, індольні метаболіти триптофану та показники енергетичного обміну. Зокрема, під впливом екстракту Piper sarmentosum у кишечнику курей зростали рівні цитрату, ізоцитрату та сперміну, що відображало активацію циклу трикарбонових кислот і поліамінового обміну, паралельно зі зміцненням бар'єра та зниженням запальної активності [138]. Подібно, при застосуванні Enteromorpha polysaccharide і дріжджового глікопротеїну відзначалися зміни профілю метаболітів у напрямі активації гліколізу, циклу лимонної кислоти, амінокислотного та нуклеотидного обміну, при одночасному пригніченні синтезу жирних кислот [139]. Це свідчить, що покращення бар'єрної функції тісно асоційоване з перебудовою базового енергетичного метаболізму слизової оболонки.

Окрему роль у забезпеченні кишкової стійкості відіграють мікробні метаболіти. Пробіотик Bacillus subtilis DSM 29784 сприяє утворенню низки біоактивних сполук, зокрема пантотенату, ніацину та гіпоксантину, які мають важливе значення для енергетичного обміну, редокс-рівноваги та підтримання функції епітелію [140]. Пантотенат є попередником коензиму А і бере участь у β-окисненні жирних кислот, ніацин функціонує як універсальний редокс-кофактор, а гіпоксантин підтримує проліферацію та життєздатність ентероцитів. Аналогічно пробіотичні штами B. subtilis стимулюють збільшення кількості корисних бактерій і продуцентів бутирату, що пов'язано з посиленням бар'єрної функції, імунної відповіді та росту бройлерів [141].

Важливими функціональними метаболітами мікробного походження є коротколанцюгові жирні кислоти, насамперед ацетат, пропіонат і бутират. Вони утворюються внаслідок ферментації харчових волокон та інших

доступних субстратів мікробіотою сліпої кишки і виступають ключовими регуляторами кишкового мікросередовища. Бутират є основним енергетичним субстратом для епітеліоцитів і безпосередньо бере участь у підтриманні цілісності слизової оболонки та експресії білків щільних контактів [142]. Додавання до раціону стимбіотика, арабіноксилану або резистентного крохмалю супроводжувалося зростанням концентрації КЛЖК і покращенням слизового та епітеліального бар'єра [143, 144]. Подібний ефект відзначався і при застосуванні комбінації гесперидину, тимолу та розмаринової кислоти, що супроводжувалося підвищенням рівня бутирату й пропіонату та сприятливою перебудовою мікробіоти [50].

Особливу увагу привертає триптофановий метаболізм як важливий компонент імунометаболічної регуляції кишечника. Додавання триптофану до раціону знижує стресове навантаження, покращує цілісність кишкового бар'єра та підтримує імунну функцію [145]. Водночас кишкова мікробіота метаболізує триптофан із утворенням індолу, серотоніну та інших похідних, які модулюють бар'єрну функцію, запалення та нейроендокринну регуляцію. Показано, що дигідросангвінарин посилює триптофановий метаболізм і активує AhR-залежний сигнальний шлях, що супроводжується збільшенням індольних метаболітів, підвищенням IL-10, IL-22, SIgA і MUC2 та покращенням бар'єрної функції кишечника [146]. Отже, триптофанові похідні можуть розглядатися як важливі метаболічні маркери функціонального стану слизової оболонки.

Не менш значущим є обмін аргініну та пов'язані з ним сигнальні механізми. Функціональні амінокислоти, зокрема аргінін, цитрулін, глутамін, лейцин і пролін, здатні регулювати проліферацію ентероцитів, активність білкового синтезу та процеси відновлення епітелію [141]. Додаткове введення аргініну асоціюється з покращенням кишкової бар'єрної функції, особливо за умов теплового стресу [147]. Імунний стрес, навпаки, пригнічує шлях mTOR/P70S6K у клубовій кишці, знижує синтез кишкового серотоніну й порушує функцію слизового бар'єра, що супроводжується зниженням

продуктивності [148]. У цьому аспекті активність mTOR-залежного анаболізму, оксиду азоту та серотонінового метаболізму може розглядатися як додатковий функціональний індикатор бар'єрного стану кишечника.

Перспективними є також показники, пов'язані з антиоксидантним статусом слизової оболонки. За оксидативного стресу спостерігається зниження TEER, зростання проникності для FITC-декстрану та зменшення життєздатності кишкових епітеліоцитів, тоді як функціональні нутрієнти, зокрема триптофан, гліцин, треонін, вітаміни C і E, суттєво послаблюють ці зміни [149]. Хлорогенова кислота знижує вміст $H_2O_2$ та малонового діальдегіду, одночасно підвищуючи експресію генів ZO-1 і occludin, а також маркерів місцевого імунітету [150]. Подібно, модифікований монтморилоніт сприяє зниженню рівнів DAO, D-лактату, NO і MPO, посилює експресію білків щільних контактів та покращує антиоксидантний захист через шлях Nrf2/HO-1 [151]. Таким чином, маркери окисного стресу, зокрема $H_2O_2$, MDA, NO, DAO і D-лактат, є важливими індикаторами метаболічного стану бар'єра.

Значний інтерес становлять фітогенні сполуки та їх мікробні біотрансформаційні продукти. Поліфеноли виноградного походження можуть модулювати мікробіоту, взаємодіяти з муцином і впливати на проникність кишечника [152, 153]. Берберин реалізує свій ефект значною мірою через мікробне перетворення в берберрубін, таліфендин та інші похідні, що корелюють із покращенням морфології ворсинок і зростанням продукції бутирату та ацетату [154]. Байкалін також проявляє позитивний вплив на метаболом слизової оболонки, активуючи шляхи обміну аскорбату, гліоксилату, галактози та ліпідів [60]. Отже, метаболічний профіль біотрансформованих фітогенних сполук може бути інформативним відображенням бар'єрної стабільності кишечника.

Порушення бар'єрної функції супроводжується також суттєвими змінами загального метаболічного профілю організму. За умов ЛПС-індукованого імунного стресу у порожній кишці виявляють значні зміни транскриптома і метаболома, які охоплюють шляхи енергетичного обміну,

засвоєння поживних речовин, апетиту та фероптозу [155]. Тривале застосування антибіотиків призводить до дисбіозу, затримки морфологічного розвитку кишечника, порушення бар'єрної функції та змін імунної відповіді [156]. Інфікування Eimeria spp. також асоціюється з пригніченням генів енергетичного, амінокислотного та вуглеводного обміну, що відображає глибоке метаболічне виснаження епітелію та зниження всмоктувальної здатності кишечника [157].

Таким чином, метаболічні маркери бар'єрної функції кишечника бройлерів охоплюють кілька взаємопов'язаних рівнів. До них належать маркери енергетичного обміну слизової оболонки, зокрема цитрат, ізоцитрат, піруват, гіпоксантин, пантотенат і ніацин; продукти мікробного метаболізму, насамперед коротколанцюгові жирні кислоти та індольні похідні триптофану; показники поліамінового обміну, включаючи спермідин і спермін; індикатори окисного стресу та проникності, такі як $H_2O_2$, MDA, DAO і D-лактат; а також функціонально пов'язані сигнальні шляхи mTOR, AhR, TLR/MAPK/NF-κB, Nrf2/HO-1 і жовчнокислотна регуляція. Сукупна оцінка цих показників дозволяє більш повно охарактеризувати функціональний стан кишкового бар'єра, ніж ізольований аналіз морфологічних чи молекулярних параметрів.

**1.3. Коротколанцюгові та середньоланцюгові жирні кислоти як регулятори бар'єрної функції кишечника бройлерів.** Серед перспективних альтернатив антибіотикам у птахівництві важливе місце займають органічні кислоти, зокрема коротколанцюгові (SCFA) та середньоланцюгові жирні кислоти (MCFA) [158]. SCFA (масляна, оцтова, пропіонова, мурашина) широко застосовуються як кормові добавки завдяки їх здатності модулювати кишковий мікробіом і пригнічувати патогенні мікроорганізми [159, 160]. MCFA (капронова, каприлова, капринова) також проявляють антимікробну активність, зокрема щодо Campylobacter jejuni [161]. Встановлено, що короткі та середні жирні кислоти ефективні проти Salmonella enterica [162].

SCFA відіграють ключову роль у підтриманні бар'єрної функції кишечника, оскільки забезпечують енергією ентероцити та сприяють координації захисних механізмів епітелію [163]. Зокрема, бутират стимулює розвиток коменсальної мікробіоти, продукуючої SCFA, та бере участь у регуляції запальної відповіді [164].

Обмеженням використання вільних органічних кислот є їх переважна активність у проксимальних відділах травного тракту. З метою забезпечення пролонгованої дії по всій довжині кишечника застосовують етерифіковані форми – моногліцериди, які характеризуються pH-незалежною антимікробною активністю та високою біодоступністю [165–167]. Моногліцериди SCFA (зокрема монобутирин) та MCFA здатні порушувати функції бактеріальних мембран і транспортних систем, що забезпечує їх виражену бактерицидну дію щодо грамнегативних патогенів, включаючи Escherichia coli та Salmonella [168].

Крім антимікробного ефекту, моногліцериди безпосередньо впливають на морфофункціональний стан кишечника. Монобутирин використовується ентероцитами як джерело енергії, знижує експресію прозапальних цитокінів, зокрема TNF-α, підтримує структуру щільних контактів і пом'якшує негативний вплив ендотоксинів на слизову оболонку [169]. Моногліцериди MCFA, зокрема монолаурин, додатково проявляють противірусну та протигрибкову активність, що пов'язано з їх здатністю руйнувати ліпідні оболонки мікроорганізмів [170].

Застосування моногліцеридів у раціонах бройлерів асоціюється з покращенням продуктивних показників, зокрема підвищенням середньодобового приросту маси, ефективності використання корму та морфологічних показників кишечника (співвідношення висоти ворсинок до глибини крипт) [171]. Важливо, що моногліцериди селективно впливають на мікробіоту, пригнічуючи патогени та підтримуючи коменсальні бактерії, які здатні використовувати гліцерин як джерело енергії [172]. Окрім антибактеріальної дії, моногліцериди проявляють противірусну активність,

що пов’язано з їх здатністю дестабілізувати вірусні оболонки. Експериментально доведено їх ефективність проти вірусів пташиного грипу, а також інших вірусних патогенів [173].

Таким чином, SCFA, MCFA та їх моногліцеридні форми слід розглядати як багатофункціональні регулятори кишкового гомеостазу, які поєднують антимікробну, метаболічну та імуномодулюючу дію. Їх використання є науково обґрунтованим підходом до підтримання бар’єрної функції кишечника та зниження ризику розвитку дисбіозу й запальних процесів у бройлерів за умов обмеження застосування антибіотиків [174].

### 1.4. Висновки до розділу 1

Бар’єрна функція кишечника курчат-бройлерів є багатокомпонентною системою, що визначається структурною цілісністю епітелію, станом щільних міжклітинних контактів, активністю місцевого імунного захисту, складом мікробіому та особливостями метаболічного мікросередовища кишечника. Порушення цієї системи за дії теплового, інфекційного, імунного, токсичного та аліментарного стресу супроводжується підвищенням проникності слизової оболонки, розвитком локального і системного запалення, дисбіозом, змінами імунних і метаболічних маркерів та, як наслідок, зниженням продуктивності птиці.

Сучасні дані свідчать, що функціональний стан кишкового бар’єра доцільно оцінювати комплексно – за структурними, імунними, мікробіомними та метаболічними показниками. Найбільш інформативними є морфометричні характеристики слизової оболонки, експресія білків міжклітинних контактів, рівні прозапальних цитокінів, показники мікробної рівноваги та спектр мікробних і тканинних метаболітів. Такий підхід дозволяє більш повно відобразити реальний стан кишечника, ніж ізольоване визначення окремих маркерів.

Важливу роль у підтриманні бар’єрної функції кишечника відіграє стабільний кишковий мікробіом, який забезпечує колонізаційну

резистентність, регуляцію імунної відповіді, синтез біологічно активних метаболітів та енергетичну підтримку епітеліоцитів. Особливе значення мають коротколанцюгові жирні кислоти, індольні похідні триптофану, поліаміни, вітаміни та інші низькомолекулярні сполуки, які виступають важливими медіаторами взаємодії між мікробіотою, епітелієм і імунною системою.

Перспективним напрямом профілактики та корекції бар'єрної дисфункції у бройлерів є використання функціональних амінокислот, пробіотиків, пребіотиків, фітобіотиків, полісахаридів, органічних кислот, моногліцеридів, вітамінів та інших біоактивних сполук. Їх застосування сприяє зміцненню епітеліального і слизового бар'єра, зменшенню інтенсивності запалення, оптимізації мікробіому та покращенню метаболічного забезпечення кишечника.

Отже, бар'єрну функцію кишечника слід розглядати як один із центральних інтегративних механізмів, що визначає здоров'я, резистентність і продуктивність курчат-бройлерів. Подальші дослідження мають бути спрямовані на пошук найбільш інформативних біомаркерів бар'єрної стабільності та на розробку ефективних стратегій підтримання кишкового гомеостазу в умовах інтенсивного птахівництва.

# РОЗДІЛ 2
# МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

## 2.1 Загальна схема досліджень

Дисертаційна робота виконана упродовж 2021–2026 рр. на кафедрі фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету (м. Дніпро). Експериментальна частина проведена у виробничих умовах птахофабрики ТОВ «Агро-Овен». Лабораторні дослідження виконані на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК «Biosafety-Center» ДДАЕУ.

Дослідження проведено на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 у період від 0 до 43 доби життя. Птицю утримували відповідно до стандартного технологічного регламенту підприємства з дотриманням параметрів мікроклімату, годівлі та ветеринарно-санітарних вимог. Щільність посадки становила в середньому 21 гол./м².

Для виконання поставлених завдань сформовано контрольну та дослідну групи, співставні за походженням, віком батьківського стада, чисельністю, умовами утримання та схемами базових ветеринарно-профілактичних заходів. Дослідна група включала птицю пташників №30 і №32 (43 971 та 44 370 голів відповідно), контрольна – пташників №29 і №33 (43 973 та 44 771 голів відповідно).

Упродовж перших 15 діб вирощування в обох групах застосовували ідентичну схему профілактичних заходів. Починаючи з 16 доби життя, у дослідній групі до стандартної технологічної схеми було включено препарат IP Enterin C3–C12 (GFA-B) порошок, який застосовували курсами відповідно до технологічного регламенту (2 кг/т корму). У контрольній групі використовували стандартну виробничу схему без застосування GFA-B.

Інші ветеринарні препарати (Аэрофорте, IP Cid, Агривет, Орнитил, Новион) застосовували відповідно до технологічних схем підприємства в обох

групах як елементи фонової профілактики. Основним досліджуваним фактором виступало введення GFA-B, вплив якого оцінювали на тлі ідентичних умов утримання.

Препарат IP Enterin C3–C12 містить: моногліцериди – 31 %, дигліцериди – 18 %, тригліцериди – 1 %, гліцерин – 14 %; до складу входять етерифіковані гліцерином коротко- та середньоланцюгові жирні кислоти (пропіонова, масляна, каприлова, капринова, лауринова).

Для лабораторних досліджень формували групи птиці комплексного дослідження: для гематологічних і біохімічних досліджень: n = 10 у кожній групі (2-й, 3-й, 4-й, 5-й та 6-й тиждень життя) відбирали цільну кров стабілізовану 10 % розчином ЕДТА та окремо кров без антикоагулянту для подальшого отримання сироватки; для мікробіологічного аналізу: n = 6 голів (2-й, 3-й, 4-й, 5-й та 6-й тиждень життя); для дослідження мікробіому та молекулярних маркерів: n = 6 голів (2-й, 3-й, 4-й, 5-й та 6-й тиждень життя курчат), яких піддавали евтаназії.

## 2.2. Використані методи досліджень

**2.2.1. Молекулярно-генетичні та імунохімічні дослідження.** Аналіз експресії генів, що кодують E-cadherin, Occludin, TNF-α та IFN-γ, проводили методом одноетапної кількісної полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в реальному часі (RT-qPCR). Для детекції продуктів ампліфікації використовували флуоресцентний барвник Cyber Green. Послідовності специфічних олігонуклеотидних праймерів для цільових генів було взято з літературних джерел (Varasteh et al., 2015; Shao et al., 2013; Sarker et al., 2021).

Джерелом для екстракції тотальної РНК слугували ті самі фрагменти порожньої кишки курчат-бройлерів, які використовували для аналізу методом Western blot. Екстракцію РНК виконували за допомогою комерційного набору реагентів BioExtract® SuperBall® (BioSellal, Франція) на автоматизованій станції PurePrep96. Зворотну транскрипцію та подальшу ампліфікацію

проводили в одній реакційній суміші з використанням набору One-step NZYSpeedy RT-qPCR Green kit (Nzytech, Португалія) відповідно до інструкції виробника. Реакцію здійснювали на ампліфікаторі з детекцією в реальному часі Biorad CFX96.

Відносний рівень експресії мРНК кожного цільового гена розраховували за порівняльним методом ΔΔCt і виражали як $2^{-}$ΔΔCt. Як референсний ген використовували β-актин.

Статистичну обробку отриманих даних виконували із застосуванням непараметричних методів. Для оцінки взаємозв'язків між показниками імунної відповіді та бар'єрної функції кишечника проводили кореляційний аналіз нормалізованих значень експресії генів. Силу та напрямок зв'язку оцінювали за непараметричним коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (Spearman r). Інтерпретацію отриманих коефіцієнтів здійснювали за абсолютним значенням |r|: слабкий зв'язок вважали при $|r| < 0,40$, помірний – у діапазоні 0,41–0,60, сильний – при значеннях $\geq 0,61$. Позитивні значення r трактували як прямий зв'язок, а негативні - як обернений. У всіх випадках рівень статистичної значущості приймали при $p<0,05$.

Вміст молекулярних маркерів E-cadherin, Occludin, TNF-α та IFN-γ у клітинах тонкого кишечника визначали методом Вестерн-блот (Western blot, WB). Коротко: зразки тонкого кишечника гомогенізували у 25 mM трис буфері, який містив 0,8% Тритон X100, 0.2% додецилсульфат натрію, 150 mM хлориду калію, 0,01% азиду натрія та суміш інгібіторів протеаз і фосфатаз. Гомогенати центрифугували, відбирали супернатанти. Загальну концентрацію білка в кожному екстракті визначали за методом Бредфорд (Bradford, 1976). Отримані екстракти змішували з буфером Леммлі та розділяли за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) з градієнтом концентрації 5–20 % (Tykhomyrov et al., 2020). Перенесення білків на полівініліденфторидну (PVDF) мембрану здійснювали під дією електричного струму силою 250 мА протягом 50 хвилин. Для блокування неспецифічного зв'язування мембрану обробляли 1 % розчином бичачого сироваткового альбуміну (БСА) у

фосфатно-сольовому буфері (PBS). Після блокування кожну мембрану інкубували з одним із нижчезазначених первинних антитіл: анти-E-cadherin (Santa Cruz, sc-271842), анти-occludin (Santa Cruz, sc-8422), анти-TNF-α (Abcam, ab191903) та анти-IFN-γ (Santa Cruz, sc-74104) у розведенні 1:1000. Після 14-годинної інкубації за температури 4 °C мембрани відмивали в PBS та обробляли вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрону: анти-мишачими (Abcam, ab6789) або анти-кролячими (Abcam, ab205718), залежно від типу первинних антитіл. Після цього мембрани тричі промивали в PBS. Результати візуалізували методом посиленої хемілюмінесценції (ECL) з використанням рентгенівської плівки (Konica, Японія). Проявлені плівки сканували та аналізували за допомогою програмного забезпечення Image2000 (США). Інтенсивність забарвлення білкових смуг у контрольній групі приймали за 100 %. Відмінності показників у групі, що зазнавала впливу GFA-B, розраховували відносно контролю та виражали у відсотках.

**2.2.2. Дослідження стану мікробіому.** Оцінку структури мікробіому кишечника здійснювали за показниками альфа- та бета-різноманіття, а також таксономічного складу мікробних угруповань.

Екстракцію загальної бактеріальної ДНК зі зразків фекалій курчат-бройлерів здійснювали з використанням комерційного набору для виділення ДНК із біологічних зразків відповідно до інструкцій виробника. Протокол включав етап механічного лізису для ефективного руйнування клітин грампозитивних бактерій. Концентрацію та якість виділеної ДНК оцінювали спектрофотометрично на приладі NanoDrop. До подальшої роботи допускали зразки з достатньою концентрацією ДНК та без ознак деградації.

Бібліотеки для секвенування готували відповідно до протоколу «16S Barcoding Kit» (Oxford Nanopore Technologies). Ампліфікацію фрагментів гена 16S рРНК проводили з використанням універсальних праймерів до гіперваріабельних ділянок V3–V4. Секвенування виконували на платформі MinION (Oxford Nanopore Technologies). Первинну обробку даних, яка включала базове визначення нуклеотидів (base calling), оцінку якості в

реальному часі та демультиплексування за баркодами, здійснювали за допомогою вбудованого програмного забезпечення MinKNOW. Конвертацію та подальшу обробку отриманих сигналів проводили програмою Guppy (Oxford Nanopore Technologies).

Подальшу біоінформатичну обробку отриманих послідовностей проводили в середовищі QIIME2. Контроль якості включав фільтрацію низькоякісних прочитів, видалення адаптерних послідовностей і химер, а також денойзинг. Таксономічну ідентифікацію здійснювали на основі порівняння з референсною базою даних SILVA з визначенням таксонів до рівня роду або виду за максимально можливої роздільної здатності.

Для характеристики альфа-різноманіття мікробних спільнот розраховували індекси Шеннона та Сімпсона (1–D), які відображають видове багатство та рівномірність розподілу таксонів. Бета-різноманіття оцінювали за метрикою Брея-Кертіса (Bray–Curtis) з подальшою ординацією методом головних координат (PCoA). Статистичну значущість відмінностей у структурі мікробіому між контрольною та дослідною групами визначали за допомогою непараметричних методів: критерій Манна-Уїтні використовували для порівняння показників альфа-різноманіття, метод PERMANOVA – для аналізу бета-різноманіття. Для виявлення таксонів, асоційованих із груповою належністю, застосовували метод LEfSe (Linear Discriminant Analysis Effect Size) з пороговим значенням LDA > 2,0.

Відносну чисельність окремих бактеріальних таксонів виражали у відсотках та порівнювали між групами. У всіх статистичних тестах рівень значущості приймали при $p<0,05$.

**2.2.3. Гематологічні та біохімічні дослідження.** Кількість еритроцитів, лейкоцитів, гематокрит та вміст гемоглобіну визначали у стабілізованій $K_3$EDTA крові за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора PCV-80 Vet. Лейкограму визначали у мазках крові, забарвлених за Паппенгеймом.

У сироватці крові на автоматичному біохімічному аналізаторі BA-400 BioSystems (Іспанія) з використанням сертифікованих наборів реагентів (Monlab, Cormay) визначали: загальний білок, альбуміни, сечовину, креатинін, глюкозу, загальний кальцій, неорганічний фосфор. Активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази визначали кінетичним методом, лужної фосфатази – за швидкістю утворення 4-нітрофенолу.

**2.2.4. Статистичний аналіз.** Обробку результатів виконували з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 10. Дані перевіряли на нормальність розподілу (Shapiro–Wilk). Для оцінки достовірності відмінностей використовували t-критерій Стьюдента або дисперсійний аналіз (ANOVA). Результати представлені як M ± SD. Різницю вважали статистично значущою при $p<0,05$.

**2.2.5. Етичні аспекти.** Усі експериментальні процедури виконували з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3447-IV та положень Європейської конвенції (Страсбург, 1986) і були схвалені комісією з біоетики ДДАЕУ (*Додаток Д*).

### 2.3. Узагальнення до матеріалів і методів досліджень

Обраний комплекс методів дослідження охоплює ключові ланки оцінки стану кишечника курчат-бройлерів. Молекулярно-генетичні методи (RT-qPCR) та імунохімічний аналіз (Western blot) дозволяють кількісно охарактеризувати експресію генів і вміст білків, залучених до регуляції запальної відповіді та підтримання цілісності епітеліального бар'єра. Секвенування гена 16S рРНК дає змогу оцінити таксономічний склад і різноманіття мікробіому, що доповнює картину функціонального стану кишечника. Гематологічні та біохімічні показники крові відображають загальний фізіологічний статус організму птиці. Поєднання цих підходів забезпечує різнобічну характеристику досліджуваних зразків і дозволяє оцінити ефекти досліджуваного чинника як на місцевому рівні (кишечник), так і на рівні цілісного організму.

# РОЗДІЛ 3
# РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

## 3.1. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів бар'єрної та імунної функцій у курчат-бройлерів

### 3.1.1. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B

Проведеними дослідженнями встановлено, що у курчат контрольної групи рівень експресії мРНК E-cadherin у порожній кишці упродовж 2–6 тижнів життя залишався стабільним і коливався в межах 1,00–1,02 ум. од. (рис. 3.1), що відповідало змінам не більше 2,0% та не супроводжувалося статистично вірогідною віковою динамікою (p>0,05).

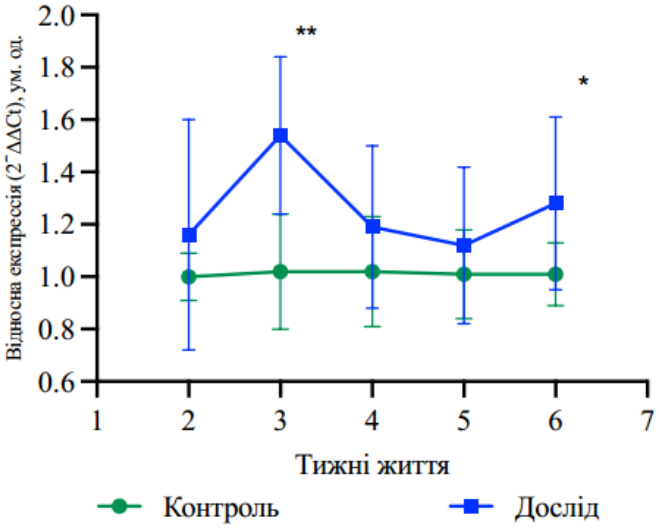


Рис. 3.1. Рівень експресії мРНК *E-cadherin* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2−ΔΔCt; M±SD; n=6).

**Примітка.** 1. Рівень експресії мРНК цього і наступних маркерів визначений методом RT-qPCR та виражений як 2^−ΔΔCt. 2. Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: * – P ≤ 0,05, ** – P ≤ 0,01.

У дослідній групі за дії GFA-B встановлено чітку віковозалежну динаміку експресії мРНК E-cadherin у порожній кишці. На 2-му тижні життя її рівень становив 1,16±0,44 ум. од. і був більшим на 16,0% порівняно з контролем (p=0,2093). На 3-му тижні життя експресія мРНК E-cadherin у

дослідній групі зростала до 1,54±0,30 ум. од. і була більшою на 51,0% порівняно з контролем (p=0,0033). Порівняно з 2-м тижнем у межах дослідної групи спостерігалося додаткове зростання на 32,8% (p<0,05). На 4-му тижні життя рівень експресії у дослідній групі знижувався до 1,19±0,31 ум. од., що відповідало зменшенню на 22,7% порівняно з 3-м тижнем (p>0,05), однак залишався більшим на 16,7% відносно контролю (p=0,1415). На 5-му тижні життя експресія мРНК E-cadherin у дослідній групі дещо зменшувалася до 1,12±0,30 ум. од. (зменшення на 5,9% порівняно з 4-м тижнем; p>0,05) і залишалася більшою на 10,9% порівняно з контролем (p=0,2301). На 6-му тижні життя рівень експресії знову підвищувався до 1,28±0,33 ум. од., що відповідало зростанню на 14,3% порівняно з 5-м тижнем (p<0,05) і було більшим на 26,7% відносно контрольних значень (p=0,0393).

Таким чином, дія GFA-B супроводжується хвилеподібною динамікою експресії мРНК E-cadherin у порожній кишці курчат-бройлерів, із різким транзиторним підвищенням на 3-му тижні, подальшим зниженням на 4–5-му тижнях та повторним статистично вірогідним зростанням на 6-му тижні життя.

Поряд з тим, вміст білка E-cadherin *cadherin* у порожній кишці курчат-бройлерів контрольної групи упродовж 2–6 тижнів життя мав помірну вікову динаміку і змінювався в межах 98,2–105,9 ум. од.(рис. 3.2). На 3-му тижні відмічалося підвищення до 105,9±4,51 ум. од. (зростання на 5,9% порівняно з 2-м тижнем; p>0,05), після чого показник залишався близьким на 4–5-му тижнях (105,4±5,62 та 104,0±5,94 ум. од.) і знижувався на 6-му тижні до 98,2±8,22 ум. од. (зменшення на 5,6% порівняно з 5-м тижнем; p>0,05).

У дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні вміст білка E-cadherin у порожній кишці становив 100,5±6,17 ум. од. і був більшим на 0,5% порівняно з контролем, без статистичної вірогідності (p=0,4188). Починаючи з 3-го тижня життя встановлено різке та стійке підвищення показника: на 3-му тижні вміст E-cadherin у дослідній групі дорівнював 135,8±6,37 ум. од. і був більшим на 28,2% порівняно з контролем (p<0,001). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 35,1% порівняно з 2-м тижнем (p<0,001). На 4-му

тижні життя вміст білка підвищувався до 144,5±5,17 ум. од. і був більшим на 37,1% порівняно з контролем (p<0,001) (додаткове зростання на 6,4% порівняно з 3-м тижнем; p<0,05). На 5-му тижні рівень залишався високим (136,6±4,50 ум. од.) і був більшим на 31,3% відносно контролю (p<0,001) (зменшення на 5,5% порівняно з 4-м тижнем; p<0,05). На 6-му тижні показник становив 124,9±4,79 ум. од. і залишався більшим на 27,2% порівняно з контролем (p<0,001) (зменшення на 8,6% порівняно з 5-м тижнем; p<0,05).

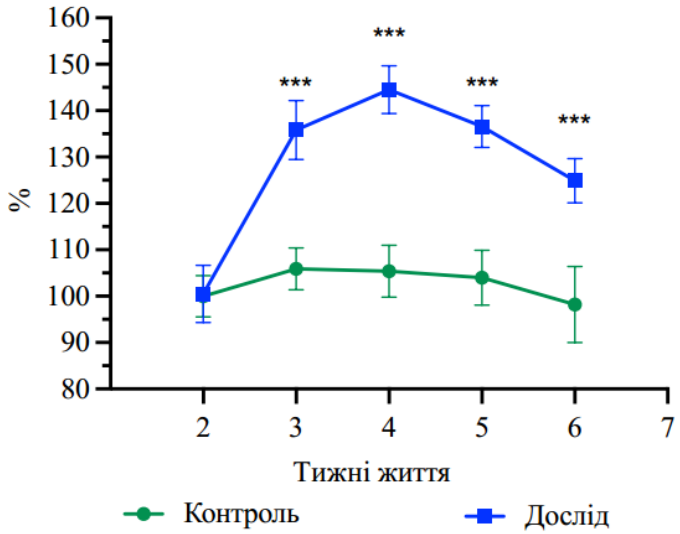


Рис. 3.2. Вміст білка *E-cadherin* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – P ≤ 0,001.

Таким чином, дія GFA-B зумовлює виражене та тривале підвищення вмісту білка E-cadherin у порожній кишці курчат-бройлерів, яке проявляється з 3-го тижня життя і зберігається до завершення спостереження.

У курчат-бройлерів контрольної групи виявлено сильний позитивний кореляційний зв’язок між рівнем експресії мРНК E-cadherin та вмістом цього білка у порожній кишці без часової затримки, що підтверджується високими значеннями коефіцієнтів як Спірмана (ρ = 0,90; p<0,05), так і Пірсона (r = 0,91; p<0,05). Це свідчить про тісну узгодженість транскрипційного та білкового рівнів регуляції E-cadherin у фізіологічних умовах. Водночас кореляція зі зсувом у часі на один тиждень (t → t+1) у контрольній групі була слабкою та

негативною (ρ = −0,20), що вказує на відсутність відкладеного ефекту між змінами мРНК і накопиченням білка (табл. 3.1). Тоді, як у дослідній групі за дії GFA-B характер кореляційних зв'язків істотно змінювався. Без часової затримки кореляція між мРНК і білком E-cadherin була відсутньою або слабкою (ρ = −0,10; r = 0,22), що свідчить про порушення прямої синхронності між транскрипційним і білковим рівнями. Натомість при аналізі зі зсувом у часі на один тиждень (t → t+1) виявлено ідеальний позитивний монотонний зв'язок (ρ = 1,00; p<0,01), що вказує на наявність чітко вираженої часової затримки між змінами експресії мРНК E-cadherin та накопиченням відповідного білка у тканині порожньої кишки.

*Таблиця 3.1.*

Кореляційні зв'язки між експресією мРНК *E-cadherin* та вмістом цього білка у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | 0,90* | -0,20 | 0,91* |
| Дослід | -0,10 | 1,00*** | 0,22 |

***Примітка.*** *1. Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності. 2. Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя (n = 5 пар спостережень; для аналізу зі зсувом у часі t→t+1 – n = 4). Для коефіцієнта кореляції Пірсона критичне значення при n = 5 (df = 3) становить |r| ≥ 0,878 (p<0,05). Для коефіцієнта кореляції Спірмана при n = 5 критичне значення становить |ρ| ≥ 0,90 (p<0,05), а при n = 4 статистично значущим є лише ідеальний монотонний зв'язок (|ρ| = 1,00). У зв'язку з малою кількістю спостережень кореляційні коефіцієнти інтерпретували переважно з позицій сили та напрямку зв'язку.*

Таким чином, у контрольних умовах реалізація експресії E-cadherin відбувається переважно без часової затримки, тоді як за дії GFA-B встановлено перехід до відкладеного типу регуляції, що може свідчити про залучення посттранскрипційних механізмів контролю синтезу або стабільності білка E-cadherin.

Як видно з рис. 3.3, рівень експресії мРНК Occludin у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2^−ΔΔCt; M±SD; n=6). У контрольній групі рівень експресії мРНК Occludin упродовж 2–6 тижнів життя залишався стабільним і змінювався в межах 1,00–1,03 ум. од., що відповідало коливанням не більше 3,0% і не супроводжувалося статистично вірогідною віковою динамікою (p>0,05).

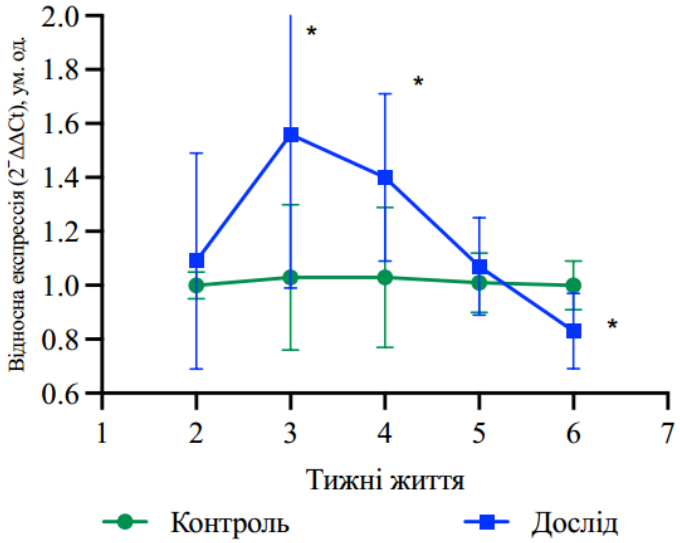


Рис. 3.3. Рівень експресії мРНК *Occludin* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2−ΔΔCt; M±SD; n=6).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: * – P ≤ 0,05.

У дослідній групі за дії GFA-B виявлено виражену віковозалежну динаміку експресії мРНК Occludin у порожній кишці. На 2-му тижні життя її рівень становив 1,09±0,40 ум. од. і був більшим на 9,0% порівняно з контролем, однак без статистичної вірогідності (p=0,2959). На 3-му тижні життя експресія мРНК Occludin у дослідній групі зростала до 1,56±0,57 ум. од. і була більшою на 51,5% порівняно з контрольними значеннями (1,03±0,27; p=0,0331). Порівняно з 2-м тижнем у межах дослідної групи спостерігалося додаткове зростання на 43,1% (p<0,05). На 4-му тижні життя рівень експресії у дослідній групі знижувався до 1,40±0,31 ум. од., що відповідало зменшенню на 10,3% порівняно з 3-м тижнем (p>0,05), проте залишався більшим на 35,9% відносно контролю (1,03±0,26; p=0,0235). На 5-му тижні життя експресія

мРНК Occludin у дослідній групі становила 1,07±0,18 ум. од. і була більшою на 5,9% порівняно з контролем, без статистично вірогідних відмінностей (p=0,2382). Водночас порівняно з 4-м тижнем відмічалося зменшення на 23,6% (p<0,05). На 6-му тижні життя рівень експресії мРНК Occludin у дослідній групі знижувався до 0,83±0,14 ум. од. і був меншим на 17,0% порівняно з контрольними значеннями (1,00±0,09; p=0,0158). При цьому відносно 5-го тижня відмічалося додаткове зменшення на 22,4% (p<0,05).

Таким чином, дія GFA-B зумовлює виражену хвилеподібну динаміку експресії мРНК Occludin у порожній кишці курчат-бройлерів із різким транзиторним підвищенням на 3-му тижні, поступовим зниженням у подальші періоди та статистично вірогідним пригніченням експресії на 6-му тижні життя.

Встановлено, що у контрольній групі курчат-бройлерів вміст білка Occludin упродовж 2–6 тижнів життя змінювався незначно і коливався в межах 100,1–105,2 ум. од. (рисю 3.4), що відповідало віковим змінам не більше 5,1% і не супроводжувалося статистично вірогідною динамікою (p>0,05).

У дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні життя вміст білка Occludin становив 100,0±6,83 ум. од. і практично не відрізнявся від контролю (менше на 0,1%; p=0,4860). Починаючи з 3-го тижня життя виявлено різке та статистично вірогідне підвищення вмісту білка. Так, на 3-му тижні життя рівень Occludin у дослідній групі зростав до 139,5±6,08 ум. од. і був більшим на 35,2% порівняно з контролем (103,2±6,07 ум. од.; p<0,001). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 39,5% порівняно з 2-м тижнем (p<0,001). На 4-му тижні життя вміст білка Occludin у дослідній групі дещо знижувався до 135,4±4,58 ум. од., однак залишався більшим на 28,7% порівняно з контролем (105,2±7,42 ум. од.; p<0,001) (зменшення на 2,9% відносно 3-го тижня; p>0,05). На 5-му тижні життя рівень Occludin у дослідній групі знову зростав до 136,8±7,18 ум. од. і був більшим на 30,9% порівняно з контролем (104,5±6,93 ум. од.; p<0,001) (зростання на 1,0% відносно 4-го тижня; p>0,05). На 6-му тижні життя вміст білка Occludin у дослідній групі

знижувався до 122,2±5,88 ум. од., однак залишався більшим на 16,3% порівняно з контрольними значеннями (105,1±6,08 ум. од.; p<0,001). При цьому відносно 5-го тижня відмічалося зменшення на 10,7% (p<0,05).

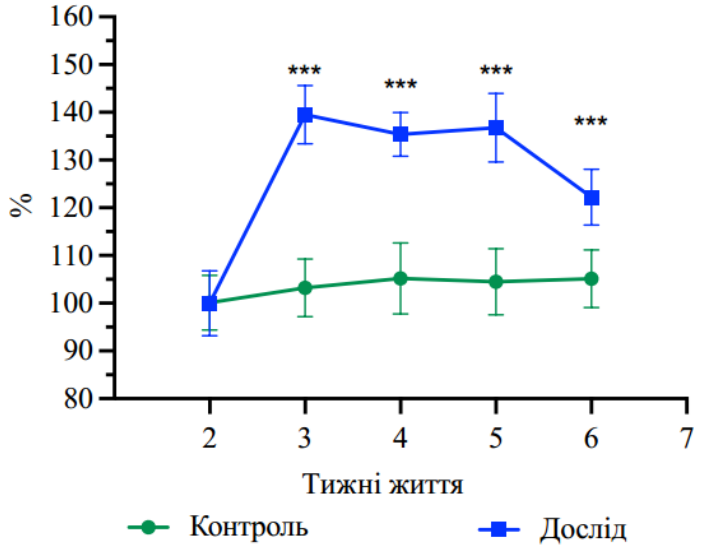


Рис. 3.4. Вміст білка *Occludin* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – P ≤ 0,001.

Таким чином, дія GFA-B спричиняє виражене та тривале підвищення вмісту білка Occludin у порожній кишці курчат-бройлерів, із максимальним ефектом на 3–5-му тижнях життя та частковим зниженням показника на 6-му тижні.

Проведеними дослідженнями встановлено, що у контрольній групі тварин між рівнем експресії мРНК Occludin та вмістом цього білка у порожній кишці є помірний позитивний монотонний зв’язок без часової затримки (ρ = 0,60), що свідчить про часткову узгодженість транскрипційного та білкового рівнів регуляції (табл. 3.2). Кореляція зі зсувом у часі на один тиждень була слабшою (ρ = 0,40), а лінійна залежність за коефіцієнтом Пірсона мала низьку силу (r = 0,36), що вказує на відсутність жорсткої лінійної синхронізації між мРНК і білком Occludin у фізіологічних умовах.

*Таблиця 3.2.*

Кореляційні зв’язки між експресією мРНК *Occludin* та вмістом цього білка у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | 0,60 | 0,40 | 0,36 |
| Дослід | 0,50 | 0,20 | 0,51 |

***Примітка.*** *Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності.*

У дослідній групі за дії GFA-B кореляційні зв’язки між експресією мРНК Occludin та вмістом білка мали помірний характер. Без часової затримки встановлено позитивну кореляцію середньої сили (ρ = 0,50), тоді як зі зсувом у часі на один тиждень вона зменшувалася до слабкого рівня (ρ = 0,20). Коефіцієнт кореляції Пірсона (r = 0,51) свідчив про помірну лінійну залежність між показниками, однак без чітких ознак часово зсунутої узгодженості.

Таким чином, на відміну від E-cadherin, для Occludin як у контрольній, так і в дослідній групах характерна неповна та варіабельна узгодженість між транскрипційним і білковим рівнями. Це може відображати більш складну регуляцію експресії Occludin, що включає значну роль посттранскрипційних механізмів, ремоделювання tight junction-комплексів і залежність від локального мікросередовища кишкової стінки.

Як показано на рис. 3.5. рівень експресії мРНК TNF-α у порожній кишці упродовж 2–6 тижнів життя курчат-бройлерів контрольної групи залишався відносно стабільним і коливався в межах 1,00–1,02 ум. од., що відповідало змінам не більше 2,0% та не супроводжувалося статистично вірогідною віковою динамікою (p>0,05).

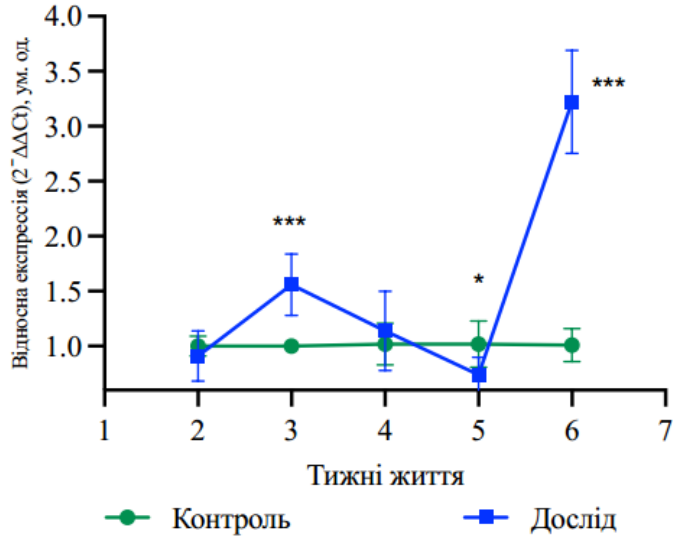


Рис. 3.5. Рівень експресії мРНК *TNF-α* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B ($2^{-\Delta\Delta Ct}$; M±SD; n=6).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: * – $P \leq 0,05$, *** – $P \leq 0,001$.

У дослідній групі за дії GFA-B виявлено виражену фазну та різноспрямовану динаміку експресії мРНК TNF-α у порожній кишці. На 2-му тижні життя її рівень становив 0,91±0,23 ум. од. і був меншим на 9,0% порівняно з контролем, однак без статистичної вірогідності (p=0,1764). На 3-му тижні життя експресія мРНК TNF-α у дослідній групі різко зростала до 1,56±0,28 ум. од. і була більшою на 56,0% порівняно з контролем (p=0,0004). Порівняно з 2-м тижнем у межах дослідної групи відмічалося зростання на 71,4% (p<0,001). На 4-му тижні життя рівень експресії знижувався до 1,14±0,36 ум. од., що відповідало зменшенню на 26,9% порівняно з 3-м тижнем (p<0,05), проте залишався більшим на 11,8% відносно контролю (p=0,2293).На 5-му тижні життя експресія мРНК TNF-α у дослідній групі зменшувалася до 0,74±0,16 ум. од. і була меншою на 27,5% порівняно з контрольними значеннями (p=0,0148). Водночас відносно 4-го тижня спостерігалося додаткове зменшення на 35,1% (p<0,01). На 6-му тижні життя зафіксовано різке підвищення експресії мРНК TNF-α у дослідній групі до 3,22±0,47 ум. од., що було більше на 218,8% порівняно з контролем (p=3,0×10^−7). Порівняно з 5-м тижнем експресія зростала на 335,1% (p<0,001).

Таким чином, дія GFA-B зумовлює різко виражену хвилеподібну динаміку експресії мРНК TNF-α у порожній кишці курчат-бройлерів, що проявляється транзиторною активацією на 3-му тижні, подальшим пригніченням на 5-му тижні та різкою гіперактивацією на 6-му тижні життя.

Встановлено, що у контрольній групі курчат вміст білка TNF-α у порожній кишці упродовж 2–6 тижнів життя мав виражену вікову динаміку і змінювався в межах 100,0–170,4 ум. од. На 3-му тижні показник підвищувався до 142,2±7,32 ум. од. (було більше на 42,2% порівняно з 2-м тижнем; $p<0,001$), а максимальні значення реєстрували на 4-му тижні – 170,4±10,05 ум. од. (було більше на 19,8% порівняно з 3-м тижнем; $p<0,001$). Надалі рівень TNF-α знижувався до 141,4±7,41 ум. од. на 5-му тижні (було менше на 17,0% порівняно з 4-м тижнем; $p<0,001$) та до 124,5±6,98 ум. од. на 6-му тижні (було менше на 11,9% порівняно з 5-м тижнем; $p<0,05$).

У дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні життя вміст білка TNF-α у порожній кишці становив 100,0±6,16 ум. од. і не відрізнявся від контролю (0,0%; $p=0,5000$). Починаючи з 3-го тижня життя виявлено стійке та статистично вірогідне зниження вмісту TNF-α порівняно з контролем. Так, на 3-му тижні життя рівень TNF-α у дослідній групі становив 106,3±6,15 ум. од. і був меншим на 25,2% порівняно з контролем (142,2±7,32 ум. од.; $p<0,001$). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 6,3% порівняно з 2-м тижнем ($p>0,05$). На 4-му тижні життя вміст білка TNF-α у дослідній групі дорівнював 103,7±5,40 ум. од. і був меншим на 39,1% порівняно з контролем (170,4±10,05 ум. од.; $p<0,001$) (зменшення на 2,4% порівняно з 3-м тижнем; $p>0,05$). На 5-му тижні життя рівень TNF-α у дослідній групі становив 105,4±9,08 ум. од. і був меншим на 25,5% порівняно з контролем (141,4±7,41 ум. од.; $p<0,001$) (зростання на 1,6% порівняно з 4-м тижнем; $p>0,05$). І на 6-му тижні життя вміст TNF-α у дослідній групі залишався на рівні 103,7±9,84 ум. од. і був меншим на 16,7% порівняно з контролем (124,5±6,98 ум. од.; $p<0,001$) (зменшення на 1,6% відносно 5-го тижня; $p>0,05$).

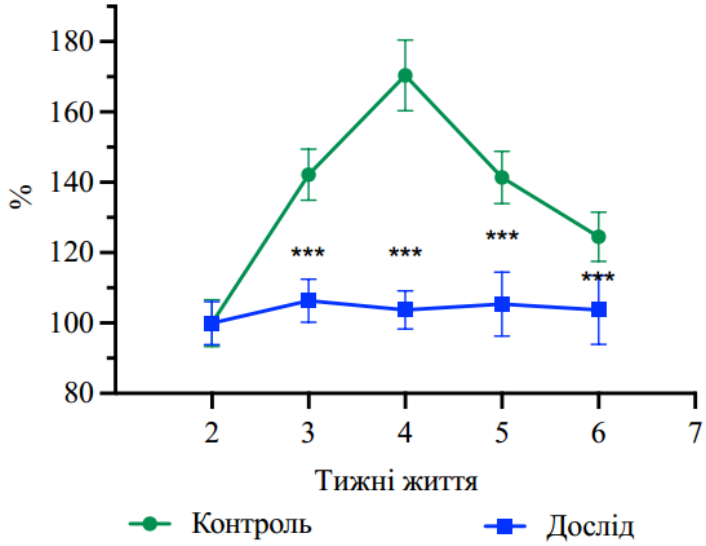


Рис. 3.6. Вміст білка *TNF-α* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – $P \leq 0{,}001$.

Таким чином, дія GFA-B асоціюється з вираженим та тривалим пригніченням вмісту прозапального білка TNF-α у порожній кишці курчат-бройлерів у віці 3–6 тижнів, тоді як на 2-му тижні міжгрупових відмінностей не встановлено.

Встановлено, що у порожній кишці поросят контрольної групи між рівнем експресії мРНК TNF-α та вмістом цього білка без часової затримки виявлено слабкий позитивний монотонний зв'язок ($\rho = 0{,}20$), що свідчить про низьку узгодженість транскрипційного та білкового рівнів регуляції (табл. 3.3). Водночас при аналізі зі зсувом у часі на один тиждень ($t \rightarrow t+1$) встановлено ідеальний негативний монотонний зв'язок ($\rho = -1{,}00$; $p<0{,}05$), який вказує на чітко виражену інверсну часову залежність між змінами експресії мРНК TNF-α та накопиченням відповідного білка. Коефіцієнт кореляції Пірсона у контрольній групі мав помірне значення ($r = 0{,}56$), що свідчить про наявність певної лінійної тенденції, однак без чіткої часової синхронізації.

*Таблиця 3.3.*

Кореляційні зв’язки між експресією мРНК *TNF-α* та вмістом цього білка у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | 0,20 | -1,00* | 0,56 |
| Дослід | 0,10 | -0,11 | 0,11 |

***Примітка.*** *Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності.*

У дослідній групі тварин за дії GFA-B кореляційні зв’язки між експресією мРНК TNF-α та вмістом білка були слабкими або відсутніми. Без часової затримки коефіцієнт Спірмана становив ρ = 0,10, а зі зсувом у часі – ρ = −0,11, що свідчить про відсутність як миттєвої, так і відкладеної монотонної залежності між показниками. Коефіцієнт Пірсона також був низьким (r = 0,11), що підтверджує відсутність стабільної лінійної взаємозалежності між транскрипційним та білковим рівнями TNF-α за умов дії GFA-B.

Таким чином, для TNF-α у порожній кишці характерна відсутність прямої узгодженості між рівнями мРНК і білка, а у контрольній групі виявляється навіть інверсний відкладений зв’язок, що може відображати активні механізми посттранскрипційної регуляції, швидку деградацію мРНК або білка та залучення додаткових регуляторних контурів запальної відповіді. За дії GFA-B ці кореляційні зв’язки додатково дестабілізуються, що свідчить про суттєве перепрограмування механізмів реалізації сигналів TNF-α на рівні кишкової стінки.

Встановлено, що рівень експресії мРНК IFN-γ у порожній кишці упродовж 2–6 тижнів життя курчат контрольної групи характеризувався помірною віковою динамікою та змінювався в межах 1,01–1,06 ум. од. (рис. 3.7), що відповідало коливанням до 5,0% і не супроводжувалося статистично вірогідними міжвіковими відмінностями (p>0,05).

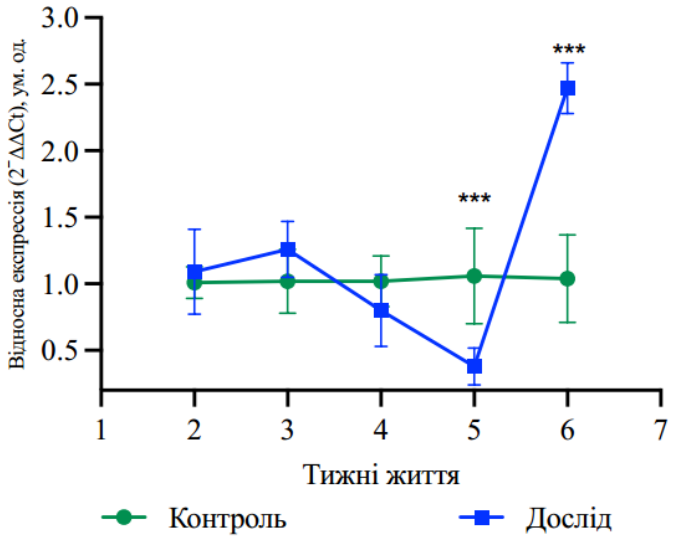


Рис. 3.7. Рівень експресії мРНК *IFN-γ* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2−ΔΔCt; M±SD; n=6).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – $P \leq 0{,}001$.

У дослідній групі за дії GFA-B встановлено різко виражену фазну та різноспрямовану динаміку експресії мРНК IFN-γ. На 2-му тижні життя її рівень становив 1,09±0,32 ум. од. і був більшим на 7,9% порівняно з контролем, однак без статистичної вірогідності (p=0,2753). На 3-му тижні життя експресія мРНК IFN-γ у дослідній групі зростала до 1,26±0,21 ум. од. і була більшою на 23,5% порівняно з контролем (p=0,0506 – гранична вірогідність). Порівняно з 2-м тижнем у межах дослідної групи відмічалося зростання на 15,6% (p>0,05). На 4-му тижні життя рівень експресії у дослідній групі знижувався до 0,80±0,27 ум. од. і був меншим на 21,6% порівняно з контролем (p=0,0651). Водночас відносно 3-го тижня відмічалося зменшення на 36,5% (p<0,05). На 5-му тижні життя експресія мРНК IFN-γ у дослідній групі різко пригнічувалася до 0,38±0,14 ум. од. і була меншою на 64,2% порівняно з контрольними значеннями (p=0,0007). Порівняно з 4-м тижнем відмічалося додаткове зменшення на 52,5% (p<0,01). На 6-му тижні життя зафіксовано різке та статистично високовірогідне підвищення експресії мРНК IFN-γ у дослідній групі до 2,47±0,19 ум. од., що було більше на 137,5%

порівняно з контролем (p=2,0×10^−6). Водночас порівняно з 5-м тижнем експресія зростала на 550,0% (p<0,001).

Таким чином, дія GFA-B зумовлює надзвичайно виражену хвилеподібну динаміку експресії мРНК IFN-γ у порожній кишці курчат-бройлерів, що проявляється помірною активацією на 3-му тижні, глибоким пригніченням на 4–5-му тижнях та різкою гіперактивацією на 6-му тижні життя.

У контрольній групі курчат-бройлерів вміст білка IFN-γ у порожній кишці упродовж 2–6 тижнів життя характеризувався відносною стабільністю та змінювався в межах 100,0–106,8 ум. од. (рис. 3.8). На 3-му тижні спостерігалося помірне підвищення до 106,0±6,68 ум. од. (було більше на 6,0% порівняно з 2-м тижнем; p>0,05), після чого показник залишався близьким на 4–6-му тижнях (105,5–106,8 ум. од.), без статистично вірогідної вікової динаміки (p>0,05).

Поряд з цим, у дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні життя вміст білка IFN-γ у порожній кишці становив 100,0±5,52 ум. од. і не відрізнявся від контролю (p=0,5000). Починаючи з 3-го тижня життя виявлено різке та статистично вірогідне підвищення показника. Так, на 3-му тижні життя вміст IFN-γ у дослідній групі зростав до 200,4±11,62 ум. од. і був більшим на 89,1% порівняно з контролем (106,0±6,68 ум. од.; p<0,001). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 100,4% порівняно з 2-м тижнем (p<0,001). На 4-му тижні життя рівень IFN-γ знижувався до 182,3±5,62 ум. од., проте залишався більшим на 70,7% порівняно з контролем (106,8±6,51 ум. од.; p<0,001) (зменшення на 9,0% порівняно з 3-м тижнем; p<0,05). На 5-му тижні життя вміст білка зменшувався до 149,7±8,58 ум. од. і був більшим на 41,6% відносно контролю (105,7±7,78 ум. од.; p<0,001) (зменшення на 17,9% порівняно з 4-м тижнем; p<0,01). На 6-му тижні життя рівень IFN-γ у дослідній групі становив 133,8±5,55 ум. од. і залишався більшим на 26,8% порівняно з контролем (105,5±8,75 ум. од.; p<0,001). Водночас відносно 5-го тижня відмічалося додаткове зменшення на 10,6% (p<0,05).

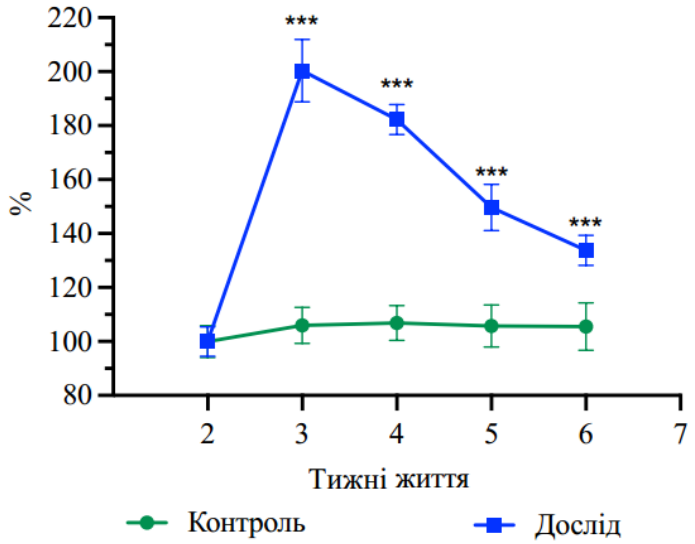


Рис. 3.8. Вміст білка *IFN-γ* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – $P \leq 0{,}001$.

Таким чином, дія GFA-B зумовлює різку індукцію вмісту білка IFN-γ у порожній кишці курчат-бройлерів з максимальним ефектом на 3-му тижні життя, після чого спостерігається поступове, але статистично значуще зниження показника, що однак залишається підвищеним до 6-го тижня.

У табл. 3.4 наведено кореляційні зв’язки між експресією мРНК *IFN-γ* та вмістом цього білка у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B. Показано, що у контрольній групі між рівнем експресії мРНК IFN-γ та вмістом відповідного білка без часової затримки виявлено слабкий позитивний монотонний зв’язок ($\rho = 0{,}10$), що свідчить про низьку узгодженість транскрипційного та білкового рівнів регуляції. Кореляція зі зсувом у часі на один тиждень (t+1) мала слабкий негативний характер ($\rho = -0{,}40$), що вказує на відсутність стабільної відкладеної залежності між показниками. Коефіцієнт кореляції Пірсона у контрольній групі досягав помірного значення ($r = 0{,}48$), що свідчить про наявність певної лінійної тенденції, однак без чіткої синхронізації між рівнями мРНК і білка.

*Таблиця 3.4.*

Кореляційні зв’язки між експресією мРНК *IFN-γ* та вмістом цього білка у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | 0,10 | -0,40 | 0,48 |
| Дослід | -0,10 | 0,80 | -0,20 |

***Примітка.*** *Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності.*

У курчат-бройлерів дослідної групи за дії GFA-B кореляційні зв’язки між експресією мРНК IFN-γ та вмістом білка у порожній кишці мали неоднозначний характер. Без часової затримки встановлено слабкий негативний монотонний зв’язок ($\rho = -0{,}10$), що свідчить про відсутність прямої узгодженості між показниками. Водночас при аналізі зі зсувом у часі на один тиждень виявлено виражений позитивний монотонний зв’язок ($\rho = 0{,}80$), який, незважаючи на відсутність формальної статистичної значущості при $n = 4$, вказує на тенденцію до відкладеної реалізації транскрипційного сигналу IFN-γ на білковому рівні. Коефіцієнт кореляції Пірсона у дослідній групі був негативним і слабким ($r = -0{,}20$), що додатково підтверджує нестабільність лінійної залежності між показниками.

Таким чином, для IFN-γ у порожній кишці характерна низька миттєва узгодженість між експресією мРНК і вмістом білка як у контрольній, так і в дослідній групах. Водночас за дії GFA-B формується тенденція до відкладеної позитивної регуляції, що може відображати особливості кінетики синтезу, секреції або накопичення IFN-γ у тканині кишки та участь додаткових регуляторних механізмів імунної відповіді.

Отже, дія GFA-B у порожній кишці курчат-бройлерів супроводжується вираженою віковозалежною модуляцією бар’єрних та імунозапальних механізмів на транскрипційному і білковому рівнях. У контрольній групі

експресія мРНК E-cadherin, Occludin, TNF-α та IFN-γ упродовж 2–6 тижнів залишалась переважно стабільною, тоді як у дослідній групі формувалася фазна, хвилеподібна відповідь із транзиторною активацією на 3-му тижні, подальшою перебудовою на 4–5-му тижнях і повторною активацією окремих маркерів на 6-му тижні. На білковому рівні GFA-B зумовлював стійке підвищення вмісту бар'єрних білків E-cadherin та Occludin, починаючи з 3-го тижня ($p<0,001$), що свідчить про посилення міжклітинної адгезії та tight junction-комплексів. Одночасно відмічено тривале зниження вмісту прозапального TNF-α у 3–6 тижнів ($p<0,001$) на тлі підвищення IFN-γ з максимальним ефектом на 3-му тижні ($p<0,001$) і поступовим зменшенням до 6-го тижня при збереженні підвищених значень порівняно з контролем. Кореляційний аналіз показав, що в контролі для E-cadherin зберігається синхронна узгодженість між мРНК і білком ($\rho=0,90$; $r=0,91$), тоді як за дії GFA-B формується відкладений тип реалізації транскрипційного сигналу ($\rho(t\rightarrow t+1)=1,00$), а для Occludin, TNF-α і IFN-γ узгодженість між рівнями мРНК та білка є неповною й варіабельною. Загалом отримані дані свідчать, що GFA-B спричиняє перепрограмування регуляції бар'єрної функції та імунної відповіді порожньої кишки, з переважним зміщенням у бік посилення бар'єрних компонентів і пригнічення TNF-α при віковозалежній зміні IFN-γ.

### 3.1.2. Модуляція експресії та вмісту молекулярних маркерів в сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B

Проведеними дослідженнями встановлено, що у сліпій кишці курчат-бройлерів контрольної групи рівень експресії мРНК Occludin упродовж 2–6 тижнів життя залишався стабільним і становив 1,00–1,02 ум. од. (рис. 3.9), що відповідало коливанням не більше 2,0% та не супроводжувалося статистично вірогідною віковою динамікою (p>0,05).

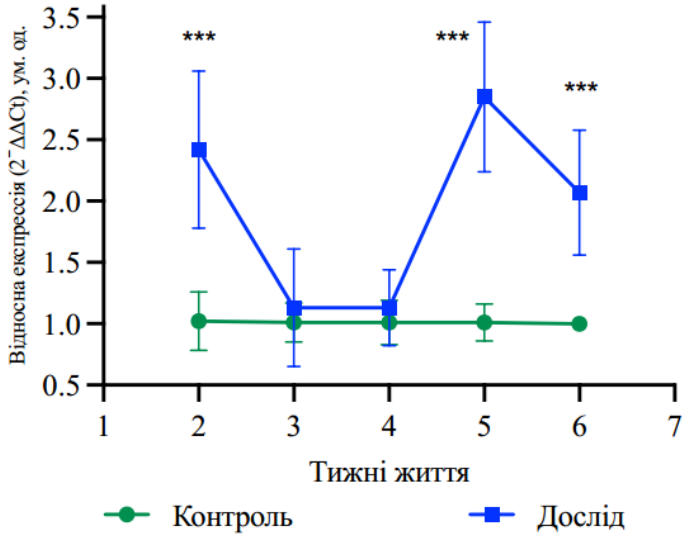


Рис. 3.9. Рівень експресії мРНК *Occludin* у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2−ΔΔCt; M±SD; n=6).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – P ≤ 0,001.

У дослідній групі за дії GFA-B встановлено виражені, фазні зміни експресії мРНК Occludin у сліпій кишці. На 2-му тижні життя рівень експресії становив 2,42±0,64 ум. од. і був більшим на 137,3% порівняно з контролем (1,02±0,24; p=0,0003). На 3-му тижні життя експресія знижувалася до 1,13±0,48 ум. од. і була більшою на 11,9% порівняно з контролем, однак без статистичної вірогідності (p=0,2921). Порівняно з 2-м тижнем у межах дослідної групи відмічалося зменшення на 53,3% (p<0,001). На 4-му тижні життя рівень експресії у дослідній групі залишався на рівні 1,13±0,31 ум. од. і був більшим на 11,9% відносно контролю (1,01±0,18), без статистично вірогідних міжгрупових відмінностей (p=0,2193) (0,0% зміни відносно 3-го

тижня; p>0,05). На 5-му тижні життя спостерігалося різке підвищення експресії мРНК Occludin до 2,85±0,61 ум. од., що було більше на 182,2% порівняно з контролем (1,01±0,15; p<0,001). Водночас відносно 4-го тижня в межах дослідної групи відмічалося зростання на 152,2% (p<0,001). На 6-му тижні життя рівень експресії знижувався до 2,07±0,51 ум. од., однак залишався більшим на 107,0% порівняно з контролем (1,00±0,05; p=0,0002). Порівняно з 5-м тижнем у межах дослідної групи відмічалося зменшення на 27,4% (p<0,05).

Таким чином, дія GFA-B у сліпій кишці зумовлює різко виражену фазну індукцію експресії мРНК Occludin з піками на 2-му та 5-му тижнях життя, тоді як на 3–4-му тижнях ефект має характер лише тенденції без статистичної вірогідності.

У контрольній групі курчат вміст білка Occludin у сліпій кишці упродовж 2–6 тижнів життя мав помірну вікову динаміку і змінювався в межах 100,0–106,6 ум. од.. На 3-му тижні показник підвищувався до 106,6±6,80 ум. од. (було більше на 6,6% порівняно з 2-м тижнем; p>0,05), після чого залишався близьким на 4–6-му тижнях (105,1–105,2 ум. од.), без різких коливань (рис. 3.10).

Тоді, як у дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні життя вміст білка Occludin у сліпій кишці становив 99,56±7,60 ум. од. і практично не відрізнявся від контролю (менше на 0,4%; p=0,4470). Починаючи з 3-го тижня життя встановлено різке та статистично вірогідне підвищення вмісту Occludin. Так, на 3-му тижні життя рівень Occludin у дослідній групі зростав до 139,5±6,08 ум. од. і був більшим на 30,9% порівняно з контролем (106,6±6,80 ум. од.; p<0,001). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 40,1% порівняно з 2-м тижнем (p<0,001). На 4-му тижні життя вміст білка становив 135,4±4,58 ум. од. і залишався більшим на 28,7% відносно контролю (105,2±7,42 ум. од.; p<0,001) (зменшення на 2,9% порівняно з 3-м тижнем; p>0,05). На 5-му тижні життя рівень Occludin у дослідній групі дорівнював 136,8±7,18 ум. од. і був більшим на 30,9% порівняно з контролем (104,5±6,93

ум. од.; p<0,001) (зростання на 1,0% порівняно з 4-м тижнем; p>0,05). На 6-му тижні життя вміст Occludin у дослідній групі знижувався до 122,2±5,88 ум. од., однак залишався більшим на 16,3% порівняно з контролем (105,1±6,08 ум. од.; p<0,001). При цьому відносно 5-го тижня відмічалося зменшення на 10,7% (p<0,05).

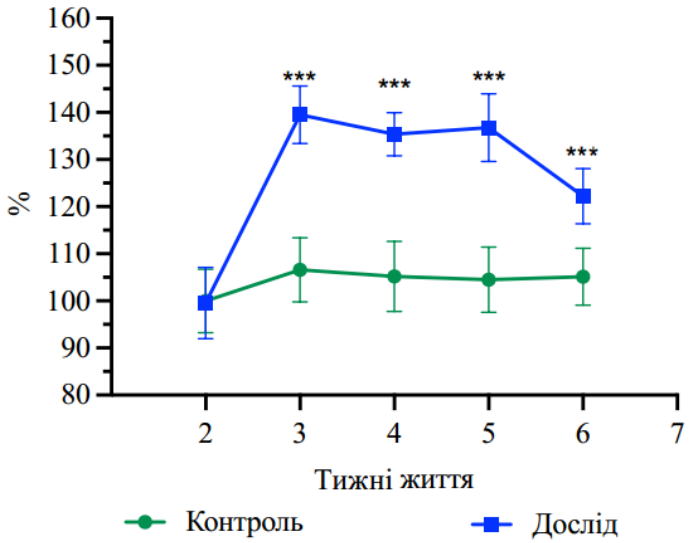


Рис. 3.10. Вміст білка *Occludin* у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – P ≤ 0,001.

Таким чином, дія GFA-B у сліпій кишці зумовлює стійке підвищення вмісту білка Occludin у віці 3–6 тижнів, із максимальними значеннями на 3–5-му тижнях та частковим зниженням показника на 6-му тижні життя.

У контрольній групі тварин між рівнем експресії мРНК Occludin та вмістом відповідного білка у сліпій кишці без часової затримки встановлено слабкий негативний монотонний зв’язок (ρ = −0,20), що свідчить про відсутність прямої узгодженості між транскрипційним і білковим рівнями регуляції табл. 3.5). При аналізі зі зсувом у часі на один тиждень (t → t+1) кореляція змінювала напрямок і мала слабкий позитивний характер (ρ = 0,40), однак без ознак стабільної відкладеної залежності. Коефіцієнт кореляції Пірсона у контрольній групі був негативним і відносно високим за модулем (r = −0,73), що вказує на наявність вираженої лінійної інверсної тенденції між

середніми значеннями мРНК і білка Occludin упродовж досліджуваного вікового періоду.

У дослідній групі за дії GFA-B кореляційні зв’язки між експресією мРНК Occludin та вмістом білка також мали негативний характер. Без часової затримки встановлено помірний негативний монотонний зв’язок (ρ = −0,40), тоді як при аналізі зі зсувом у часі він зменшувався до слабкого рівня (ρ = −0,20). Коефіцієнт кореляції Пірсона (r = −0,43) свідчив про помірну інверсну лінійну залежність між транскрипційним і білковим рівнями Occludin у сліпій кишці за умов дії GFA-B.

*Таблиця 3.5.*

Кореляційні зв’язки між експресією мРНК *Occludin* та вмістом цього білка у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | -0,20 | 0,40 | -0,73 |
| Дослід | -0,40 | -0,20 | -0,43 |

***Примітка.*** *Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності.*

Таким чином, у сліпій кишці як у контрольній, так і в дослідній групах відсутня позитивна узгодженість між експресією мРНК Occludin та вмістом відповідного білка, а переважають інверсні або слабкі зв’язки. Це вказує на домінування посттранскрипційних механізмів регуляції та можливу роль процесів ремоделювання tight junction-комплексів, локальної деградації або перерозподілу білка Occludin, що не відображаються безпосередньо на рівні транскрипції, особливо у сліпій кишці.

Встановлено, що у контрольній групі рівень експресії мРНК TNF-α у сліпій кишці упродовж 2–6 тижнів життя залишався відносно стабільним і змінювався в межах 1,00–1,02 ум. од., що відповідало коливанням не більше 2,0% (p>0,05), без вираженої вікової динаміки (рис. 3.11). Тоді, як у дослідній

групі за дії GFA-B на 2-му тижні життя експресія мРНК TNF-α становила 0,99±0,41 ум. од. і була меншою на 2,9% порівняно з контролем (1,02±0,24; p=0,4405). На 3-му тижні життя рівень експресії дорівнював 0,96±0,29 ум. од. і був меншим на 5,0% відносно контролю (1,01±0,14; p=0,3487), при цьому в межах дослідної групи відмічалося додаткове зменшення на 3,0% порівняно з 2-м тижнем (p>0,05).

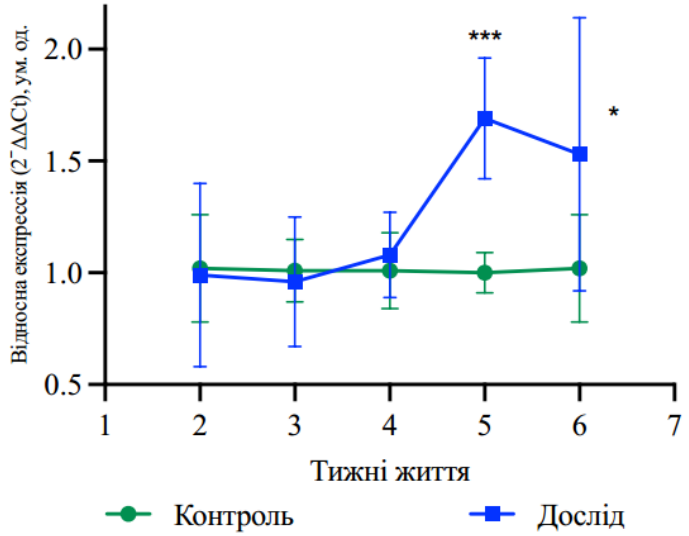


Рис. 3.11. Рівень експресії мРНК *TNF-α* у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (2−ΔΔCt; M±SD; n=6).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: * – P ≤ 0,05, *** – P ≤ 0,001.

Надалі на 4-му тижні життя експресія мРНК *TNF-α* у сліпій кишці курчат-бройлерів підвищувалася до 1,08±0,19 ум. од. і була більшою на 6,9% порівняно з контролем (1,01±0,17), однак без статистичної вірогідності (p=0,2791). Водночас відносно 3-го тижня в межах дослідної групи спостерігалося зростання на 12,5% (p>0,05). Надалі, на 5-му тижні життя виявлено різке та статистично вірогідне підвищення експресії мРНК TNF-α у дослідній групі до 1,69±0,27 ум. од., що було більше на 69,0% порівняно з контролем (1,00±0,09; p=0,0001). Порівняно з 4-м тижнем у межах дослідної групи експресія зростала на 56,5% (p<0,001). На 6-му тижні життя рівень експресії залишався підвищеним і становив 1,53±0,61 ум. од., будучи більшим

на 50,0% порівняно з контролем (1,02±0,24; p=0,0419). Водночас відносно 5-го тижня у межах дослідної групи відмічалося зменшення на 9,5% (p>0,05).

Таким чином, у сліпій кишці дія GFA-B асоціюється з відсутністю статистично вірогідних змін експресії мРНК TNF-α у віці 2–4 тижнів, однак супроводжується різкою активацією транскрипції TNF-α на 5-му тижні та збереженням підвищеного рівня на 6-му тижні життя.

Проведені дослідження засвідчили, що вміст білка TNF-α у сліпій кишці курчат-бройлерів контрольної групи упродовж 2–6 тижнів життя мав виражену вікову динаміку та змінювався в межах 100,0–162,4 ум. од. (рис. 3.12). На 3-му тижні показник підвищувався до 139,7±9,02 ум. од. (було більше на 39,7% порівняно з 2-м тижнем; p<0,001), досягаючи максимуму на 4-му тижні – 162,4±13,07 ум. од. (було більше на 16,2% порівняно з 3-м тижнем; p<0,001). Надалі вміст TNF-α знижувався до 141,8±11,27 ум. од. на 5-му тижні (було менше на 12,7% порівняно з 4-м тижнем; p<0,001) та до 134,9±8,63 ум. од. на 6-му тижні (було менше на 4,9% порівняно з 5-м тижнем; p<0,05).

Відмітимо, що у дослідній групі за дії GFA-B на 2-му тижні вміст білка TNF-α становив 100,0±7,10 ум. од. і не відрізнявся від контролю (p=0,5000). Починаючи з 3-го тижня життя, встановлено стійке та статистично вірогідне пригнічення вмісту TNF-α порівняно з контролем. Так, на 3-му тижні рівень TNF-α у дослідній групі становив 105,0±8,10 ум. од. і був меншим на 24,8% порівняно з контролем (139,7±9,02; p<0,001). Водночас у межах дослідної групи відмічалося зростання на 5,0% порівняно з 2-м тижнем (p>0,05). На 4-му тижні вміст TNF-α у дослідній групі дорівнював 105,0±6,73 ум. од. і був меншим на 35,4% порівняно з контролем (162,4±13,07; p<0,001) (0,0% зміни відносно 3-го тижня; p>0,05). На 5-му тижні показник становив 105,7±10,81 ум. од. і був меншим на 25,4% відносно контролю (141,8±11,27; p<0,001) (зростання на 0,7% порівняно з 4-м тижнем; p>0,05). На 6-му тижні вміст TNF-α у дослідній групі знижувався до 100,2±10,32 ум. од. і був меншим на 25,7% порівняно з контролем (134,9±8,63; p<0,001) (зменшення на 5,2% порівняно з 5-м тижнем; p>0,05).

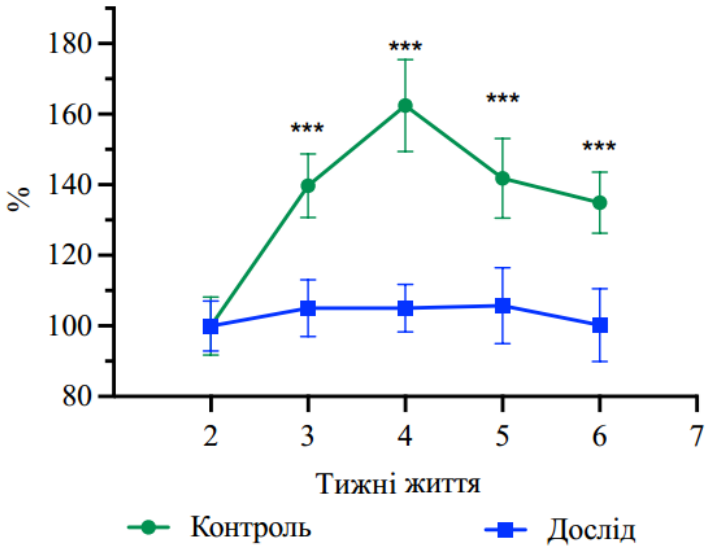


Рис. 3.12. Вміст білка *TNF-α* у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

**Примітка.** Достовірність відмінностей між дослідною і контрольною групами: *** – $P \leq 0{,}001$.

Таким чином, у сліпій кишці дія GFA-B асоціюється зі стійким та тривалим пригніченням вмісту прозапального білка TNF-α у віці 3–6 тижнів, на тлі фізіологічного вікового підвищення показника у контрольній групі.

У таблиці 3.6. наведено взаємозв'язки між експресією мРНК *TNF-α* та вмістом цього білка у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B. Встановлено, що у контрольній групі між рівнем експресії мРНК TNF-α та вмістом цього білка у сліпій кишці без часової затримки встановлено помірний негативний монотонний зв'язок ($\rho = -0{,}60$), що вказує на інверсну узгодженість між транскрипційним і білковим рівнями. При аналізі зі зсувом у часі на один тиждень ($t \rightarrow t+1$) кореляція ставала слабкою позитивною ($\rho = 0{,}20$), що не свідчить про наявність чітко вираженої відкладеної залежності. Коефіцієнт кореляції Пірсона у контрольній групі також був негативним ($r = -0{,}53$), підтверджуючи тенденцію до інверсного співвідношення між середніми значеннями експресії мРНК та вмісту білка TNF-α упродовж 2–6 тижнів життя.

У дослідній групі за дії GFA-B без часової затримки кореляційний зв'язок між експресією мРНК TNF-α та вмістом білка змінював напрямок і мав

помірний позитивний характер (ρ = 0,41), що може відображати часткову синхронізацію показників на різних вікових етапах. Водночас зі зсувом у часі на один тиждень кореляція була слабкою негативною (ρ = −0,32), а коефіцієнт Пірсона наближався до нуля (r = 0,06), що свідчить про відсутність стабільної лінійної взаємозалежності між транскрипційним та білковим рівнями TNF-α у сліпій кишці за умов дії GFA-B.

*Таблиця 3.6.*

Кореляційні зв’язки між експресією мРНК *TNF-α* та вмістом цього білка у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (r)

| Група | Спірман (t), n=5 | Спірман (t → t+1), n=4 | Пірсон, n=5 |
|---|---|---|---|
| Контроль | -0,60 | 0,20 | -0,53 |
| Дослід | 0,41 | -0,32 | 0,06 |

***Примітка.*** *Кореляційний аналіз виконано за середніми значеннями показників за 2–6 тижні життя. Для коефіцієнта Спірмана наведено кореляцію без часової затримки (t) та зі зсувом у часі на один тиждень (t→t+1). Значення коефіцієнтів Пірсона наведено для описової оцінки лінійної залежності.*

Таким чином, у сліпій кишці встановлено розбіжність між патернами узгодженості мРНК і білка TNF-α у контрольній та дослідній групах: у контролі переважає інверсний характер взаємозв’язку, тоді як за дії GFA-B зв’язки набувають нестабільного та варіабельного характеру без чіткої часової синхронізації. Це може свідчити про значний внесок посттранскрипційних механізмів регуляції та вплив локальних факторів кишкового мікросередовища на продукцію або накопичення TNF-α у тканині сліпої кишки.

### 3.1.3. Взаємозв'язки модуляції молекулярних маркерів в порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B

У контрольній групі виявлено як статистично вірогідні кореляційні зв'язки, так і кореляційні тенденції між експресією мРНК досліджуваних молекулярних маркерів у порожній та сліпій кишці (рис. 3.13).

У порожній кишці між експресією мРНК E-cadherin та Occludin встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок (r = 0,92; p<0,05), що свідчить про узгоджену транскрипційну регуляцію ключових компонентів міжклітинних контактів. Між експресією мРНК TNF-α та IFN-γ у порожній кишці виявлено помірний позитивний зв'язок, який має характер тенденції (r = 0,54; p > 0,05) і може відображати коактивацію прозапальних сигнальних шляхів.

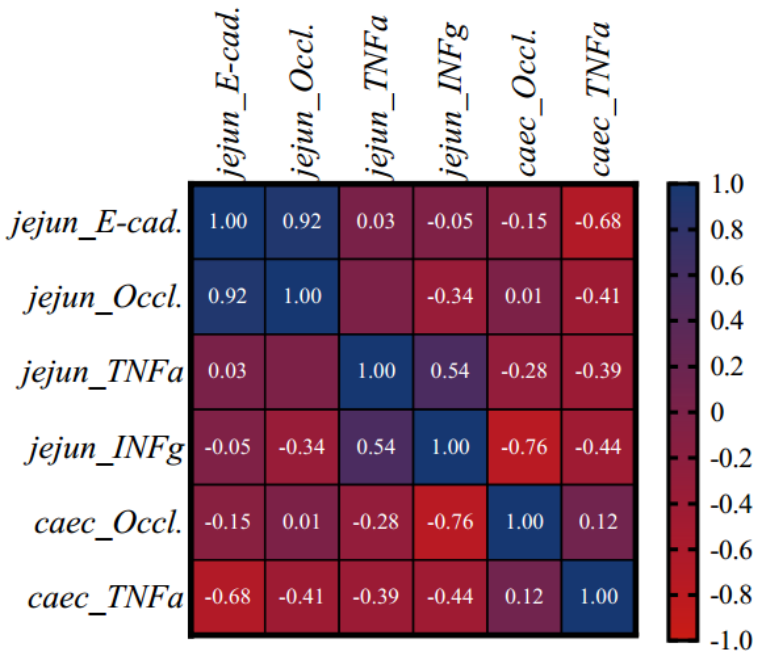


Рис. 3.13. Кореляційна матриця динаміки експресії мРНК молекулярних маркерів у порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів контрольної групи (r; n=5).

***Примітка.*** *Кореляційну матрицю сформовано за середніми значеннями експресії мРНК молекулярних маркерів за 2–6 тижні життя курчат-бройлерів контрольної групи (n = 5). Значення наведено як коефіцієнти кореляції r (Пірсона); при n = 5 статистично вірогідними вважали кореляції з |r| ≥ 0,88 (p<0,05). Кореляційні зв'язки, що не досягали цього рівня, розцінювали як тенденції. Колірна шкала відображає напрямок та інтенсивність кореляцій.*

Кореляційні зв’язки між бар’єрними (E-cadherin, Occludin) та імунними маркерами (TNF-α, IFN-γ) у порожній кишці були слабкими або помірними негативними (r від −0,05 до −0,34) і розцінювалися як тенденції, без досягнення статистичної вірогідності ($p > 0,05$).

У сліпій кишці встановлено вірогідний сильний негативний кореляційний зв’язок між експресією мРНК Occludin та експресією мРНК IFN-γ у порожній кишці ($r = −0,76$; $p<0,05$), що може свідчити про міжвідділову антагоністичну регуляцію бар’єрних і імунних процесів. Інші міжвідділові кореляції, зокрема між експресією Occludin та TNF-α або IFN-γ, мали негативний або помірний характер (r від −0,39 до −0,44) і трактувалися як кореляційні тенденції ($p > 0,05$).

Між експресією однакових маркерів у порожній та сліпій кишці (E-cadherin, TNF-α) кореляційні зв’язки були слабкими або помірними негативними ($r = −0,15$ та $r = −0,41$ відповідно) і не досягали статистичної вірогідності, що свідчить про відносну автономність транскрипційної регуляції у різних відділах кишечника.

Таким чином, у контрольній групі експресія мРНК молекулярних маркерів формує ієрархічно організовану систему взаємозв’язків, у якій статистично вірогідні кореляції спостерігаються переважно між бар’єрними компонентами в межах одного відділу кишечника, тоді як більшість міжмаркерних та міжвідділових взаємозв’язків мають характер тенденцій, що відображають складну багаторівневу регуляцію кишкового бар’єра та імунної відповіді.

Рис. 3.14 ілюструє кореляційну матрицю динаміки експресії мРНК молекулярних маркерів бар’єрної функції (E-cadherin, Occludin) та запалення (TNF-α, IFN-γ) у порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів дослідної групи за період 2–6 тижнів життя.

У дослідній групі статистично вірогідних кореляційних зв’язків ($|r| \geq 0,88$; $p<0,05$) між досліджуваними маркерами не виявлено, що зумовлено малою кількістю часових точок ($n = 5$) та нелінійним характером змін експресії.

Водночас у структурі кореляційної матриці простежується низка виражених кореляційних тенденцій, які відображають узгоджені або протилежно спрямовані зміни експресії маркерів у динаміці онтогенезу за дії GFA-B.

Зокрема, у порожній кишці відмічено помірну позитивну тенденцію між експресією мРНК E-cadherin та Occludin (r ≈ 0,55), що може свідчити про узгоджену регуляцію компонентів міжклітинних контактів. Одночасно спостерігалися негативні тенденції між експресією бар'єрних маркерів порожньої кишки та експресією TNF-α і IFN-γ у сліпій кишці (r від −0,43 до −0,76), що вказує на потенційний просторово-функціональний антагонізм між бар'єрними та прозапальними процесами в різних відділах кишечника.

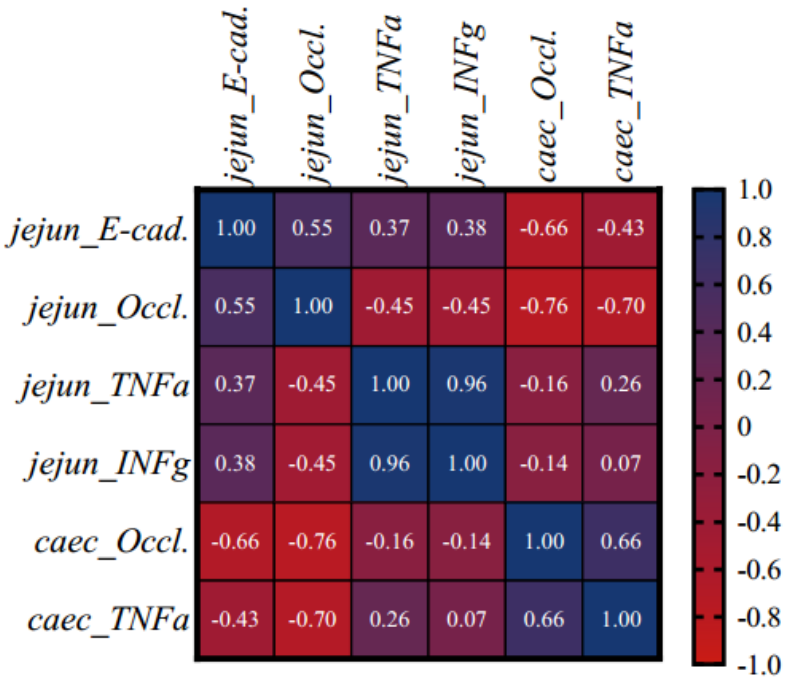


Рис. 3.14. Кореляційна матриця динаміки експресії мРНК молекулярних маркерів у порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів дослідної групи (r; n=5).

***Примітка.*** *Кореляційну матрицю сформовано за середніми значеннями експресії мРНК молекулярних маркерів за 2–6 тижні життя курчат-бройлерів дослідної групи (n = 5). Значення наведено як коефіцієнти кореляції r (Пірсона); при n = 5 статистично вірогідними вважали кореляції з |r| ≥ 0,88 (p<0,05). Кореляційні зв'язки, що не досягали цього рівня, розцінювали як тенденції. Колірна шкала відображає напрямок та інтенсивність кореляцій.*

У сліпій кишці виявлено позитивну тенденцію між експресією мРНК TNF-α та IFN-γ (r ≈ 0,66), що узгоджується з їх спільною участю у формуванні запальної відповіді. Водночас експресія Occludin у сліпій кишці

демонструвала переважно негативні кореляційні тенденції з прозапальними маркерами порожньої кишки, що може відображати компенсаторні механізми підтримання бар'єрної функції за умов імунної активації.

Загалом отримані дані свідчать, що за дії GFA-B регуляція експресії мРНК молекулярних маркерів кишечника має багатовекторний, відділ-специфічний характер, а виявлені кореляційні тенденції відображають складну перебудову взаємозв'язків між бар'єрними та імунозапальними ланками в динаміці постнатального розвитку.

Рис. 3.15 відображає кореляційну матрицю динаміки вмісту білків молекулярних маркерів бар'єрної функції (E-cadherin, Occludin) та запалення (TNF-α, IFN-γ) у порожній і сліпій кишці курчат-бройлерів контрольної групи протягом 2–6 тижнів життя.

У контрольній групі встановлено низку статистично вірогідних тісних позитивних кореляцій, що свідчать про високу узгодженість вікової динаміки вмісту окремих білків. Зокрема, між вмістом білків TNF-α та IFN-γ у порожній кишці виявлено дуже тісний позитивний кореляційний зв'язок ($r = 0,87$), який перебуває на межі статистичної значущості ($p<0,05$) та відображає синхронну зміну прозапальних факторів у цьому відділі кишечника.

Найбільш виражені кореляційні зв'язки зафіксовано для показників TNF-α та IFN-γ у сліпій кишці, а також між відповідними маркерами порожньої і сліпої кишки. Значення коефіцієнтів кореляції для цих пар становили $r = 0,95–1,00$, що відповідає рівням статистичної значущості $p<0,01–0,001$ і свідчить про майже ідеальну узгодженість вікових змін прозапальних білків у різних відділах кишечника.

Вміст білка Occludin у сліпій кишці також демонстрував статистично вірогідні позитивні кореляції з вмістом білків TNF-α та IFN-γ як у порожній, так і у сліпій кишці ($r = 0,95–0,97$; $p<0,01$), що може вказувати на паралельне дозрівання бар'єрних і імунозапальних компонентів слизової оболонки кишечника в онтогенезі.

Натомість кореляційні зв’язки за участю білка E-cadherin у порожній кишці мали помірну силу (r = 0,24–0,62) і не досягали критичних рівнів статистичної значущості, у зв’язку з чим їх розцінювали як кореляційні тенденції. Це може свідчити про більш автономну регуляцію адгезивних контактів порівняно з прозапальною білковою ланкою в умовах фізіологічного розвитку.

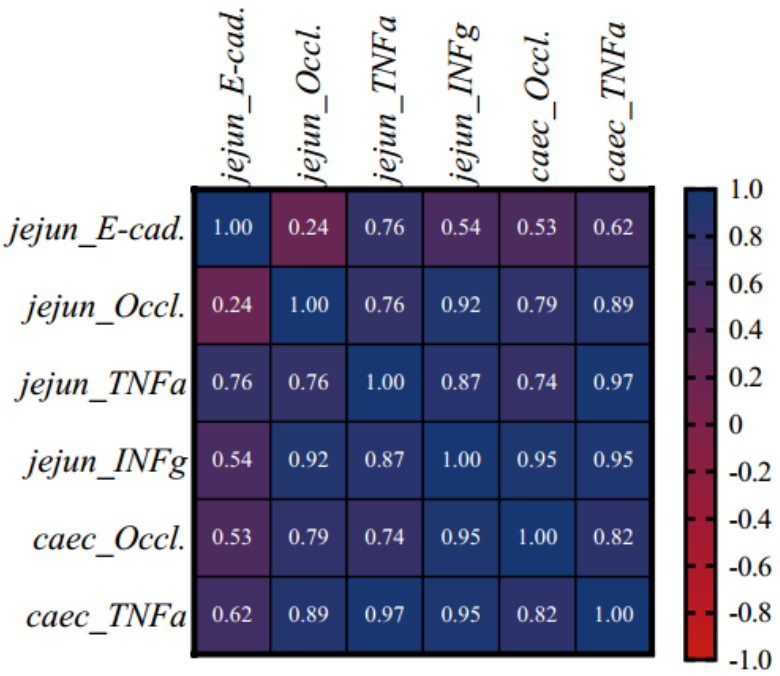


Рис. 3.15. Кореляційна матриця динаміки вмісту білків окремих молекулярних маркерів порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів контрольної групи (r; n=5)

***Примітка.*** *Кореляційну матрицю сформовано за середніми значеннями вмісту білків молекулярних маркерів за 2–6 тижні життя курчат-бройлерів контрольної групи (n = 5). Статистичну значущість кореляцій оцінювали за коефіцієнтом Пірсона. Для n = 5 статистично значущими вважали кореляції при $|r| \geq 0{,}878$ ($p<0{,}05$), $|r| \geq 0{,}959$ ($p<0{,}01$) та $|r| \geq 0{,}991$ ($p<0{,}001$). Кореляційні зв’язки, що не досягали зазначених критичних значень, інтерпретували як тенденції.*

Таким чином, результати кореляційного аналізу показують, що в контрольній групі найбільш інтегрованою є динаміка прозапальних білків TNF-α та IFN-γ, тоді як зміни вмісту бар’єрних білків, зокрема E-cadherin, характеризуються менш вираженою синхронізацією з іншими маркерами.

На рис. 3.16 наведено кореляційну матрицю динаміки вмісту білків молекулярних маркерів бар’єрної функції (E-cadherin, Occludin) та запалення

(TNF-α, IFN-γ) у порожній і сліпій кишці курчат-бройлерів дослідної групи впродовж 2–6 тижнів життя.

У дослідній групі встановлено високу щільність статистично вірогідних позитивних кореляцій, що свідчить про суттєву інтеграцію регуляції білкових компонентів кишечника за дії GFA-B. Зокрема, між вмістом білків E-cadherin та Occludin у порожній кишці виявлено дуже тісний позитивний кореляційний зв'язок (r = 0,96; p<0,01), що відображає узгоджену динаміку основних структурних компонентів міжклітинних контактів.

Вміст білків TNF-α та IFN-γ у порожній кишці також характеризувався статистично вірогідною сильною позитивною кореляцією (r = 0,82–0,94; p<0,05–0,01), що свідчить про синхронну активацію прозапальної білкової ланки в динаміці постнатального розвитку за умов застосування GFA-B.

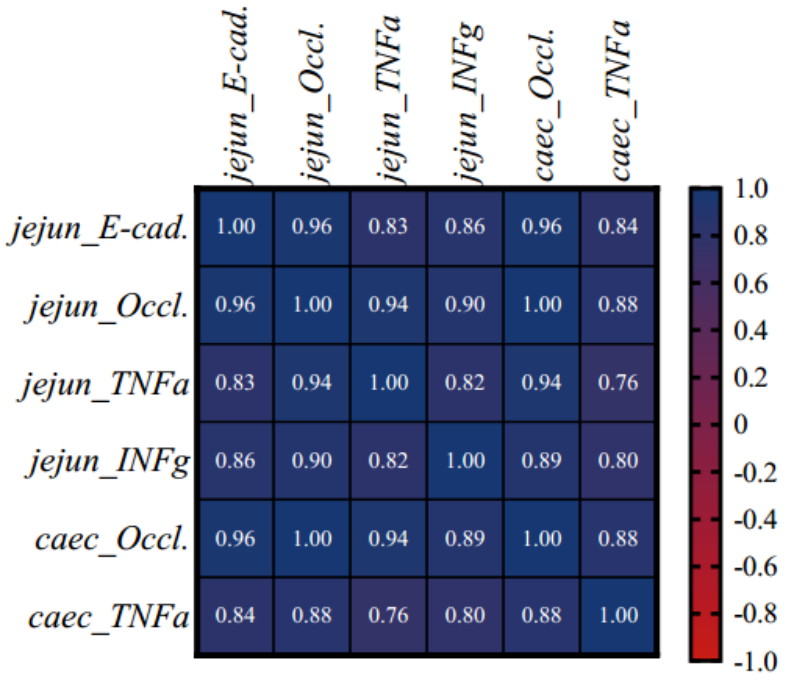


Рис. 3.16. Кореляційна матриця динаміки вмісту білків окремих молекулярних маркерів порожній та сліпій кишці курчат-бройлерів дослідної групи (r; n=5)

***Примітка.*** *Кореляційну матрицю сформовано за середніми значеннями вмісту білків молекулярних маркерів за 2–6 тижні життя курчат-бройлерів дослідної групи (n = 5. Статистичну значущість кореляцій оцінювали за коефіцієнтом Пірсона. Для n = 5 статистично значущими вважали кореляції при |r| ≥ 0,878 (p<0,05), |r| ≥ 0,959 (p<0,01) та |r| ≥ 0,991 (p<0,001). Кореляційні зв'язки, що не досягали зазначених критичних значень, інтерпретували як тенденції..*

Особливо виражені кореляційні зв’язки виявлено між показниками порожньої та сліпої кишки. Так, вміст білка Occludin у сліпій кишці демонстрував дуже тісні позитивні кореляції з вмістом білків E-cadherin, TNF-α та IFN-γ у порожній кишці ($r = 0,89–1,00$; $p<0,01–0,001$), що вказує на системний характер перебудови бар’єрних та імунних механізмів у кишечнику за дії GFA-B.

Вміст білка TNF-α у сліпій кишці також був статистично вірогідно пов’язаний із більшістю досліджуваних білків порожньої кишки ($r = 0,88–0,97$; $p<0,01–0,001$), що свідчить про формування єдиного інтегративного білкового контуру регуляції запальної відповіді в різних відділах кишечника.

Окремі кореляційні зв’язки з коефіцієнтами $r = 0,76–0,84$ не досягали критичного рівня статистичної значущості для $n = 5$ і тому розцінювалися як виражені кореляційні тенденції, що, однак, доповнюють загальну картину узгодженої динаміки білкових показників.

Загалом результати кореляційного аналізу свідчать, що у дослідній групі за дії GFA-B відбувається суттєве посилення інтеграції між бар’єрними та прозапальними білками як у межах окремих відділів кишечника, так і між порожньою та сліпою кишкою, що відображає системний характер модифікації функціонального стану кишечника.

### 3.1.4. Інтегральні індекси функціонального стану порожньої і сліпої кишки курчат-бройлерів за дії GFA-B

Проведеними дослідженнями встановлено, що у контрольній групі значення індексу бар’єрної відповіді (BII) у порожній кишці впродовж 2–6 тижнів життя змінювалися помірно та нерівномірно (рис. 3.17). На 3 тижні показник BII зростанє до 0,94 та досягненням максимального значення на 4-му тижні (1,05). Надалі відмічали тенденцію до зниження показника на 5-му тижні до 0,84 та на 6 тижні до 0,24, що відображає хвилеподібний характер вікової динаміки бар’єрної відповіді за фізіологічних умов.

У дослідній групі за дії GFA-B динаміка BII була принципово іншою і характеризувалася різким посиленням бар'єрної відповіді. Уже на 3-му тижні життя значення індексу зростало до 6,31, що істотно перевищувало контрольний рівень ($p<0,001$). У подальшому BII залишався високим на 4-ий тиждень (5,51) та 5-му тижні (5,07), з поступовим зниженням на 6-му тижні до 2,97, однак і на цьому етапі показник достовірно перевищував значення контрольної групи ($p<0,001$).

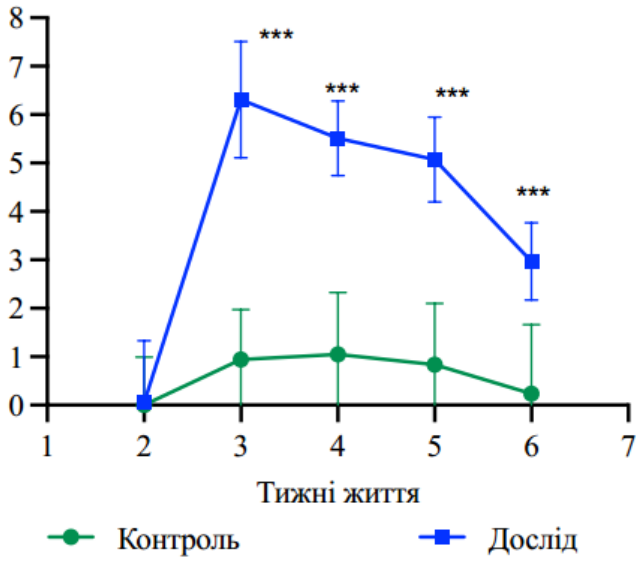


Рис. 3.17. Індекс бар'єрної цілісності (*BII – barrier integrity index*) у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=10).

**Примітка.** Індекс бар'єрної цілісності розраховано за формулою: *BII = [z(Occludin) + z(E-cadherin)] / 2***.** Z-score контрольної групи визначали відносно 2-го тижня життя; z-score дослідної групи – відносно контрольної групи в межах кожного вікового періоду. *Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test –*** *– p<0,001 порівняно з контролем відповідного віку.*

Міжгрупове порівняння показало відсутність статистично значущих відмінностей на 2-му тижні життя ($p = 0,4636$). Водночас у період 3–6 тижнів значення BII у дослідній групі були у 4,2–11,4 раза вищими, ніж у контролі ($p<0,001$), що свідчить про потужний стимулювальний вплив GFA-B на інтегральні показники бар'єрної функції кишечника.

Загалом отримані результати вказують, що застосування GFA-B зумовлює виражене та тривале підсилення бар'єрної відповіді, з максимальним ефектом у ранній фазі постнатального розвитку та

поступовим зниженням інтенсивності дії у старших вікових періодах при збереженні достовірних міжгрупових відмінностей.

Встановлено, що у контрольній групі індекс запальної активації (IAI) у порожній кишці демонстрував виражену вікову динаміку (рис. 3.18). На 3-му тижні значення даного індексу зростало до 3,65 та досягало максимального рівня на 4 тижні (5,83). Надалі відмічали поступове зниження показника на 5-му тижні до 3,57 і на 6-му тижні до 2,29, що відображає фізіологічну хвилеподібну активацію прозапальної ланки у процесі постнатального розвитку кишечника.

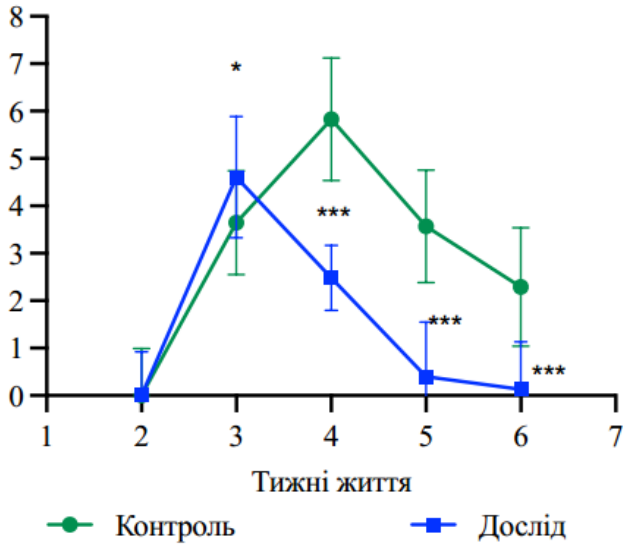


Рис. 3.18. Індекс запальної активації (IAI – *inflammatory activation index*) у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=10).

**Примітка.** Індекс запальної активації розраховано за фрмулою: *IAI = [z(TNFα) + z(IFNγ)] / 2***.** Стандартизацію показників у контрольній групі здійснювали відносно 2-го тижня життя; у дослідній групі – відносно контрольної групи в межах кожного вікового періоду. *Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test – * p<0,05; *** – p<0,001 порівняно з контролем відповідного віку.*

У дослідній групі за дії GFA-B динаміка IAI була принципово іншою. На 2-му тижні значення індексу не відрізнялося від контролю (p = 0,50). На 3-му тижні життя IAI зростав до 4,61, що було на 26,3% більше, ніж у контролі (p = 0,046). Водночас у подальші вікові періоди спостерігалося різке зниження індексу запальної активації порівняно з контролем.

Зокрема, на 4-му тижні IAI у дослідній групі становив 2,48, що було менше на 57,5% порівняно з контролем ($p<0,001$). На 5 тижні показник знижувався до 0,40 ум. од., що відповідало − 88,8% відносно контрольних значень ($p<0,001$). На 6 тижні IAI у дослідній групі досягав мінімального рівня (0,13), залишаючись на 94,3% нижчим, ніж у контролі ($p = 0,0002$).

Таким чином, застосування GFA-B зумовлює виражену модуляцію запальної відповіді кишечника, яка проявляється короткочасним підсиленням запальної активації на 3-му тижні з подальшим різким та стійким пригніченням прозапальної активності у період 4–6 тижнів життя. Отримані дані свідчать про потенційний протизапальний та імуномодулюючий ефект GFA-B у пізніші етапи постнатального розвитку курчат-бройлерів.

У контрольній групі індекс функціонального балансу кишечника (FIBS) упродовж 2–6 тижнів життя мав переважно від'ємні значення, що свідчить про домінування запальної активації над бар'єрною відповіддю у відповідні вікові періоди (рис. 3.19). На 2-му тижні значення FIBS було максимальним, після чого на 3 тижні знижувалося до -2,72, досягаючи мінімального рівня на 4 тижні (-4,77). У подальшому спостерігалося часткове відновлення показника на 5-ий тиждень (-2,73) та на 6-ий тижні (-2,06), однак значення FIBS залишалися від'ємними, що відображає тривале переважання прозапальних процесів у кишечнику за фізіологічних умов росту.

У дослідній групі за дії GFA-B динаміка FIBS була принципово іншою. На 2-му тижні життя індекс не відрізнявся від контролю ($p = 0,3646$). Вже з 3-го тижня спостерігалося різке зміщення функціонального балансу у бік бар'єрної відповіді, що проявлялося переходом FIBS у додатну зону (1,70), при статистично значущій різниці з контролем ($p<0,001$).

На 4-му тижні життя FIBS у дослідній групі зростав до 3,03, тоді як у контролі досягав мінімального від'ємного значення, що зумовлювало максимальний міжгруповий контраст ($p<0,001$). Найвищий рівень

функціонального балансу у дослідній групі відмічали на 5 тижні (4,67), після чого на 6 тижні показник дещо знижувався до 2,84, але залишався стабільно додатним і достовірно вищим за контрольні значення ($p<0,001$).

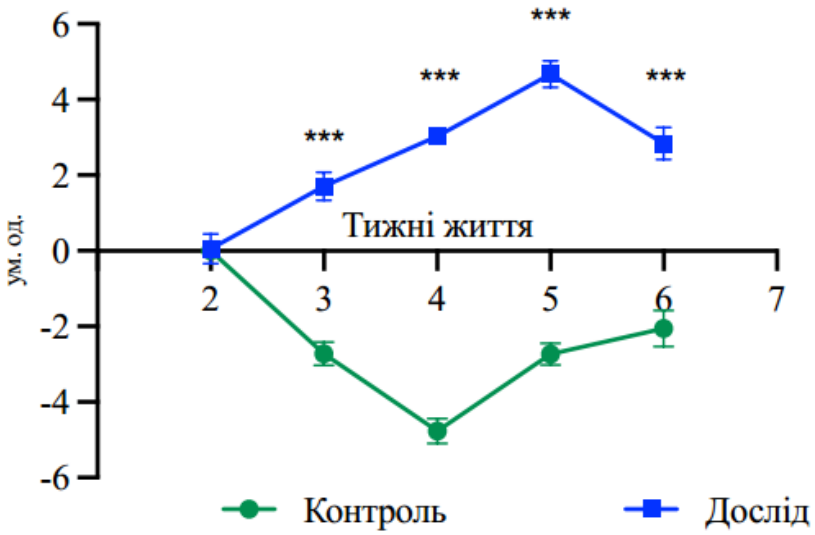


Рис. 3.19. Індекс функціональний балансу порожньої кишки (FIBS – *functional intestinal balance score*) курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=10).

**Примітка.** Індекс функціональний балансу кишки розраховано за формулою: *FIBS = BII – IAI*. Стандартизацію показників у контрольній групі здійснювали відносно 2-го тижня життя; у дослідній групі – відносно контрольної групи в межах кожного вікового періоду. *Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test –*** – $p<0,001$ порівняно з контролем відповідного віку.*

Таким чином, застосування GFA-B забезпечує стійке зміщення функціонального балансу кишечника від запальної активації до домінування бар'єрної відповіді, починаючи з 3 тижня життя. Отримані дані свідчать, що FIBS є інтегральним чутливим показником функціонального стану кишечника, який адекватно відображає взаємодію між бар'єрними та прозапальними механізмами в онтогенезі курчат-бройлерів.

Встановлено, що у контрольній групі курчат-бройлерів значення індексу BIBI у порохній кишці впродовж 2–6 тижнів життя мали переважно від'ємний характер, що свідчить про домінування прозапальної активності над бар'єрною складовою (рис. 3.20. З 2 до 3 тижня диття показник індексу у курчат контрольної групи різко знижувався до -5,76 і досягав мінімального

значення на 4 тижні (-9,61). У подальшому спостерігалося поступове відновлення показника на 5 тижні (-5,41) та на 6 тижні (-2,78 ум. од.), однак навіть у цей період значення BIBI залишалися від'ємними, що відображає тривале переважання запальної ланки над бар'єрною у процесі постнатального розвитку кишечника за фізіологічних умов.

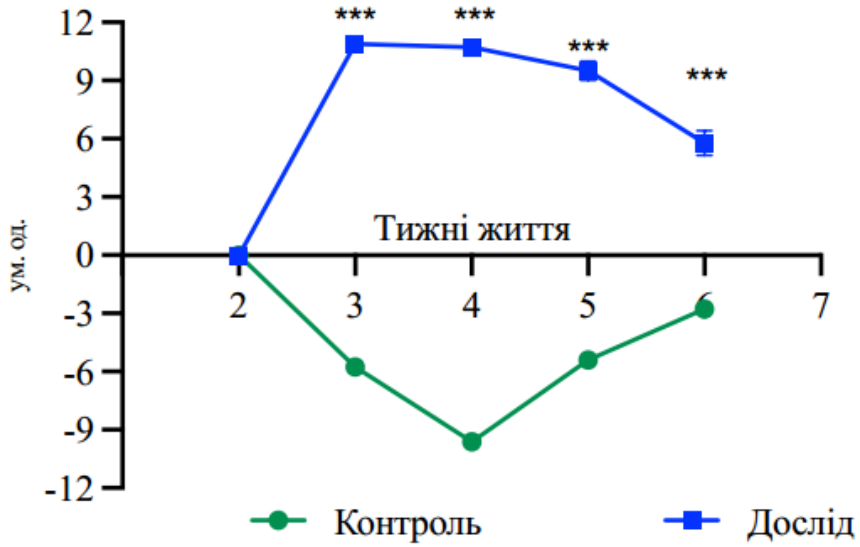


Рис. 3.20. Індекс співвідношення бар'єрної цілісності та запальної активації *(BIBI–barrier-inflammation balance index)* у порожній кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (ум.од.; M±SD; n=10).

***Примітка.*** *Індекс бар'єрно–запального балансу (Barrier–Inflammation Balance Index) розраховано за формулою: BIBI = z(Occludin) – z(TNFα). Стандартизацію показників (z-score) у контрольній групі здійснювали відносно значень на 2-му тижні життя; у дослідній групі – відносно відповідних значень контрольної групи в межах кожного вікового періоду. Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test –*** *– p<0,001 порівняно з контролем відповідного віку.*

Поряд з цим, у дослідній групі за дії GFA-B динаміка індексу BIBI була принципово іншою. На 2 тижні життя індекс не відрізнявся від контрольного (p = 0,4463). Починаючи з 3 тижня, відмічалося різке та статистично значуще зміщення індексу у додатну зону, що свідчить про домінування бар'єрної відповіді над прозапальною. Так, на 3 тижні BIBI зростав до 10,89, на 4-му тижні становив 10,71, на 5-му тижні 9,52, а на 6-му тижні 5,79. У всі зазначені вікові періоди міжгрупові відмінності були високодостовірними (p<0,001).

Таким чином, застосування GFA-B зумовлює кардинальну перебудову функціонального балансу кишечника, що проявляється переходом від запально-орієнтованого профілю у контрольній групі до стабільного бар'єрно-домінантного стану у дослідній групі. Використання стандартизованих показників (z-score) дозволяє інтегрально оцінити співвідношення між бар'єрними та прозапальними механізмами незалежно від абсолютних рівнів окремих маркерів, що робить індекс BIBI чутливим та методично обґрунтованим інструментом для оцінки функціонального стану кишечника.

У контрольній групі значення BIBI у сліпій кишці курчат-бройлерів впродовж 2–6 тижнів життя мали переважно від'ємний характер, що відображає домінування прозапальної складової (TNF-α) над бар'єрною (Occludin) у динаміці онтогенезу (рис. 3.21). На 2 тижні індекс був найвищий, після чого на 3 тижні знижувався до -3,82 і досягав мінімального рівня на 4 тижні (-6,77 ум. од.). У подальшому спостерігалося часткове відновлення показника на 5 тижні (-4,38) та на 6 тижні (-3,46), однак значення індексу залишалися від'ємними, що свідчить про збереження запально-орієнтованого профілю у сліпій кишці контрольних тварин.

У дослідній групі за дії GFA-B динаміка значень індексу BIBI була принципово іншою. На 2 тижні життя міжгрупових відмінностей не виявлено ($p = 0,5000$). Починаючи з 3 тижня, індекс у сліпій кишці переходив у стійко додатну зону і був багаторазово вищим за контрольні значення: на 3 тижні 8,68, на 4 тижні 8,46, на 5 тижні 7,86, на 6 тижні 6,83. У всі вікові періоди 3–6 тижнів міжгрупові відмінності були високодостовірними ($p<0,001$).

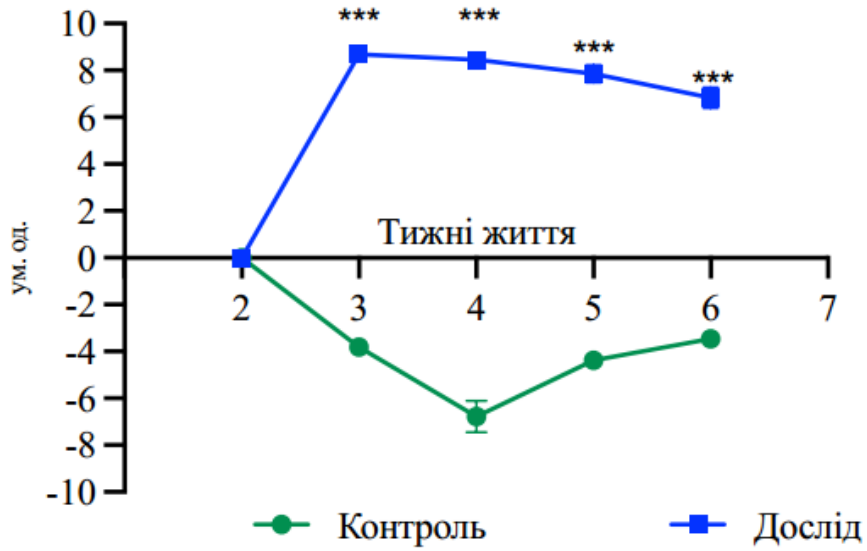


Рис. 3.21. Індекс співвідношення бар'єрної цілісності та запальної активації *(BIBI–barrier-inflammation balance index)* у сліпій кишці курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=10).

***Примітка.*** *Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test –*** – p<0,001 порівняно з контролем відповідного віку. Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-test – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з контролем відповідного віку.*

Таким чином, у сліпій кишці застосування GFA-B зумовлює кардинальне зміщення балансу "бар'єр–запалення" у бік бар'єрної домінанти, що проявляється переходом BIBI від від'ємних значень у контролі до стабільно додатних у дослідній групі. Використання стандартизованих показників (z-score) дозволяє інтегрально оцінити співвідношення бар'єрного та прозапального компонентів незалежно від абсолютних рівнів окремих маркерів, що підвищує чутливість індексу для оцінки функціонального стану сліпої кишки.

За результатами цього підрозділу встановлено, що інтегральні індекси функціонального стану порожньої та сліпої кишки у контрольній групі характеризуються віковозалежною хвилеподібною динамікою з переважанням запальної активації над бар'єрною відповіддю у критичні періоди постнатального розвитку. Це проявлялося помірними значеннями BII, високими значеннями IAI та стійко від'ємними показниками FIBS і BIBI, що свідчить про фізіологічне домінування прозапальних процесів над

бар’єрними механізмами у 3–4-тижневому віці з лише частковою компенсацією у старші терміни. Такий профіль відображає напружений функціональний стан кишечника в умовах інтенсивного росту та імунного дозрівання.

Водночас у дослідній групі за дії GFA-B зафіксовано принципово інший інтегральний патерн, який характеризується різким і тривалим посиленням бар’єрної відповіді та пригніченням запальної активації, починаючи з 3-го тижня життя. Це підтверджується істотним зростанням показника індексу BII, стійким зниженням IAI та переходом індексів FIBS і BIBI у додатну зону як у порожній, так і у сліпій кишці ($p<0,001$). Отримані дані свідчать, що GFA-B забезпечує системне зміщення балансу “бар’єр–запалення” у бік бар’єрної домінанти, формуючи більш стабільний і функціонально сприятливий стан кишечника у ключові періоди постнатального онтогенезу курчат-бройлерів.

## 3.2. Склад, різноманіття та структурна організація кишкової мікробіоти кишечника курчат-бройлерів за дії GFA-B

### 3.2.1. Альфа- та бета-різноманіття мікробіому кишечника курчат за дії GFA-B

Аналіз альфа-різноманіття мікробіому кишечника за індексом Шеннона показав статистично вірогідне підвищення різноманіття бактеріальних спільнот у дослідній групі порівняно з контрольною (рис. 3.22). У курчат дослідної групи значення індексу Шеннона були вищими та характеризувалися меншою міжіндивідуальною варіабельністю, що свідчить про формування більш збалансованої та структурно стабільної мікробної екосистеми.

Натомість у контрольній групі спостерігалося нижче середнє значення індексу та ширший міжквартильний розмах, що вказує на більшу

гетерогенність мікробіомного складу. Виявлені відмінності між групами були статистично значущими (Mann–Whitney U test, p = 0,008).

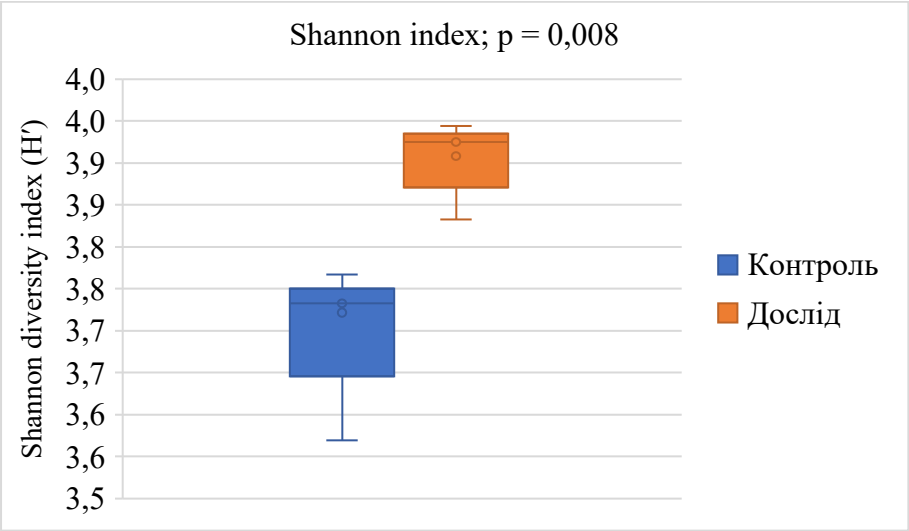


Рис. 3.22. Альфа-різноманіття мікробіому кишечника курчат за індексом Шеннона (H′) у контрольній та дослідній групах (n=5).

***Примітка.*** *Дані подано у вигляді boxplot: центральна лінія – медіана, межі коробки – 25-й та 75-й перцентилі, "вуса" – мінімальні та максимальні значення без урахування викидів. Статистичну вірогідність між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні.*

Оцінка альфа-різноманіття мікробіому кишечника курчат за індексом Сімпсона (1–D) виявила статистично вірогідні відмінності між контрольною та дослідною групами (рис. 3.23). У дослідній групі значення індексу були достовірно вищими порівняно з контролем, що свідчить про зменшення домінування окремих таксонів і більш рівномірний розподіл мікробних популяцій. Контрольна група характеризувалася нижчими значеннями індексу та більшою варіабельністю, що вказує на підвищений ступінь домінування окремих видів у структурі мікробіому ($p$ = 0,008).

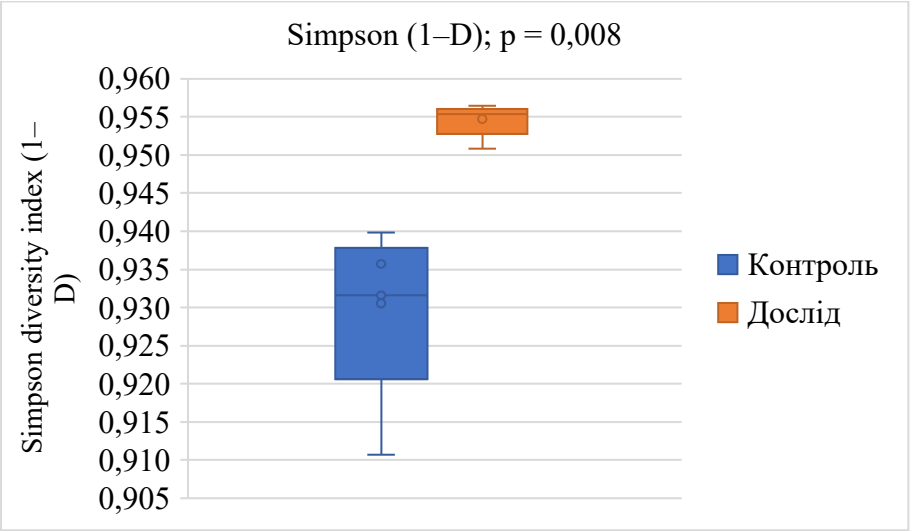


Рис. 3.23. Альфа-різноманіття мікробіому кишечника курчат за індексом Сімпсона (1–D) у контрольній та дослідній групах (n=5).

***Примітка.*** *Дані подано у вигляді boxplot: центральна лінія – медіана, межі коробки – 25-й та 75-й перцентилі, "вуса" – мінімальні та максимальні значення без урахування викидів. Статистичну вірогідність між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні.*

Аналіз бета-різноманіття мікробіому кишечника курчат, проведений методом головних координат (PCoA) на основі метрики Bray–Curtis, продемонстрував чітке просторове розділення зразків контрольної та дослідної груп. Перша головна координата (PC1) пояснювала 60,7 % загальної дисперсії, друга (PC2) – 29,3 %, що свідчить про високу інформативність двовимірної ординації (рис. 3.24).

Зразки контрольної групи формували компактний кластер у від'ємній області PC1, тоді як зразки дослідної групи були локалізовані у додатній області цієї осі, що вказує на суттєві відмінності у структурі мікробних спільнот між групами. Статистичний аналіз підтвердив вірогідність виявлених відмінностей (PERMANOVA, p = 0,013).

Отримані результати свідчать, що експериментальний вплив зумовлював істотні зміни у структурній організації мікробіому кишечника курчат. Достовірне підвищення показників альфа-різноманіття за індексами Шеннона та Сімпсона у дослідній групі вказує на зростання таксономічного

різноманіття та вирівнювання мікробних спільнот, що є характерною ознакою функціонально стабільного та екологічно збалансованого мікробіому.

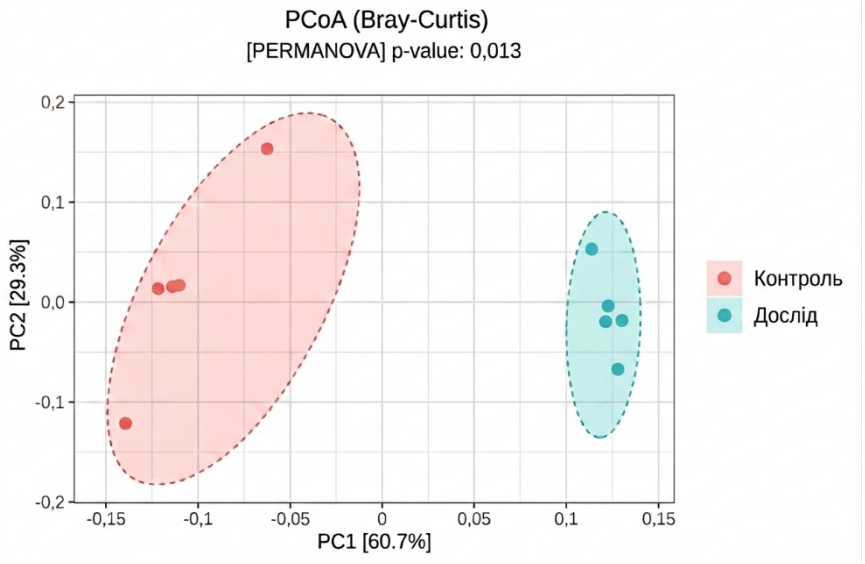


Рис. 3.24. Ординація зразків мікробіому кишечника курчат за результатами PCoA на основі метрики Bray-Curtis (n=5).

***Примітка.*** *Кожна точка відповідає окремому зразку; відстань між точками відображає ступінь подібності мікробіомного складу за метрикою Bray–Curtis. Відсоткові значення біля осей вказують частку поясненої дисперсії. Статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали методом PERMANOVA.*

Водночас результати аналізу бета-різноманіття, підтверджені методом PCoA з використанням метрики Bray–Curtis та статистичною оцінкою PERMANOVA, засвідчили чітке просторове розмежування мікробних спільнот контрольної та дослідної груп, що свідчить про суттєву перебудову мікробіомного профілю під впливом досліджуваного чинника. Сукупність отриманих даних вказує на сприятливий вплив експериментального втручання на формування більш стабільної, різноманітної та структурно впорядкованої мікробної екосистеми кишечника курчат.

Результати досліджень розділу представлені в роботах [8].

### 3.2.2. Зміни таксономічної структури та функціонального профілю мікробіому кишечника курчат під впливом GFA-B

У таблиці 3.7 наведено порівняльну характеристику відносної абундансності домінантних (топ 20) бактеріальних таксонів мікробіому кишечника курчат контрольної та дослідної груп, виражену у відсотках (M ± SD), а також величину змін між групами (Δ) і рівень їх статистичної вірогідності.

У дослідній групі відмічено статистично вірогідне зниження частки Escherichia coli порівняно з контролем (–8,34 %, p<0,01), що свідчить про зменшення представленості потенційно патогенних ентеробактерій у структурі мікробіому. Одночасно спостерігалося достовірне підвищення відносної абундансності *Faecalibacterium prausnitzii* (+4,02 %, p<0,01), одного з ключових бутират-продуцентів, що асоціюється з покращенням метаболічної активності та бар'єрної функції кишечника.

Суттєві зміни також зафіксовано для представників родини *Lachnospiraceae* та *Ruminococcaceae.* Зокрема, у дослідній групі достовірно зросла частка *Papillibacter cinnamivorans* (+1,31 %, p<0,05), *Pseudoflavonifractor phocaeensis* (+1,30 %, p<0,01), *Butyricicoccus pullicaecorum* (+1,10 %, p<0,01), *Blautia producta* (+0,97 %, p<0,01) та *Fusicatenibacter saccharivorans* (+1,32 %, p<0,01), що вказує на посилення групи облігатно анаеробних бактерій, залучених до ферментації вуглеводів і синтезу коротколанцюгових жирних кислот.

Натомість у дослідній групі спостерігалося достовірне зниження відносної абундансності *Christensenella massiliensis* (-4,11 %, p<0,01), *Mediterraneibacter glycyrrhizinilyticus* (-0,65 %, p<0,01), *Vampirovibrio chlorellavorus* (–0,49 %, p<0,05), *Lactobacillus crispatus* (-1,56 %, p<0,05) та *Clostridium sp. BNL1100* (-0,47 %, p<0,05), що свідчить про перебудову мікробної екосистеми з перерозподілом таксономічних ніш.

Для низки таксонів (*Dysosmobacter welbionis, Flintibacter sp. KGMB00164, Lacrimispora saccharolytica, Faecalicatena fissicatena,*

*Anaeromassilibacillus senegalensis, Gemmiger formicilis*) статистично вірогідних змін між групами не виявлено (p > 0,05), що вказує на їх відносну стабільність за умов експериментального впливу.

*Таблиця 3.7.*

Зміни відносної абундансності домінантних бактеріальних таксонів мікробіому кишечника курчат за дії GFA-B (%; M±SD; n=5)

| Таксон | Контроль, середнє % | | Дослід, середнє % | | Δ (дослід–контроль) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| *Escherichia coli* | 22,45 | 3,44 | 14,11 | 0,49 | -8,34 | p<0,01 |
| *Faecalibacterium prausnitzii* | 7,04 | 1,62 | 11,06 | 0,11 | 4,02 | p<0,01 |
| *Dysosmobacter welbionis* | 4,50 | 1,16 | 5,29 | 1,56 | 0,79 | p = 0,20 |
| *Christensenella massiliensis* | 5,59 | 2,55 | 1,48 | 0,09 | -4,11 | p<0,01 |
| *Papillibacter cinnamivorans* | 2,35 | 0,99 | 3,67 | 0,31 | 1,31 | p<0,05 |
| *Flintibacter sp. KGMB00164* | 2,83 | 0,38 | 3,01 | 0,32 | 0,18 | p = 0,22 |
| *Pseudoflavonifractor phocaeensis* | 1,73 | 0,21 | 3,03 | 0,67 | 1,30 | p<0,01 |
| *Lacrimispora saccharolytica* | 2,21 | 0,25 | 2,33 | 0,05 | 0,12 | p = 0,16 |
| *Faecalicatena fissicatena* | 2,34 | 0,30 | 2,25 | 0,34 | -0,09 | p = 0,34 |
| *Mediterraneibacter glycyrrhizinilyticus* | 2,35 | 0,05 | 1,70 | 0,13 | -0,65 | p<0,01 |
| *Vampirovibrio chlorellavorus* | 2,04 | 0,10 | 1,55 | 0,46 | -0,49 | p<0,05 |
| *Fournierella massiliensis* | 1,24 | 0,01 | 2,22 | 0,09 | 0,98 | p<0,01 |
| *Anaeromassilibacillus senegalensis* | 1,64 | 0,64 | 1,75 | 0,04 | 0,11 | p = 0,36 |
| *Lactobacillus crispatus* | 2,45 | 1,46 | 0,89 | 0,24 | -1,56 | p<0,05 |
| *Butyricicoccus pullicaecorum* | 1,09 | 0,25 | 2,19 | 0,43 | 1,10 | p<0,01 |
| *Neglecta timonensis* | 1,33 | 0,07 | 1,87 | 0,25 | 0,54 | p<0,01 |
| *Clostridium sp. BNL1100* | 1,67 | 0,39 | 1,20 | 0,23 | -0,47 | p<0,05 |
| *Gemmiger formicilis* | 1,55 | 0,35 | 1,27 | 0,32 | -0,28 | p = 0,11 |
| *Blautia producta* | 0,92 | 0,02 | 1,88 | 0,07 | 0,97 | p<0,01 |
| *Fusicatenibacter saccharivorans* | 0,63 | 0,09 | 1,96 | 0,35 | 1,32 | p<0,01 |

***Примітка.*** *M – середнє значення; SD – стандартне відхилення; Δ – різниця між середніми значеннями дослідної та контрольної груп. Статистичну вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтні; p<0,05 – статистично значущі відмінності.*

Загалом виявлені зміни свідчать про спрямовану перебудову мікробіомного профілю кишечника курчат у дослідній групі з переважанням корисних анаеробних і бутират-продукуючих бактерій та зменшенням частки умовно патогенних таксонів.

У дослідній групі зафіксовано статистично вірогідне підвищення представленості ключових бутират-продуцентів (табл. 3.8). Найбільш виражене зростання відносної абундансності відмічено для *Faecalibacterium prausnitzii* (з 7,04 ± 1,62 % у контролі до 11,059 ± 0,11 % у досліді; Δ = +4,02 %, $p<0,01$), що свідчить про посилення функціонального потенціалу мікробіому щодо синтезу бутирату та підтримання гомеостазу кишкової екосистеми.

Достовірне збільшення також встановлено для *Fusicatenibacter saccharivorans* (0,635 ± 0,09 % проти 1,956 ± 0,35 %; Δ = +1,321 %, $p<0,01$), *Butyricicoccus pullicaecorum* (1,086 ± 0,25 % проти 2,19 ± 0,43 %; Δ = +1,104 %, $p<0,01$) та *Blautia producta* (0,916 ± 0,02 % проти 1,883 ± 0,07 %; Δ = +0,967 %, $p<0,01$). Сукупно ці зміни вказують на зростання частки облігатно анаеробних сахаролітичних бактерій, залучених у ферментацію субстратів з утворенням коротколанцюгових жирних кислот, насамперед бутирату.

Водночас для *Anaerostipes butyraticus* відмінності між групами були мінімальними (Δ = +0,006 %) і статистично невірогідними ($p = 0,548$). Для *Roseburia intestinalis* спостерігалася тенденція до підвищення (Δ = +0,019 %), однак без статистичної значущості ($p = 0,151$). *Intestinimonas butyriciproducens* у дослідній групі мав нижчу відносну абундансність порівняно з контролем (0,68 ± 0,01 % vs 0,438 ± 0,05 %; Δ = –0,242 %), проте різниця також не досягала статистичної значущості ($p = 0,151$).

Загалом, результати демонструють, що експериментальний вплив асоціювався з істотним збагаченням мікробіому кишечника курчат низкою провідних бутират-продукуючих таксонів, що узгоджується з підвищенням показників альфа-різноманіття та змінами структури мікробних спільнот за даними PCoA.

*Таблиця 3.8.*

Зміни відносної абундансності бутират-продукуючих бактерій мікробіому кишечника курчат за дії GFA-B (%; M±SD; n=5)

| Таксон | Контроль, середнє % | | Дослід, середнє % | | Δ (дослід–контроль) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| *Faecalibacterium prausnitzii* | 7,04 | 1,62 | 11,059 | 0,11 | 4,02 | p<0,01 |
| *Butyricicoccus pullicaecorum* | 1,086 | 0,25 | 2,19 | 0,43 | 1,104 | p<0,01 |
| *Fusicatenibacter saccharivorans* | 0,635 | 0,09 | 1,956 | 0,35 | 1,321 | p<0,01 |
| *Blautia producta* | 0,916 | 0,02 | 1,883 | 0,07 | 0,967 | p<0,01 |
| *Anaerostipes butyraticus* | 0,33 | 0,17 | 0,336 | 0,07 | 0,006 | p = 0,55 |
| *Roseburia intestinalis* | 0,048 | 0,01 | 0,067 | 0,03 | 0,019 | p = 0,15 |
| *Intestinimonas butyriciproducens* | 0,68 | 0,01 | 0,438 | 0,05 | -0,242 | p = 0,15 |

***Примітка.*** *Статистичну вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтн – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з контролем.*

У таблиці 3.9 представлено порівняльний аналіз відносної абундансності потенційних пробіотичних і коменсальних бактерій у мікробіомі кишечника курчат контрольної та дослідної груп. У дослідній групі встановлено різноспрямовані зміни вмісту представників пробіотичної та коменсальної мікрофлори. Для *Lactobacillus crispatus* відмічалася тенденція до зниження відносної абундансності порівняно з контролем (2,446 ± 1,46 % проти 0,888 ± 0,24 %; Δ = –1,557 %), однак ці відмінності не досягали статистичної значущості (p = 0,151). Аналогічна тенденція спостерігалася для *Lactobacillus salivarius* (Δ = –0,286 %; p = 0,31).

Для *Lactobacillus johnsonii* зафіксовано незначне підвищення відносної абундансності у дослідній групі (Δ = +0,022 %), однак різниця між групами була статистично невірогідною (p = 0,548). Подібний характер змін виявлено також для *Akkermansia muciniphila* (Δ = +0,045 %; p = 0,151) та *Bacteroides*

*uniformis* (Δ = +0,039; p = 0,151), що свідчить про тенденцію до зростання їх представленості без досягнення статистичної значущості.

*Таблиця 3.9.*

Зміни відносної абундансності потенційних пробіотичних та коменсальних таксонів у мікробіомі кишечника курчатза дії GFA-B (%; M±SD; n=5)

| Таксон | Контроль, середнє % | | Дослід, середнє % | | Δ (дослід–контроль) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| *Lactobacillus crispatus* | 2,446 | 1,46 | 0,888 | 0,24 | -1,557 | p = 0,15 |
| *Lactobacillus salivarius* | 0,855 | 0,42 | 0,569 | 0,33 | -0,286 | p = 0,31 |
| *Lactobacillus johnsonii* | 0,208 | 0,11 | 0,23 | 0,01 | 0,022 | p = 0,55 |
| *Akkermansia muciniphila* | 0,075 | 0,1 | 0,12 | 0,16 | 0,045 | p = 0,15 |
| *Bacteroides uniformis* | 0,061 | 0,04 | 0,1 | 0,05 | 0,039 | p = 0,15 |
| *Blautia hansenii* | 0,15 | 0,07 | 0,402 | 0,1 | 0,252 | p<0,01 |
| *Subdoligranulum variabile* | 0,714 | 0,13 | 0,751 | 0,14 | 0,037 | p = 0,55 |

***Примітка.*** *Статистичну вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтн – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з контролем.*

Водночас для *Blautia hansenii* у дослідній групі встановлено достовірне підвищення відносної абундансності більш ніж у 2,5 раза (0,15 ± 0,07 % у контролі проти 0,402 ± 0,1 % у досліді; Δ = +0,252 %, p<0,01). Це вказує на активне залучення даного коменсального таксона до перебудови мікробіомної екосистеми кишечника за умов експериментального впливу.

Для *Subdoligranulum variabile* спостерігалися лише мінімальні зміни між групами (Δ = +0,037 %), які не мали статистичної значущості (p = 0,548), що свідчить про стабільність цього таксона у складі мікробіому.

У цілому, результати аналізу потенційних пробіотичних і коменсальних бактерій вказують на селективну перебудову мікробіомного профілю з

достовірним зростанням окремих представників коменсальної флори на тлі відносної стабільності або помірного зниження частки окремих лактобацил.

У таблиці 3.10. наведено порівняльну характеристику відносної абундансності потенційних патогенних і патобіонтних бактерій у мікробіомі кишечника курчат контрольної та дослідної груп.

У дослідній групі встановлено достовірне зниження частки основних умовно патогенних ентеробактерій. Найбільш виражене зменшення відносної абундансності зафіксовано для *Escherichia coli* (з 22,45 ± 3,44 % у контролі до 14,112 ± 0,49 % у досліді; Δ = –8,338 %, p<0,01), що свідчить про істотне пригнічення представників умовно патогенної мікрофлори кишечника.

Аналогічно, у дослідній групі відмічалося статистично вірогідне зниження вмісту *Proteus mirabilis* (1,91 ± 0,23 % проти 0,614 ± 0,3 %; Δ = –1,296 %, p<0,01) та *Helicobacter pullorum* (0,819 ± 0,52 % проти 0,329 ± 0,21 %; Δ = –0,49 %, p<0,01), що вказує на зменшення бактеріального навантаження потенційно патогенних мікроорганізмів, асоційованих із порушеннями функціонального стану кишечника та системною запальною відповіддю.

Для *Campylobacter jejuni* та *Clostridium perfringens* у дослідній групі спостерігалася тенденція до зниження відносної абундансності (Δ = –0,037 % та Δ = –0,002 % відповідно), однак ці відмінності не досягали статистичної значущості (p = 0,151), що може свідчити про їх низьку представленість і обмежену чутливість до експериментального впливу за досліджуваних умов.

Водночас для *Klebsiella pneumoniae* у дослідній групі відмічалася тенденція до підвищення відносної абундансності (Δ = +0,006 %), проте різниця між групами була статистично невірогідною (p = 0,31). Для *Enterococcus cecorum* суттєвих змін між групами не встановлено (Δ = –0,004 %, p = 0,548), що вказує на відносну стабільність цього таксона у структурі мікробіому.

Загалом, результати свідчать про виражений нормалізуючий ефект експериментального впливу на мікробіом кишечника курчат, що проявлявся

достовірним зменшенням частки ключових потенційних патогенів та патобіонтів.

*Таблиця 3.10.*

Зміни відносної абундансності потенційних пробіотичних та коменсальних таксонів у мікробіомі кишечника курчат за дії GFA-B (%; M±SD; n=5)

| Таксон | Контроль, середнє % | | Дослід, середнє % | | Δ (дослід–контроль) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| *Escherichia coli* | 22,45 | 3,44 | 14,112 | 0,49 | -8,338 | p<0,01 |
| *Proteus mirabilis* | 1,91 | 0,23 | 0,614 | 0,3 | -1,296 | p<0,01 |
| *Helicobacter pullorum* | 0,819 | 0,52 | 0,329 | 0,21 | -0,49 | p<0,01 |
| *Campylobacter jejuni* | 0,14 | 0,09 | 0,103 | 0,07 | -0,037 | p = 0,15 |
| *Clostridium perfringens* | 0,004 | 0,003 | 0,002 | 0,001 | -0,002 | p = 0,15 |
| *Klebsiella pneumoniae* | 0,007 | 0,005 | 0,013 | 0,009 | 0,006 | p = 0,31 |
| *Enterococcus cecorum* | 0,055 | 0,03 | 0,051 | 0,02 | -0,004 | p = 0,55 |

***Примітка.*** *Статистичну вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтн – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з контролем.*

Таким чином, Проведений аналіз таксономічного складу, альфа- та бета-різноманіття мікробіому кишечника курчат засвідчив, що застосування GFA-B спричиняє виражену та статистично вірогідну перебудову мікробної екосистеми. У дослідній групі зафіксовано підвищення мікробного різноманіття та вирівнювання структури бактеріальних спільнот, що підтверджується зростанням індексів Шеннона та Сімпсона, а також чітким просторовим розділенням зразків за результатами PCoA.

Таксономічний аналіз домінантних бактерій виявив спрямований зсув мікробіомного профілю у бік збагачення облігатно анаеробних, сахаролітичних і бутират-продукуючих таксонів, зокрема *Faecalibacterium prausnitzii*, *Butyricicoccus pullicaecorum*, *Fusicatenibacter saccharivorans* та

*Blautia producta*. Одночасно відмічено достовірне зниження частки ключових умовно патогенних та патобіонтних бактерій, насамперед *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* та *Helicobacter pullorum*.

Зміни у складі потенційних пробіотичних і коменсальних таксонів мали вибірковий характер і супроводжувалися достовірним зростанням окремих представників коменсальної флори на тлі відносної стабільності інших компонентів мікробіому. Сукупність отриманих результатів свідчить про нормалізуючий та метаболічно сприятливий вплив GFA-B на мікробіом кишечника курчат, що проявляється підвищенням його функціональної зрілості, стабільності та потенціалу до синтезу коротколанцюгових жирних кислот.

Результати досліджень розділу представлені в роботах [8].

## 3.3. Гематологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів за дії GFA-B

### 3.3.1. Зміни гематологічних і імунних показників крові курчат-бройлерів під впливом GFA-B

Як показано в табл. 3.11, упродовж 2–6 тижнів життя курчат-бройлерів у контрольній та дослідній групах відмічали виражену вікову динаміку показників киснево-транспортної функції крові. Кількість еритроцитів у контрольній групі за період дослідження збільшилася з 1,76±0,22 Т/л на 2-му тижні до 2,30±0,31 Т/л на 6-му тижні, що відповідало приросту на 30,7%. У дослідній групі кількість еритроцитів зросла з 1,74±0,23 до 2,42±0,36 Т/л, тобто на 39,1%. При міжгруповому порівнянні на 2-му та 3-му тижнях кількість еритроцитів у курчат, які отримували GFA-B, була нижчою відповідно на 1,1% ($p=0,446$) та 8,1% ($p=0,187$). Водночас на 4-му тижні життя встановлено вірогідно вищий рівень еритроцитів у дослідній групі на 6,4% ($p=0,024$), тоді як на 5-му та 6-му тижнях різниця між групами становила 4,4% ($p=0,246$) та 5,2% ($p=0,294$) відповідно.

*Таблиця 3.11.*

Показники киснево-транспортної функції крові курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Кількість еритроцитів, Т/л | | | | | | |
| 2 | 1,76 | 0,22 | 1,74 | 0,23 | -1,1% | 0,446 |
| 3 | 1,98 | 0,33 | 1,82 | 0,19 | -8,1% | 0,187 |
| 4 | 2,20 | 0,10 | 2,34 | 0,09 | 6,4% | 0,024 |
| 5 | 2,26 | 0,15 | 2,36 | 0,27 | 4,4% | 0,246 |
| 6 | 2,30 | 0,31 | 2,42 | 0,36 | 5,2% | 0,294 |
| Вміст гемоглобіну, г/л | | | | | | |
| 2 | 57,80 | 10,62 | 59,00 | 7,42 | 2,1% | 0,421 |
| 3 | 69,40 | 10,74 | 65,40 | 8,53 | -5,8% | 0,266 |
| 4 | 79,00 | 3,67 | 81,00 | 3,39 | 2,5% | 0,199 |
| 5 | 81,40 | 6,43 | 84,60 | 6,84 | 3,9% | 0,234 |
| 6 | 73,80 | 8,07 | 81,20 | 12,68 | 10,0% | 0,151 |
| Показник гематокриту, % | | | | | | |
| 2 | 18,76 | 3,39 | 19,14 | 1,83 | 2,0% | 0,415 |
| 3 | 19,46 | 2,88 | 18,44 | 1,96 | -5,2% | 0,265 |
| 4 | 21,12 | 0,88 | 21,98 | 1,02 | 4,1% | 0,096 |
| 5 | 21,18 | 1,69 | 20,76 | 1,07 | -2,0% | 0,326 |
| 6 | 21,42 | 2,31 | 22,90 | 3,73 | 6,9% | 0,236 |

Вміст гемоглобіну в контрольній групі протягом досліджуваного періоду підвищився з 57,80±10,62 г/л на 2-му тижні до 73,80±8,07 г/л на 6-му тижні, що відповідало загальному приросту на 27,7%, із максимальним значенням на 5-му тижні 81,40±6,43 г/л, що перевищувало рівень 2-го тижня на 40,8%. У дослідній групі рівень гемоглобіну зріс із 59,00±7,42 до 81,20±12,68 г/л, тобто на 37,6%, з піковим підвищенням на 5-му тижні до 84,60±6,84 г/л, що відповідало збільшенню на 43,4% порівняно з 2-м тижнем. Міжгруповий аналіз показав, що на 2-му тижні вміст гемоглобіну у дослідній групі був вищим на 2,1% (p=0,421), на 3-му тижні нижчим на 5,8% (p=0,266),

тоді як на 4-му, 5-му та 6-му тижнях перевищував контроль відповідно на 2,5% (p=0,199), 3,9% (p=0,234) та 10,0% (p=0,151).

Показник гематокриту у контрольній групі за період із 2-го до 6-го тижня зріс із 18,76±3,39% до 21,42±2,31%, що відповідало підвищенню на 14,2%. У дослідній групі гематокрит збільшився з 19,14±1,83% до 22,90±3,73%, тобто на 19,6%. При міжгруповому порівнянні на 2-му тижні гематокрит у дослідній групі був вищим на 2,0% (p=0,415), на 3-му тижні нижчим на 5,2% (p=0,265), на 4-му тижні перевищував контроль на 4,1% (p=0,096), на 5-му тижні був нижчим на 2,0% (p=0,326), тоді як на 6-му тижні перевищував контроль на 6,9% (p=0,236).

Узагальнюючи отримані результати, слід зазначити, що застосування GFA-B супроводжувалося більш вираженим віковим приростом показників киснево-транспортної функції крові, зокрема кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту, порівняно з контролем, не порушуючи при цьому фізіологічного характеру їх змін. Статистично вірогідні міжгрупові відмінності встановлено лише для кількості еритроцитів на 4-му тижні життя курчат-бройлерів.

Аналіз отриманих результатів показав, що упродовж 2–6 тижнів життя курчат-бройлерів показники загальної запально-реактивної відповіді та тромбоцитарної ланки крові характеризувалися вираженою віковою мінливістю як у контрольній, так і в дослідній групах (табл. 3.12). Показник ШОЕ у контрольній групі на 3-му тижні зростав порівняно з 2-м тижнем з 4,20±1,30 до 5,60±0,55 ум. од., що відповідало підвищенню на 33,3%, після чого на 6-му тижні знижувався до 1,80±1,30 ум. од., тобто на 67,9% відносно максимального значення. У дослідній групі ШОЕ на 3-му тижні збільшувався з 4,60±0,55 до 6,00±1,00 ум. од., що відповідало приросту на 30,4%, а на 6-му тижні знижувався до 1,60±0,55 ум. од., або на 73,3% порівняно з піковим рівнем. Міжгруповий аналіз показав, що у дослідній групі ШОЕ перевищував контроль на 2–5-му тижнях відповідно на 9,5% (p=0,272), 7,1% (p=0,228), 18,2% (p=0,333) та 8,3% (p=0,427), тоді як на 6-му тижні був нижчим на 11,1%

(p=0,380), при відсутності статистично вірогідних відмінностей у всі терміни дослідження.

*Таблиця 3.12.*

Загальні прозапальні та тромбоцитарні показники крові курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5) (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| ШОЕ, ум. од. | | | | | | |
| 2 | 4,20 | 1,30 | 4,60 | 0,55 | 9,5% | 0,272 |
| 3 | 5,60 | 0,55 | 6,00 | 1,00 | 7,1% | 0,228 |
| 4 | 2,20 | 1,64 | 2,60 | 1,14 | 18,2% | 0,333 |
| 5 | 2,40 | 1,14 | 2,60 | 2,07 | 8,3% | 0,427 |
| 6 | 1,80 | 1,30 | 1,60 | 0,55 | -11,1% | 0,380 |
| Кількість лейкоцитів, Г/л | | | | | | |
| 2 | 3,66 | 1,16 | 4,44 | 1,15 | 21,3% | 0,158 |
| 3 | 7,38 | 1,72 | 6,92 | 1,75 | -6,2% | 0,343 |
| 4 | 11,76 | 3,20 | 12,94 | 3,48 | 10,0% | 0,296 |
| 5 | 14,10 | 3,13 | 18,00 | 3,21 | 27,7% | 0,044 |
| 6 | 5,88 | 2,88 | 14,02 | 5,14 | 138,4% | 0,007 |
| Кількість тромбоцитів, Г/л | | | | | | |
| 2 | 22,16 | 3,21 | 20,30 | 0,66 | -8,4% | 0,120 |
| 3 | 20,66 | 5,34 | 18,04 | 1,97 | -12,7% | 0,167 |
| 4 | 19,04 | 1,08 | 21,56 | 2,37 | 13,2% | 0,031 |
| 5 | 17,66 | 1,83 | 17,96 | 1,21 | 1,7% | 0,383 |
| 6 | 20,68 | 4,03 | 26,50 | 3,42 | 28,1% | 0,020 |

Кількість лейкоцитів у контрольній групі протягом досліджуваного періоду зростала з 3,66±1,16 Г/л на 2-му тижні до 14,10±3,13 Г/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 285,8%, з подальшим зниженням на 6-му тижні до 5,88±2,88 Г/л, або на 58,3% відносно максимального значення. У дослідній групі кількість лейкоцитів зросла з 4,44±1,15 до 18,00±3,21 Г/л на 5-му тижні, що відповідало приросту на 305,4%, і зберігалася на високому рівні на 6-му тижні 14,02±5,14 Г/л. При міжгруповому порівнянні на 2-му тижні кількість лейкоцитів у дослідній групі перевищувала контроль на 21,3% (p=0,158), на 3-

му тижні була нижчою на 6,2% (p=0,343), на 4-му тижні перевищувала контроль на 10,0% (p=0,296), тоді як на 5-му та 6-му тижнях була вірогідно вищою відповідно на 27,7% (p=0,044) та 138,4% (p=0,007).

Кількість тромбоцитів у контрольній групі упродовж дослідження зменшувалася з 22,16±3,21 Г/л на 2-му тижні до 17,66±1,83 Г/л на 5-му тижні, що відповідало зниженню на 20,3%, з подальшим підвищенням на 6-му тижні до 20,68±4,03 Г/л. У дослідній групі кількість тромбоцитів коливалася в межах 18,04±1,97–26,50±3,42 Г/л, досягаючи максимального значення на 6-му тижні, що відповідало зростанню на 30,5% порівняно з 2-м тижнем. При міжгруповому аналізі на 2-му та 3-му тижнях кількість тромбоцитів у дослідній групі була нижчою відповідно на 8,4% (p=0,120) та 12,7% (p=0,167). Водночас на 4-му тижні вона вірогідно перевищувала контроль на 13,2% (p=0,031), а на 6-му тижні на 28,1% (p=0,020), тоді як на 5-му тижні різниця між групами становила 1,7% (p=0,383).

Узагальнюючи отримані результати, слід зазначити, що застосування GFA-B не супроводжувалося розвитком патологічної запальної реакції, але асоціювалося з більш вираженою активацією лейкоцитарної та тромбоцитарної ланок крові у другій половині періоду вирощування, що підтверджується вірогідним підвищенням кількості лейкоцитів і тромбоцитів на 5–6-му тижнях життя курчат-бройлерів.

Як показано в табл. 3.13, лейкоцитарна формула крові курчат-бройлерів упродовж 2–6 тижнів життя характеризувалася вираженою віковою динамікою, при цьому застосування GFA-B зумовлювало фазні зміни співвідношення окремих популяцій лейкоцитів. Частка лімфоцитів у контрольній групі з 2-го до 4-го тижня зростала з 70,80±5,31% до 74,80±5,17%, що відповідало підвищенню на 5,6%, після чого на 5-му тижні знижувалася до 59,60±6,91%, або на 20,3%, і на 6-му тижні частково відновлювалася до 62,00±8,92%. У дослідній групі частка лімфоцитів на 3-му тижні зростала з 65,40±8,50% до 81,00±5,20%, що відповідало приросту на 23,8%, після чого на 4-му тижні різко знижувалася до 56,80±5,40%, або на 29,9%, і надалі

коливалася в межах 51,60–66,80%. При міжгруповому порівнянні на 2-му тижні частка лімфоцитів у дослідній групі була нижчою на 7,6% (p=0,131), на 3-му тижні вірогідно вищою на 15,4% (p=0,003), на 4-му тижні вірогідно нижчою на 24,1% (p=0,000), на 5-му тижні вищою на 12,1% (p=0,037), а на 6-му тижні нижчою на 16,8% (p=0,047).

Частка базофілів у контрольній групі з 2-го до 3-го тижня знижувалася з 6,00±1,00% до 4,40±1,14%, що відповідало зменшенню на 26,7%, після чого коливалася в межах 4,00–6,40% до завершення досліду. У дослідній групі частка базофілів зменшувалася з 6,20±1,48% до 3,20±1,10% на 3-му тижні, або на 48,4%, з подальшими коливаннями в межах 4,40–7,00%. Міжгрупові відмінності за часткою базофілів у всі терміни спостереження були невірогідними і становили від 3,3% (p=0,404) до 27,3% (p=0,064).

Частка еозинофілів у контрольній групі на 5-му тижні зростала з 0,80±1,64% до 18,60±1,95%, що відповідало підвищенню більш ніж у 23 рази, і зберігалася на високому рівні на 6-му тижні (19,60±5,59%). У дослідній групі частка еозинофілів збільшувалася з 12,20±5,89% на 2-му тижні до 33,00±5,43% на 6-му тижні, що відповідало приросту на 170,5%. При міжгруповому аналізі на 2-му тижні частка еозинофілів у дослідній групі перевищувала контроль на 56,4% (p=0,117), на 3-му тижні була нижчою на 31,3% (p=0,144), на 4-му тижні вищою на 25,0% (p=0,431), на 5-му тижні вищою на 8,6% (p=0,191), тоді як на 6-му тижні встановлено її вірогідне перевищення над контролем на 68,4% (p=0,002).

Частка гетерофілів у контрольній групі зростала з 8,60±2,79% на 2-му тижні до 16,20±4,82% на 4-му тижні, що відповідало підвищенню на 88,4%, після чого знижувалася до 3,60±2,30% на 6-му тижні. У дослідній групі частка гетерофілів збільшувалася з 10,80±4,55% до 32,60±7,33% на 4-му тижні, що відповідало зростанню на 201,9%, із подальшим різким зниженням на 5-му тижні до 3,80±2,49%. Міжгрупове порівняння показало, що на 3-му тижні частка гетерофілів у дослідній групі була вірогідно нижчою на 43,9% (p=0,040), на 4-му тижні вірогідно вищою на 101,2% (p=0,002), на 5-му тижні

вірогідно нижчою на 68,9% (p=0,019), тоді як на 2-му та 6-му тижнях відмінності були невірогідними.

*Таблиця 3.13.*

Лейкограма крові курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Лімфоцити, % | | | | | | |
| 2 | 70,80 | 5,31 | 65,40 | 8,50 | -7,6% | 0,131 |
| 3 | 70,20 | 3,63 | 81,00 | 5,20 | 15,4% | 0,003 |
| 4 | 74,80 | 5,17 | 56,80 | 5,40 | -24,1% | 0,000 |
| 5 | 59,60 | 6,91 | 66,80 | 3,63 | 12,1% | 0,037 |
| 6 | 62,00 | 8,92 | 51,60 | 8,44 | -16,8% | 0,047 |
| Базофіли,% | | | | | | |
| 2 | 6,00 | 1,00 | 6,20 | 1,48 | 3,3% | 0,404 |
| 3 | 4,40 | 1,14 | 3,20 | 1,10 | -27,3% | 0,064 |
| 4 | 4,00 | 2,24 | 4,40 | 1,52 | 10,0% | 0,375 |
| 5 | 5,60 | 1,67 | 4,60 | 2,19 | -17,9% | 0,220 |
| 6 | 6,40 | 2,51 | 7,00 | 2,74 | 9,4% | 0,364 |
| Еозинофіли,% | | | | | | |
| 2 | 7,80 | 4,87 | 12,20 | 5,89 | 56,4% | 0,117 |
| 3 | 9,60 | 5,03 | 6,60 | 3,05 | -31,3% | 0,144 |
| 4 | 0,80 | 1,64 | 1,00 | 1,87 | 25,0% | 0,431 |
| 5 | 18,60 | 1,95 | 20,20 | 3,35 | 8,6% | 0,191 |
| 6 | 19,60 | 5,59 | 33,00 | 5,43 | 68,4% | 0,002 |
| Гетерофіли, % | | | | | | |
| 2 | 8,60 | 2,79 | 10,80 | 4,55 | 25,6% | 0,192 |
| 3 | 13,20 | 4,92 | 7,40 | 4,22 | -43,9% | 0,040 |
| 4 | 16,20 | 4,82 | 32,60 | 7,33 | 101,2% | 0,002 |
| 5 | 12,20 | 7,19 | 3,80 | 2,49 | -68,9% | 0,019 |
| 6 | 3,60 | 2,30 | 3,00 | 1,58 | -16,7% | 0,322 |
| Моноцити, % | | | | | | |
| 2 | 6,80 | 1,79 | 5,40 | 2,30 | -20,6% | 0,157 |
| 3 | 2,60 | 1,82 | 1,80 | 3,11 | -30,8% | 0,317 |
| 4 | 4,20 | 2,59 | 5,20 | 1,30 | 23,8% | 0,231 |
| 5 | 4,00 | 2,12 | 4,60 | 3,05 | 15,0% | 0,364 |
| 6 | 8,40 | 5,55 | 5,40 | 4,93 | -35,7% | 0,196 |

Частка моноцитів у контрольній групі з 2-го до 3-го тижня знижувалася з 6,80±1,79% до 2,60±1,82%, або на 61,8%, з подальшим підвищенням до 8,40±5,55% на 6-му тижні. У дослідній групі частка моноцитів коливалася в межах 1,80–5,40% без чітко вираженої спрямованості вікових змін. Міжгрупові відмінності за часткою моноцитів у всі терміни спостереження були невірогідними і становили від 15,0 до 35,7%.

Узагальнюючи результати, встановлено, що застосування GFA-B супроводжувалося фазними перебудовами часток основних популяцій лейкоцитів, зокрема лімфоцитів, гетерофілів та еозинофілів, із наявністю статистично вірогідних міжгрупових відмінностей на окремих етапах вирощування, що відображає модулюючий вплив препарату на імунну реактивність без ознак патологічного запалення.

Результати досліджень розділу представлені в роботах [8].

### 3.3.2. Динаміка біохімічних показників крові курчат-бройлерів за дії GFA-B

Аналіз показників білкового обміну та білкових фракцій сироватки крові курчат-бройлерів упродовж 2–6 тижнів життя показав різко виражену вікову динаміку змін в обох групах, що відображало інтенсивність ростових процесів та перебудову білкового метаболізму (табл. 3.14). Вміст загального білка у контрольній групі підвищувався з 20,44±2,25 г/л на 2-му тижні до 51,58±4,76 г/л на 5-му тижні, що відповідало приросту на 152,3%, після чого на 6-му тижні знижувався до 47,58±4,91 г/л, або на 7,8% відносно максимального рівня. У дослідній групі вміст загального білка зростав з 19,44±1,90 г/л на 2-му тижні до 48,46±4,81 г/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 149,3%, і на 6-му тижні становив 44,70±3,15 г/л, тобто був нижчим на 7,7% порівняно з піковим значенням. При міжгруповому порівнянні на 2-му та 3-му тижнях показник у дослідній групі був нижчим відповідно на 4,9% ($p=0,235$) та 5,1% ($p=0,329$), на 4-му тижні перевищував контроль на 10,8% ($p=0,074$), тоді як на

5-му та 6-му тижнях був нижчим на 6,0% (p=0,167) та 6,1% (p=0,151), при відсутності статистично вірогідних відмінностей у всі терміни спостереження.

*Таблиця 3.14.*

Показники білкового обміну та білкових фракцій сироватки крові курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5) (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Вміст загального білка, г/л | | | | | | |
| 2 | 20,44 | 2,25 | 19,44 | 1,90 | -4,9% | 0,235 |
| 3 | 22,44 | 5,52 | 21,30 | 0,68 | -5,1% | 0,329 |
| 4 | 39,42 | 3,94 | 43,66 | 4,41 | 10,8% | 0,074 |
| 5 | 51,58 | 4,76 | 48,46 | 4,81 | -6,0% | 0,167 |
| 6 | 47,58 | 4,91 | 44,70 | 3,15 | -6,1% | 0,151 |
| Вміст альбумінів , г/л | | | | | | |
| 2 | 12,42 | 1,58 | 11,28 | 1,88 | -9,2% | 0,165 |
| 3 | 14,44 | 2,61 | 14,40 | 0,93 | -0,3% | 0,487 |
| 4 | 16,46 | 1,59 | 17,56 | 0,94 | 6,7% | 0,110 |
| 5 | 17,16 | 2,47 | 12,14 | 1,33 | -29,3% | 0,002 |
| 6 | 13,14 | 1,47 | 14,60 | 1,76 | 11,1% | 0,096 |
| Вміст глобулінів, г/л | | | | | | |
| 2 | 8,02 | 1,19 | 8,16 | 1,47 | 1,7% | 0,436 |
| 3 | 8,00 | 3,04 | 6,90 | 0,35 | -13,8% | 0,222 |
| 4 | 22,96 | 4,35 | 26,10 | 4,65 | 13,7% | 0,151 |
| 5 | 34,42 | 4,20 | 36,32 | 4,65 | 5,5% | 0,258 |
| 6 | 34,44 | 3,69 | 30,10 | 2,98 | -12,6% | 0,037 |
| Показник білкового коефіцієнту, ум. од. | | | | | | |
| 2 | 1,57 | 0,25 | 1,44 | 0,47 | -8,0% | 0,305 |
| 3 | 1,95 | 0,54 | 2,10 | 0,24 | 7,5% | 0,297 |
| 4 | 0,75 | 0,22 | 0,69 | 0,13 | -7,6% | 0,319 |
| 5 | 0,51 | 0,10 | 0,34 | 0,06 | -33,0% | 0,006 |
| 6 | 0,38 | 0,03 | 0,49 | 0,09 | 28,2% | 0,014 |

Вміст альбумінів у контрольній групі збільшувався з 12,42±1,58 г/л на 2-му тижні до 17,16±2,47 г/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 38,2%, після чого на 6-му тижні знижувався до 13,14±1,47 г/л, або на 23,4% відносно максимального рівня. У дослідній групі вміст альбумінів зростав з

11,28±1,88 до 17,56±0,94 г/л на 4-му тижні, що відповідало підвищенню на 55,7%, однак на 5-му тижні різко знижувався до 12,14±1,33 г/л, або на 30,9% відносно попереднього періоду, і на 6-му тижні становив 14,60±1,76 г/л, що було на 20,3% вище порівняно з 5-м тижнем. Міжгрупове порівняння показало, що на 2-му тижні вміст альбумінів у дослідній групі був нижчим на 9,2% (p=0,165), на 3-му тижні практично не відрізнявся від контролю (–0,3%; p=0,487), на 4-му тижні перевищував контроль на 6,7% (p=0,110), тоді як на 5-му тижні був вірогідно нижчим на 29,3% (p=0,002), а на 6-му тижні перевищував контроль на 11,1% (p=0,096).

Вміст глобулінів у контрольній групі зростав з 8,02±1,19 г/л на 2-му тижні до 34,44±3,69 г/л на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 329,4%, із різким зростанням у період 3–4 тижнів (з 8,00±3,04 до 22,96±4,35 г/л, тобто на 187,0%). У дослідній групі вміст глобулінів збільшувався з 8,16±1,47 до 36,32±4,65 г/л на 5-му тижні, що відповідало приросту на 345,1%, після чого на 6-му тижні знижувався до 30,10±2,98 г/л, або на 17,1% відносно максимального рівня. При міжгруповому порівнянні на 2-му тижні глобуліни у дослідній групі перевищували контроль на 1,7% (p=0,436), на 3-му тижні були нижчими на 13,8% (p=0,222), на 4-му тижні вищими на 13,7% (p=0,151), на 5-му тижні вищими на 5,5% (p=0,258), тоді як на 6-му тижні були вірогідно нижчими на 12,6% (p=0,037).

Показник білкового коефіцієнта у контрольній групі з 2-го до 3-го тижня підвищувався з 1,57±0,25 до 1,95±0,54 ум. од., що відповідало приросту на 24,2%, після чого знижувався до 0,38±0,03 ум. од. на 6-му тижні, тобто на 80,5% відносно 3-го тижня. У дослідній групі білковий коефіцієнт зростав з 1,44±0,47 до 2,10±0,24 ум. од. на 3-му тижні, що відповідало підвищенню на 45,8%, далі знижувався до 0,34±0,06 ум. од. на 5-му тижні, або на 83,8% відносно 3-го тижня, і підвищувався до 0,49±0,09 ум. од. на 6-му тижні, що відповідало збільшенню на 44,1% відносно 5-го тижня. Міжгрупові відмінності за білковим коефіцієнтом на 2–4-му тижнях були невірогідними та становили –8,0% (p=0,305), +7,5% (p=0,297) і –7,6% (p=0,319) відповідно, тоді

як на 5-му тижні показник у дослідній групі був вірогідно нижчим на 33,0% (p=0,006), а на 6-му тижні вірогідно вищим на 28,2% (p=0,014).

Узагальнюючи отримані дані, встановлено, що в обох групах відмічали інтенсивне вікове підвищення загального білка та глобулінів, що відповідає фізіологічним особливостям росту бройлерів. Застосування GFA-B асоціювалося з фазними змінами білкових фракцій, які проявлялися вірогідним зниженням вмісту альбумінів на 5-му тижні (–29,3%; p=0,002), вірогідним зниженням глобулінів на 6-му тижні (–12,6%; p=0,037) та різноспрямованими, але вірогідними змінами білкового коефіцієнта на 5–6-му тижнях (–33,0%; p=0,006 та +28,2%; p=0,014), що свідчить про модулювальний вплив GFA-B на білковий обмін у пізні терміни вирощування.

Згідно з даними табл. 3.15, показники азотистого обміну та видільної функції у курчат-бройлерів упродовж 2–6 тижнів життя характеризувалися чітко вираженою віковою динамікою в обох групах. Вміст сечової кислоти у контрольній групі зростав із 99,16±12,71 ммоль/л на 2-му тижні до 165,26±15,08 ммоль/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 66,7%, після чого на 6-му тижні знижувався до 126,18±18,12 ммоль/л, або на 23,7% відносно максимального рівня. У дослідній групі вміст сечової кислоти також зростав із 100,18±18,47 ммоль/л до 156,72±16,13 ммоль/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 56,4%, і на 6-му тижні становив 117,64±13,71 ммоль/л, тобто був нижчим на 24,9% порівняно з піковим значенням. При міжгруповому порівнянні на 2-му та 3-му тижнях вміст сечової кислоти у дослідній групі перевищував контроль відповідно на 1,0% (p=0,461) та 2,5% (p=0,411). Водночас на 4-му тижні встановлено вірогідно вищий рівень сечової кислоти у курчат, які отримували GFA-B, на 25,4% (p=0,003). На 5-му та 6-му тижнях показник у дослідній групі був нижчим за контроль відповідно на 5,2% (p=0,206) та 6,8% (p=0,213).

Вміст креатиніну у контрольній групі зростав із 50,36±8,19 ммоль/л на 2-му тижні до 55,32±11,68 ммоль/л на 3-му тижні, що відповідало підвищенню на 9,9%, після чого на 4-му тижні знижувався до 34,44±5,84 ммоль/л, або на

37,7% відносно 3-го тижня. На 5-му тижні відмічали повторне підвищення показника до 63,34±9,36 ммоль/л, що відповідало зростанню на 84,0% порівняно з 4-м тижнем, із подальшим зниженням до 57,64±7,90 ммоль/л на 6-му тижні. У дослідній групі вміст креатиніну змінювався від 46,88±7,96 ммоль/л на 2-му тижні до 48,16±4,31 ммоль/л на 3-му тижні, з подальшим зниженням на 4-му тижні до 38,80±5,19 ммоль/л, або на 19,4%, та підвищенням на 5-му тижні до 53,30±4,46 ммоль/л, що відповідало зростанню на 37,4% порівняно з 4-м тижнем. На 6-му тижні показник становив 54,76±5,24 ммоль/л. Міжгруповий аналіз показав, що у дослідній групі вміст креатиніну був нижчим за контроль на 2-му та 3-му тижнях відповідно на 6,9% (p=0,257) та 12,9% (p=0,117), на 4-му тижні вищим на 12,7% (p=0,124), тоді як на 5-му тижні був вірогідно нижчим на 15,9% (p=0,031), а на 6-му тижні нижчим на 5,0% (p=0,258).

*Таблиця 3.15.*

Показники азотистого обміну та видільної функції у курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Вміст сечової кислоти, ммоль/л | | | | | | |
| 2 | 99,16 | 12,71 | 100,18 | 18,47 | 1,0% | 0,461 |
| 3 | 112,68 | 21,07 | 115,54 | 17,66 | 2,5% | 0,411 |
| 4 | 116,46 | 12,21 | 146,08 | 12,79 | 25,4% | 0,003 |
| 5 | 165,26 | 15,08 | 156,72 | 16,13 | -5,2% | 0,206 |
| 6 | 126,18 | 18,12 | 117,64 | 13,71 | -6,8% | 0,213 |
| Вміст креатиніну, ммоль/л | | | | | | |
| 2 | 50,36 | 8,19 | 46,88 | 7,96 | -6,9% | 0,257 |
| 3 | 55,32 | 11,68 | 48,16 | 4,31 | -12,9% | 0,117 |
| 4 | 34,44 | 5,84 | 38,80 | 5,19 | 12,7% | 0,124 |
| 5 | 63,34 | 9,36 | 53,30 | 4,46 | -15,9% | 0,031 |
| 6 | 57,64 | 7,90 | 54,76 | 5,24 | -5,0% | 0,258 |

Узагальнюючи отримані результати, встановлено, що в обох групах відмічалася фізіологічна вікова динаміка показників азотистого обміну, з

піковими значеннями сечової кислоти та креатиніну у період 4–5 тижнів життя. Застосування GFA-B асоціювалося з вірогідним транзиторним підвищенням рівня сечової кислоти на 4-му тижні (+25,4%; p=0,003) та вірогідним зниженням рівня креатиніну на 5-му тижні (–15,9%; p=0,031), що свідчить про модулювальний вплив препарату на інтенсивність азотистого обміну та функціональний стан видільної системи курчат-бройлерів без ознак її перевантаження.

Як показано в табл. 3.16 ферментативна активність та індексні показники упродовж 2–6 тижнів життя курчат-бройлерів характеризувалися вираженою віковою мінливістю в обох групах, а дія GFA-B супроводжувалася фазними змінами окремих параметрів.

Активність ALT у контрольній групі зростала від 163,40±17,60 Од/л на 2-му тижні до 252,42±35,56 Од/л на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 54,5%, з максимальним значенням на 5-му тижні 282,70±14,29 Од/л, або на 73,0% вище від рівня 2-го тижня. У дослідній групі активність ALT збільшувалася з 146,94±19,15 до 256,32±35,29 Од/л, тобто на 74,4%, при цьому пікове значення відмічали на 4-му тижні 273,12±26,98 Од/л, що на 85,9% перевищувало рівень 2-го тижня, після чого на 5-му тижні показник знижувався до 202,32±40,39 Од/л, або на 25,9% відносно 4-го тижня. Міжгруповий аналіз показав, що на 2-му тижні активність ALT у дослідній групі була нижчою на 10,1% (p=0,097), на 3-му тижні практично не відрізнялася (+1,7%; p=0,423), на 4-му тижні була вірогідно вищою на 19,5% (p=0,027), на 5-му тижні вірогідно нижчою на 28,4% (p=0,002), а на 6-му тижні різниця становила 1,5% (p=0,433).

Активність AST у контрольній групі змінювалася в межах 4,85–8,61 Од/л і на 6-му тижні становила 4,85±0,79 Од/л, що було на 14,8% нижче від рівня 2-го тижня (5,69±1,19 Од/л), при цьому максимальне значення реєстрували на 5-му тижні 8,61±1,37 Од/л, або на 51,4% вище від 2-го тижня. У дослідній групі активність AST підвищувалася з 4,85±1,57 Од/л на 2-му тижні до 7,70±1,32 Од/л на 6-му тижні, що відповідало приросту на 58,8%, з

високими значеннями на 4-му тижні 8,00±2,30 Од/л, або на 64,9% вище порівняно з 2-м тижнем. При міжгруповому порівнянні активність AST у дослідній групі була нижчою на 2-му та 3-му тижнях відповідно на 14,8% (p=0,183) та 23,3% (p=0,216), на 4-му тижні була вірогідно вищою на 34,4% (p=0,047), на 5-му тижні нижчою на 9,3% (p=0,206), а на 6-му тижні вірогідно вищою на 58,6% (p=0,002).

*Таблиця 3.16.*

Ферментативна активність та функціональний стан печінки і кісткової тканини курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Активність ALT, Од/л | | | | | | |
| 2 | 163,40 | 17,60 | 146,94 | 19,15 | -10,1% | 0,097 |
| 3 | 202,20 | 15,99 | 205,58 | 33,97 | 1,7% | 0,423 |
| 4 | 228,58 | 34,86 | 273,12 | 26,98 | 19,5% | 0,027 |
| 5 | 282,70 | 14,29 | 202,32 | 40,39 | -28,4% | 0,002 |
| 6 | 252,42 | 35,56 | 256,32 | 35,29 | 1,5% | 0,433 |
| Активність AST, Од/л | | | | | | |
| 2 | 5,69 | 1,19 | 4,85 | 1,57 | -14,8% | 0,183 |
| 3 | 7,12 | 3,86 | 5,47 | 2,25 | -23,3% | 0,216 |
| 4 | 5,95 | 0,72 | 8,00 | 2,30 | 34,4% | 0,047 |
| 5 | 8,61 | 1,37 | 7,81 | 1,55 | -9,3% | 0,206 |
| 6 | 4,85 | 0,79 | 7,70 | 1,32 | 58,6% | 0,002 |
| . Відношення ALT/AST, ум. од. | | | | | | |
| 2 | 29,83 | 7,22 | 32,43 | 9,22 | 8,7% | 0,316 |
| 3 | 35,83 | 20,06 | 44,03 | 20,77 | 22,9% | 0,272 |
| 4 | 38,81 | 7,61 | 36,66 | 11,41 | -5,5% | 0,368 |
| 5 | 33,60 | 6,22 | 26,20 | 4,21 | -22,0% | 0,029 |
| 6 | 52,75 | 8,88 | 34,60 | 10,03 | -34,4% | 0,008 |
| Активність ALP, Од/л | | | | | | |
| 2 | 2248,96 | 414,74 | 2715,06 | 752,96 | 20,7% | 0,130 |
| 3 | 3242,16 | 1475,92 | 2938,48 | 1433,80 | -9,4% | 0,375 |
| 4 | 2681,76 | 1211,13 | 3844,62 | 653,80 | 43,4% | 0,048 |
| 5 | 3275,56 | 1319,07 | 2965,88 | 838,89 | -9,5% | 0,335 |
| 6 | 3166,58 | 1100,57 | 3154,64 | 718,81 | -0,4% | 0,492 |

Відношення ALT/AST у контрольній групі зростало з 29,83±7,22 ум. од. на 2-му тижні до 52,75±8,88 ум. од. на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 76,8%. У дослідній групі показник змінювався менш виражено, з 32,43±9,22 до 34,60±10,03 ум. од., тобто на 6,7%. Міжгруповий аналіз показав, що на 2–4-му тижнях відношення ALT/AST у дослідній групі відрізнялося невірогідно і становило +8,7% (p=0,316), +22,9% (p=0,272) та –5,5% (p=0,368) відповідно, тоді як на 5-му та 6-му тижнях було вірогідно нижчим на 22,0% (p=0,029) та 34,4% (p=0,008).

Активність ALP у контрольній групі збільшувалася з 2248,96±414,74 Од/л на 2-му тижні до 3166,58±1100,57 Од/л на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 40,8%, з максимальним значенням на 5-му тижні 3275,56±1319,07 Од/л, або на 45,6% вище від 2-го тижня. У дослідній групі активність ALP зростала з 2715,06±752,96 Од/л на 2-му тижні до 3154,64±718,81 Од/л на 6-му тижні, тобто на 16,2%, при цьому пікове значення відмічали на 4-му тижні 3844,62±653,80 Од/л, або на 41,6% вище порівняно з 2-м тижнем. Міжгрупові відмінності активності ALP у 2-му, 3-му, 5-му та 6-му тижнях були невірогідними і становили відповідно +20,7% (p=0,130), –9,4% (p=0,375), –9,5% (p=0,335) та –0,4% (p=0,492), тоді як на 4-му тижні показник у дослідній групі був вірогідно вищим на 43,4% (p=0,048).

Узагальнюючи отримані дані, встановлено, що дія GFA-B асоціювалася з фазними змінами ферментативної активності, які проявлялися вірогідним підвищенням ALT на 4-му тижні (+19,5%; p=0,027) та вірогідним зниженням на 5-му тижні (–28,4%; p=0,002), вірогідним підвищенням AST на 4-му та 6-му тижнях (+34,4%; p=0,047 і +58,6%; p=0,002), а також вірогідним зниженням відношення ALT/AST на 5–6-му тижнях (–22,0%; p=0,029 і –34,4%; p=0,008) на тлі вірогідного підвищення ALP на 4-му тижні (+43,4%; p=0,048), що вказує на модулювальний вплив GFA-B на функціональний стан печінки та процеси, пов’язані з інтенсивним ростом у критичні періоди вирощування.

Отримані результати стововно показників енергетичного та мінерального обміну упродовж 2–6 тижнів життя курчат-бройлерів

характеризувалися помірною віковою мінливістю, при цьому застосування GFA-B не супроводжувалося статистично вірогідними зсувами жодного з досліджених параметрів (табл. 3.17).

Вміст глюкози у контрольній групі змінювався від 15,46±0,98 ммоль/л на 2-му тижні до 14,20±1,24 ммоль/л на 6-му тижні, що відповідало зниженню на 8,2%, з максимальним значенням на 4-му тижні 17,08±2,00 ммоль/л, або на 10,5% вище від рівня 2-го тижня. У дослідній групі вміст глюкози коливався від 15,50±2,23 ммоль/л на 2-му тижні до 14,68±1,22 ммоль/л на 6-му тижні, що відповідало зниженню на 5,3%, з максимальним значенням на 4-му тижні 17,88±4,16 ммоль/л, або на 15,4% вище від рівня 2-го тижня. Міжгрупове порівняння показало, що у дослідній групі вміст глюкози був вищим на 2-му, 3-му, 4-му та 6-му тижнях відповідно на 0,3% (p=0,486), 3,4% (p=0,306), 4,7% (p=0,354) та 3,4% (p=0,277), тоді як на 5-му тижні був нижчим на 6,8% (p=0,197); в усі терміни відмінності були невірогідними.

Вміст кальцію у контрольній групі з 2-го до 4-го тижня знижувався з 1,78±0,22 до 1,60±0,20 ммоль/л, що відповідало зменшенню на 10,1%, після чого на 6-му тижні підвищувався до 1,90±0,16 ммоль/л, або на 18,8% відносно 4-го тижня та на 6,7% відносно 2-го тижня. У дослідній групі вміст кальцію змінювався від 1,80±0,07 ммоль/л на 2-му тижні до 1,88±0,19 ммоль/л на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 4,4%, з мінімальним значенням на 4-му тижні 1,66±0,22 ммоль/л, або на 7,8% нижче від рівня 2-го тижня. Міжгруповий аналіз показав мінімальні відмінності: на 2-му тижні показник у дослідній групі був вищим на 1,1% (p=0,425), на 3-му тижні нижчим на 1,1% (p=0,448), на 4-му тижні вищим на 3,7% (p=0,332), на 5-му тижні нижчим на 7,5% (p=0,100), а на 6-му тижні нижчим на 1,1% (p=0,431), без статистично вірогідних відмінностей.

Вміст фосфору у контрольній групі зростав з 1,69±0,17 ммоль/л на 2-му тижні до 1,87±0,23 ммоль/л на 5-му тижні, що відповідало підвищенню на 10,7%, і на 6-му тижні становив 1,86±0,16 ммоль/л, тобто був на 10,1% вищим відносно 2-го тижня. У дослідній групі вміст фосфору змінювався від

1,75±0,07 ммоль/л на 2-му тижні до 1,77±0,21 ммоль/л на 6-му тижні, що відповідало підвищенню на 1,1%, з максимальним значенням на 4-му тижні 1,76±0,29 ммоль/л. Міжгрупове порівняння показало, що у дослідній групі вміст фосфору був вищим на 2-му тижні на 3,2% (p=0,265) і на 4-му тижні на 12,2% (p=0,140), тоді як на 3-му, 5-му та 6-му тижнях був нижчим відповідно на 1,5% (p=0,454), 10,1% (p=0,095) та 4,5% (p=0,250), без досягнення рівня статистичної вірогідності.

*Таблиця 3.17.*

Показники енергетичного та мінерального обміну курчат-бройлерів за дії GFA-B (M±SD; n=5)

| Тижні життя | Контроль | | Дослід | | Різниця, % | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | SD | M | SD | | |
| Вміст глюкози, ммоль/л | | | | | | |
| 2 | 15,46 | 0,98 | 15,50 | 2,23 | 0,3% | 0,486 |
| 3 | 16,44 | 2,27 | 17,00 | 0,70 | 3,4% | 0,306 |
| 4 | 17,08 | 2,00 | 17,88 | 4,16 | 4,7% | 0,354 |
| 5 | 16,24 | 1,32 | 15,14 | 2,39 | -6,8% | 0,197 |
| 6 | 14,20 | 1,24 | 14,68 | 1,22 | 3,4% | 0,277 |
| Вміст кальцію, ммоль/л | | | | | | |
| 2 | 1,78 | 0,22 | 1,80 | 0,07 | 1,1% | 0,425 |
| 3 | 1,76 | 0,25 | 1,74 | 0,22 | -1,1% | 0,448 |
| 4 | 1,60 | 0,20 | 1,66 | 0,22 | 3,7% | 0,332 |
| 5 | 1,86 | 0,17 | 1,72 | 0,15 | -7,5% | 0,100 |
| 6 | 1,90 | 0,16 | 1,88 | 0,19 | -1,1% | 0,431 |
| Вміст фосфору, ммоль/л | | | | | | |
| 2 | 1,69 | 0,17 | 1,75 | 0,07 | 3,2% | 0,265 |
| 3 | 1,74 | 0,40 | 1,72 | 0,28 | -1,5% | 0,454 |
| 4 | 1,57 | 0,23 | 1,76 | 0,29 | 12,2% | 0,140 |
| 5 | 1,87 | 0,23 | 1,68 | 0,18 | -10,1% | 0,095 |
| 6 | 1,86 | 0,16 | 1,77 | 0,21 | -4,5% | 0,250 |
| . Відношення кальцію до фосфору, ум. од. | | | | | | |
| 2 | 1,07 | 0,21 | 1,03 | 0,07 | -3,2% | 0,369 |
| 3 | 1,04 | 0,22 | 1,04 | 0,24 | -0,4% | 0,489 |
| 4 | 1,04 | 0,20 | 0,96 | 0,20 | -7,0% | 0,290 |
| 5 | 1,01 | 0,19 | 1,03 | 0,15 | 2,0% | 0,429 |
| 6 | 1,03 | 0,11 | 1,07 | 0,11 | 3,8% | 0,294 |

Відношення кальцію до фосфору у контрольній групі з 2-го до 5-го тижня знижувалося з 1,07±0,21 до 1,01±0,19 ум. од., що відповідало зменшенню на 5,6%, з подальшим підвищенням до 1,03±0,11 ум. од. на 6-му тижні. У дослідній групі відношення Ca:P змінювалося від 1,03±0,07 до 1,07±0,11 ум. од., тобто зростало на 3,9%, з мінімальним значенням на 4-му тижні 0,96±0,20 ум. од., або на 6,8% нижче від 2-го тижня. Міжгрупові відмінності за відношенням Ca:P були невірогідними у всі терміни і становили –3,2% (p=0,369), –0,4% (p=0,489), –7,0% (p=0,290), +2,0% (p=0,429) та +3,8% (p=0,294) відповідно.

Узагальнюючи отримані результати, встановлено, що застосування GFA-B не впливало статистично значуще на показники глюкози, кальцію, фосфору та співвідношення Ca:P у сироватці крові курчат-бройлерів. Виявлені міжгрупові відмінності мали тенденційний характер, що свідчить про метаболічну стабільність енергетичного та мінерального обміну на тлі застосування GFA-B упродовж досліджуваного періоду вирощування.

Результати досліджень розділу представлені в роботах [8].

### 3.4. Продуктивність та збереженість курчат за дії GFA-B

Згідно з даними табл. 3.18, виробничі та продуктивні показники курчат-бройлерів у період вирощування свідчать про позитивний вплив застосування GFA-B на основні зоотехнічні параметри. Кількість тварин у групах була зіставною і становила 88 744 голови у контрольній та 88 341 голову у дослідній групі, що забезпечувало репрезентативність отриманих результатів. Збереженість поголів’я під час впровадження протоколу у дослідній групі була вищою і становила 97,8% проти 97,1% у контролі, тобто перевищувала контроль на 0,7 відсоткового пункта, що свідчить про кращу життєздатність птиці за застосування GFA-B.

Конверсія корму у дослідній групі знижувалася з 1,545 до 1,537 одиниці, що відповідало покращенню цього показника на 0,5% порівняно з контролем,

оскільки менше значення коефіцієнта конверсії відображає ефективніше використання корму. Середньодобовий приріст живої маси у курчат дослідної групи становив 69,7 г, що на 0,6 г, або на 0,9%, перевищувало відповідний показник у контрольній групі (69,1 г).

*Таблиця 3.18.*

Виробничі та продуктивні показники курчат-бройлерів під час вирощування

| Показники | Контроль | Дослід |
|---|---|---|
| Кількість тварин в групі, голів | 88744 | 88744 |
| Збереженість під час впровадження протоколу, % | 97,1 | 97,8 |
| Конверсія корму, одиниць | 1,545 | 1,537 |
| Середньодобовий приріст, г | 69,1 | 69,7 |

Узагальнюючи отримані результати, встановлено, що застосування GFA-B у виробничих умовах супроводжувалося підвищенням збереженості поголів’я, покращенням ефективності використання корму та незначним, але стабільним зростанням середньодобових приростів, що вказує на доцільність використання даного протоколу для оптимізації продуктивності курчат-бройлерів.

Результати досліджень розділу представлені в роботах [8].

# РОЗДІЛ 4
# АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Птахівництво є однією з найбільш динамічних і технологічно розвинених галузей тваринництва, що має важливе значення у забезпеченні населення високоякісними та доступними джерелами тваринного білка. Інтенсивний розвиток бройлерного виробництва в останні десятиліття супроводжується зростанням вимог до ефективності використання кормів, швидкості росту птиці, її збереженості та біологічної безпеки продукції [2, 72, 85]. У сучасних умовах конкурентоспроможність галузі визначається не лише генетичним потенціалом кросів і технологією вирощування, але й здатністю підтримувати високий рівень кишкового здоров'я, що безпосередньо пов'язане з перетравністю корму, станом імунітету, метаболічною стійкістю та кінцевою продуктивністю птиці [175, 176].

Однією з найбільш гострих проблем сучасного птахівництва є обмеження використання кормових антибіотиків у зв'язку з поширенням антибіотикорезистентності мікроорганізмів, ризиком накопичення залишкових речовин у продукції та необхідністю впровадження безпечних альтернативних стратегій підтримання здоров'я птиці [177]. У зв'язку з цим особливу увагу привертають функціональні кормові добавки, здатні не лише пригнічувати розвиток умовно-патогенної мікрофлори, але й регулювати стан кишкового епітелію, локальний імунітет і метаболічні процеси. До таких перспективних засобів належить GFA-B – композиція на основі коротколанцюгових жирних кислот, яка може розглядатися як багатофакторний регулятор кишкового гомеостазу, що поєднує антимікробний, бар'єрно-стабілізувальний, імуномодулювальний і метаболічний ефекти [178, 179].

Сучасні уявлення про регуляцію продуктивності курчат-бройлерів ґрунтуються на розумінні того, що кишечник є не лише органом травлення і всмоктування, а й центральною ланкою інтеграції бар'єрних, імунних,

метаболічних і мікробіомних процесів. Функціональний стан кишкового епітелію, структура міжклітинних контактів, локальна цитокінова відповідь та склад мікробіоти безпосередньо визначають рівень кишкового гомеостазу, ефективність використання поживних речовин, резистентність організму та, зрештою, виробничі показники птиці [16]. У зв'язку з цим коротколанцюгові жирні кислоти та їх композиції розглядаються як перспективні регулятори кишкового середовища, здатні впливати одночасно на кілька функціональних ланок цієї системи [178].

Одержані в роботі результати свідчать, що дія GFA-B має не ізольований, а комплексний характер і реалізується на кількох взаємопов'язаних рівнях. З одного боку, застосування препарату супроводжується змінами молекулярних маркерів бар'єрної функції кишечника, зокрема посиленням експресії E-cadherin і Occludin та модифікацією локальної імунозапальної відповіді. З іншого боку, виявлено виражену перебудову мікробіому кишечника, що проявлялася зростанням різноманіття мікробних спільнот, зниженням частки потенційних патобіонтів і підвищенням представленості анаеробних та бутират-продукуючих таксонів. Водночас локальні зміни у кишечнику супроводжувалися адаптивними зрушеннями гематологічних, біохімічних і продуктивних показників, що вказує на системний характер відповіді організму на введення GFA-B.

У зв'язку з цим аналіз одержаних результатів доцільно проводити не як опис окремих ізольованих ефектів, а як інтерпретацію єдиного функціонального комплексу змін у системі «мікробіом – кишковий бар'єр – імунна реактивність – метаболічна адаптація – продуктивність». Такий підхід дозволяє оцінити не лише напрям окремих реакцій, але і встановити їх біологічний взаємозв'язок, часову послідовність та можливі механізми реалізації [180]. Особливо важливим є з'ясування того, наскільки виявлені зміни відповідають фізіологічно адаптивній перебудові організму, а не неспецифічній стресовій реакції, а також яким чином молекулярні й

мікробіомні ефекти трансформуються у практично значущі виробничі результати.

Таким чином, подальший аналіз спрямований на узагальнення одержаних даних щодо впливу GFA-B на бар'єрні та імунозапальні механізми у різних відділах кишечника, на структурно-функціональну перебудову кишкового мікробіому, на системні гематологічні та біохімічні реакції організму, а також на продуктивні показники курчат-бройлерів. Узагальнення цих результатів дає можливість обґрунтувати роль GFA-B як засобу функціональної оптимізації кишкового гомеостазу та підвищення резистентності і продуктивності птиці.

Отримані результати свідчать, що GFA-B чинить комплексний вплив на кишковий гомеостаз курчат-бройлерів, який реалізується на кількох взаємопов'язаних рівнях: молекулярному, мікробіомному, системному та продуктивному. У цілому дія добавки характеризувалася зміцненням бар'єрної функції кишечника, модифікацією локальної імунозапальної відповіді, перебудовою мікробіому в бік більш зрілої анаеробної екосистеми, а також адаптивними змінами гематологічних, біохімічних і виробничих показників. Сукупність цих ефектів дає підстави розглядати GFA-B не як ізольований нутритивний стимулятор, а як регулятор інтегрованої системи «мікробіом – епітеліальний бар'єр – імунна реактивність – продуктивність». Подібний загальний вектор дії коротколанцюгових жирних кислот і бутириновмісних добавок описують сучасні експериментальні та оглядові роботи, у яких SCFA розглядаються як ключові модифікатори енергетичного забезпечення ентероцитів, tight junction-комплексів, локального запалення та мікробного балансу кишечника птиці [12].

*Бар'єрні та імунозапальні механізми у порожній кишці.* У порожній кишці найбільш послідовним ефектом GFA-B було підвищення вмісту білків E-cadherin і Occludin, що вказує на посилення як адгезивних контактів, так і щільних міжклітинних з'єднань. Для E-cadherin у дослідній групі виявлено хвилеподібну активацію мРНК із максимумом на 3-му тижні, коли її рівень

перевищував контроль на 51,0% (p=0,0033), тоді як на білковому рівні підвищення мало більш стійкий характер і зберігалося упродовж 3–6 тижнів, становлячи 27,2–37,1% відносно контролю (p<0,001). Це свідчить, що дія GFA-B, імовірно, пов’язана не лише з транскрипційною індукцією, але й із підвищенням стабільності або ефективності накопичення білка у тканині. Узгоджено з цим у контрольній групі простежувалася майже ідеальна синхронність між рівнями мРНК і білка E-cadherin, тоді як за дії GFA-B виявлено відкладений часовий зв’язок, що вказує на зміну механізму реалізації транскрипційного сигналу. У сукупності це дозволяє припустити, що добавка сприяє більш тривалому зміцненню міжклітинної адгезії, ніж це можна було б очікувати лише на підставі змін експресії мРНК. Подібна чутливість E-cadherin до нутритивних і стресових сигналів описана і в інших дослідженнях у птиці [181, 99, 182].

Для Occludin у порожній кишці виявлено ще більш виражену асинхронію між транскрипційним і білковим рівнями. У дослідній групі мРНК Occludin істотно підвищувалась на 3–4-му тижнях, але на 6-му тижні її рівень уже був нижчим за контроль на 17,0% (p=0,0158). Водночас вміст білка Occludin упродовж 3–6 тижнів залишався стабільно вищим за контроль на 16,3–35,2% (p<0,001). Це вказує, що для даного маркера визначальне значення мають посттранскрипційні механізми, швидкість ремоделювання tight junction-комплексів і локальні умови кишкового мікросередовища. Отже, GFA-B, ймовірно, не просто активує експресію окремих генів бар’єра, а змінює функціональну стійкість самих структур міжклітинного контакту. Схожа варіабельність відповіді на SCFA-втручання описана й іншими авторами, що підтверджує залежність ефекту від форми препарату, віку птиці, тривалості введення та моделі досліду [183, 12].

З боку імунозапальної відповіді найбільш інформативним є TNF-α [184]. У порожній кишці за дії GFA-B його експресія на рівні мРНК мала різко хвилеподібний характер, однак на білковому рівні вміст TNF-α упродовж 3–6 тижнів був стабільно нижчим за контроль на 16,7–39,1% (p<0,001). Така

розбіжність свідчить, що добавка не усуває повністю транскрипційні коливання прозапального сигналу, але обмежує їх реалізацію на функціональному рівні. Імовірно, GFA-B знижує ефективність накопичення або секреції TNF-α і таким чином перешкоджає формуванню надмірної прозапальної відповіді. Це добре узгоджується із сучасною концепцією антизапальної дії SCFA та їх похідних у кишечнику птиці [12, 179, 185].

На відміну від TNF-α, IFN-γ реагував складніше. У нашому дослідженні його мРНК у порожній кишці змінювалась фазно, тоді як білковий рівень у 3–6 тижнів залишався вищим за контроль на 26,8–89,1% ($p<0,001$). Таке поєднання можна трактувати як ознаку не деструктивного запалення, а переналаштування локального імунного тонусу [186]. Імовірно, GFA-B не пригнічує повністю клітинну реактивність слизової оболонки, а переводить її в більш контрольований режим, за якого TNF-α-залежне пошкодження обмежується, але IFN-γ-опосередкований антимікробний нагляд зберігається. Саме така комбінація виглядає біологічно доцільною для кишечника бройлерів.

Отже, у порожній кишці дія GFA-B може бути охарактеризована як поєднання двох взаємопов’язаних ефектів: посилення структурної стабільності епітелію через підвищення E-cadherin і Occludin та модуляції імунної відповіді через пригнічення TNF-α при збереженні контрольованої IFN-γ-залежної реактивності.

*Бар’єрні та імунозапальні механізми у сліпій кишці.* У сліпій кишці характер відповіді на GFA-B відрізнявся від такого в порожній, що відображає функціональну специфіку цього відділу як головної зони мікробної ферментації. Якщо в контролі експресія мРНК Occludin і TNF-α залишалася відносно стабільною, то в дослідній групі формувався виражений фазний профіль. Для Occludin виявлено два піки транскрипційної активації – на 2-му тижні, коли рівень мРНК перевищував контроль на 137,3% ($p=0,0003$), і на 5-му тижні, коли різниця сягала 182,2% ($p<0,001$). Попри це, найбільш показовим був білковий рівень Occludin: починаючи з 3-го тижня він

залишався стабільно вищим за контроль на 16,3–30,9% ($p<0,001$). Таким чином, у сліпій кишці GFA-B забезпечував не короткочасну транскрипційну відповідь, а тривалу стабілізацію tight junction-комплексу. Це особливо важливо, оскільки саме у цекумі висока мікробна щільність потребує максимально ефективного підтримання бар'єрної цілісності [183].

Кореляційний аналіз додатково підтвердив, що у сліпій кишці накопичення Occludin не визначається прямолінійно рівнем його мРНК. В обох групах зв'язок між транскрипційним і білковим рівнями був слабким або інверсним, що вказує на домінування посттранскрипційних механізмів та значний вплив локального метаболічного середовища. Така картина добре узгоджується з сучасними уявленнями про системний, а не лінійний характер регуляції цекального бар'єра [187–189].

Не менш показовими були результати щодо TNF-α у сліпій кишці. На рівні мРНК його експресія в дослідній групі істотно зростала лише у пізні терміни, однак на білковому рівні вміст TNF-α упродовж 3–6 тижнів був стабільно нижчим за контроль на 24,8–35,4% ($p<0,001$). Таким чином, як і в порожній кишці, GFA-B не усував повністю транскрипційних коливань прозапального сигналу, але обмежував накопичення прозапального білка у тканині. Цей ефект має особливе значення, оскільки саме тут контроль над TNF-α є критичним для запобігання хронічному низькоінтенсивному запаленню на тлі високого антигенного навантаження. Поєднання високого білкового Occludin і низького білкового TNF-α дозволяє трактувати дію GFA-B у сліпій кишці як бар'єрно-стабілізувальну і протизапальну [189, 190].

Отже, якщо в порожній кишці GFA-B викликав більш хвилеподібну перебудову, то у сліпій кишці його ефект був більш спрямованим на утримання контрольованого цекального гомеостазу в умовах інтенсивної ферментації.

*Склад мікробіому кишечника.* Одним із центральних результатів дослідження є встановлення вираженої перебудови мікробіому кишечника під впливом GFA-B. На екосистемному рівні це проявлялося достовірним

підвищенням показників альфа-різноманіття: індекси Шеннона і Сімпсона зростали при p=0,008, що свідчить про збільшення таксономічної насиченості, вирівнювання структури бактеріальних спільнот і зниження міжіндивідуальної варіабельності [191, 192]. Аналіз бета-різноманіття також підтвердив глибоку реконфігурацію мікробної екосистеми: PCoA на основі Bray–Curtis демонстрував чітке просторове розмежування контрольної та дослідної груп, а PERMANOVA підтверджувала статистичну значущість цих відмінностей (p=0,013). У сукупності це вказує, що GFA-B не обмежувався зміною окремих таксонів, а сприяв переходу мікробіому до більш зрілого і структурно стабільного стану [186].

Таксономічний аналіз показав, що така перебудова мала чітко спрямований характер. У дослідній групі достовірно знижувалася частка умовно-патогенних і патобіонтних таксонів, насамперед Escherichia coli (-8,34%, p<0,01), Proteus mirabilis (–1,296%, p<0,01) та Helicobacter pullorum (-0,49%, p<0,01). Зменшення представленості цих мікроорганізмів має суттєве біологічне значення, оскільки надлишок ентеробактерій пов’язують із вищим ендотоксичним навантаженням, активацією локального запалення і менш стабільним станом кишкової екосистеми [193].

Паралельно з цим відбувалося збагачення мікробіому облігатно анаеробними та бутират-продукуючими бактеріями. Найбільш виражено зростали Faecalibacterium prausnitzii (4,02%, p<0,01), Fusicatenibacter saccharivorans (1,321%, p<0,01), Butyricicoccus pullicaecorum (1,104%, p<0,01) та Blautia producta (0,967%, p<0,01). Саме ці таксони розглядаються як важливі індикатори функціонально зрілого анаеробного мікробіому, здатного забезпечувати продукцію бутирату, підтримувати енергетичний обмін ентероцитів, стимулювати муциногенез і обмежувати локальне запалення [193, 194]. Тому зміни мікробіомного профілю в нашому дослідженні можна розглядати не лише як таксономічний ефект, а як один із ключових механізмів реалізації бар’єрно-захисної дії GFA-B.

Важливо, що позитивний ефект не супроводжувався одноманітним зростанням усіх потенційно корисних бактерій. Зміни окремих бутират-продуцентів мали селективний характер, а частка деяких таксонів залишалася стабільною або змінювалася незначно. Це свідчить, що GFA-B не стимулює весь пул анаеробних бактерій однаково, а формує нову, більш збалансовану функціональну структуру мікробіому. Саме така селективність є біологічно правдоподібною, оскільки різні анаероби займають різні трофічні ніші та по-різному реагують на зміну субстратного середовища [143, 195].

Таким чином, GFA-B сприяв переходу мікробіому кишечника курчат до більш різноманітного, вирівняного і метаболічно сприятливого стану. На нашу думку, саме через цю мікробіомну перебудову значною мірою реалізуються виявлені молекулярні та імунні ефекти на рівні кишкової стінки.

*Системні гематологічні та біохімічні зміни.* Отримані гематологічні дані показали, що GFA-B не порушував фізіологічної вікової динаміки показників крові, але супроводжувався помірною стимуляцією кисневотранспортної функції та більш вираженою активацією клітинної ланки імунної відповіді. У дослідній групі кількість еритроцитів зростала дещо інтенсивніше, ніж у контролі, а на 4-му тижні була вірогідно вищою на 6,4% ($p=0,024$). Гемоглобін і гематокрит також мали тенденцію до більш вираженого зростання у дослідній групі. У сукупності це дозволяє припустити, що GFA-B сприяв кращому фізіологічному забезпеченню еритропоезу, ймовірно опосередковано через покращення функціонального стану кишечника та засвоєння нутрієнтів [196, 12].

Показники запально-реактивної відповіді свідчать, що GFA-B не викликав патологічного системного запалення. ШОЕ в обох групах мала подібну вікову динаміку без статистично значущих відмінностей. Водночас у дослідній групі на 5–6-му тижнях кількість лейкоцитів була вірогідно вищою, ніж у контролі, а кількість тромбоцитів перевищувала контроль на 4-му та 6-му тижнях. Такі зміни доцільно трактувати як прояв підвищеної

функціональної готовності системи крові та адаптивної імунної модуляції, а не деструктивного запального процесу [197, 198].

Найбільш виразні ефекти GFA-B виявлено у лейкоцитарній формулі. Частки лімфоцитів, гетерофілів та еозинофілів змінювалися фазно, з наявністю статистично вірогідних міжгрупових відмінностей на окремих етапах вирощування. Відсутність значущих змін ШОЕ, базофілів і моноцитів при цьому свідчить, що йдеться не про генералізовану запальну реакцію, а про перебудову імунної реактивності у відповідь на зміну кишкового середовища [199, 200].

Біохімічні показники крові також мали переважно адаптивний характер змін. GFA-B не спричиняв тотального зміщення всіх біохімічних параметрів, а модулював окремі ланки білкового, азотистого та ферментного обміну у найбільш критичний період росту – 4–6 тижнів життя. Найбільш показовими були фазні зміни альбумінів, глобулінів, білкового коефіцієнта, сечової кислоти, креатиніну, ALT, AST, відношення ALT/AST і ALP. При цьому показники енергетичного та мінерального гомеостазу – глюкоза, кальцій, фосфор і співвідношення Ca:P – залишалися стабільними. Це дає підстави вважати, що GFA-B діє як метаболічний модифікатор адаптивного типу, не порушуючи базових механізмів системного гомеостазу [200, 201, 202].

*Практичне значення та продуктивність.* Особливо важливо, що встановлені молекулярні, мікробіомні та системні зміни супроводжувалися позитивним виробничим ефектом. У виробничих умовах застосування GFA-B асоціювалося з підвищенням збереженості поголів’я на 0,7 відсоткового пункта, покращенням конверсії корму на 0,5% і збільшенням середньодобового приросту живої маси на 0,9%. Хоча ці зміни не є різкими, їх поєднання має суттєве практичне значення, оскільки свідчить про м’який, але стабільний регуляторний ефект препарату. Таким чином, GFA-B можна розглядати як засіб оптимізації продуктивності бройлерів за рахунок нормалізації кишкового середовища, поліпшення бар’єрної функції та метаболічної адаптації організму.

На підставі отриманих даних можна висунути гіпотезу, що GFA-B впливає на кишковий бар’єр і мікробіом курчат-бройлерів через багаторівневий регуляторний механізм, у якому ключову роль відіграє взаємодія між мікробними метаболітами, епітелієм та імунною системою слизової оболонки кишечника [2, 72, 121, 179, 16, 202]. Ймовірно, первинною ланкою є зміна метаболічного середовища кишечника за рахунок надходження коротколанцюгових жирних кислот або їх попередників, що створює селективні умови для розвитку облігатно анаеробних і бутират-продукуючих бактерій та пригнічує патобіонти. Це сприяє формуванню більш стабільної, функціонально зрілої мікробної екосистеми зі зростанням різноманіття та частки SCFA-продуцентів [72, 85, 175, 180]. На цьому тлі відбувається опосередкований вплив на епітелій кишечника: підвищена продукція SCFA, зокрема бутирату, разом із дією GFA-B активує метаболічні та сигнальні шляхи ентероцитів, що регулюють експресію білків міжклітинних контактів. Це проявляється підвищенням рівня E-cadherin і Occludin, причому важливу роль відіграють посттранскрипційні механізми, які забезпечують стабілізацію tight junction-комплексів і тривалішу цілісність бар’єра [100, 163, 179, 183, 203]. Виявлена асинхронія між мРНК і білком узгоджується з даними про регуляцію бар’єрної функції на рівні посттранскрипційних процесів і білкової стабільності [99, 163, 187]. Водночас GFA-B модулює імунозапальну відповідь, обмежуючи надмірну реалізацію TNF-α на посттранскрипційному рівні при частковому збереженні IFN-γ-залежної реактивності, що дозволяє знизити запалення без втрати антимікробного контролю [185]. Така дисоціація імунної відповіді відповідає сучасним уявленням про імуномодулювальну дію SCFA у кишечнику птиці [179, 12, 2]. У результаті формується взаємопідсилювальний зв’язок між стабілізацією бар’єра і перебудовою мікробіому: зменшення проникності епітелію обмежує транслокацію бактеріальних компонентів і запальне навантаження, тоді як стабільне мікросередовище підтримує анаеробну мікробіоту та продукцію SCFA [121, 16]. Збагачення бутират-продукуючими таксонами і зменшення частки

умовно-патогенних мікроорганізмів узгоджується з даними про сприятливий вплив SCFA на мікробний баланс кишечника бройлерів [72, 85, 175, 180]. Таким чином, GFA-B виступає як метаболічно-мікробіомний модифікатор, що ініціює каскад узгоджених змін від мікробіому до епітеліального бар'єра й імунної регуляції, результатом чого є підвищення структурної цілісності кишечника, зниження прозапального тиску та формування функціонально більш стійкої системи «мікробіом–бар'єр» [99, 121, 163, 175, 179, 16, 180, 183].

Узагальнюючи отримані результати, можна дійти висновку, що GFA-B реалізує свій ефект через кілька взаємопов'язаних механізмів. По-перше, добавка сприяє перебудові мікробіому кишечника у бік більш зрілої анаеробної екосистеми зі зниженням частки патобіонтів і підвищенням представленості бутират-продукуючих таксонів. По-друге, на цьому тлі посилюється структурна стабільність кишкового епітелію, що проявляється підвищенням вмісту E-cadherin і Occludin та співвідноситься з результатами інших дослідників [202-204]. По-третє, обмежується TNF-α-залежне запалення при збереженні контрольованої імунної реактивності. По-четверте, локальні зміни супроводжуються адаптивними гематологічними та біохімічними перебудовами без ознак системної токсичності чи деструктивного запалення. Кінцевим наслідком цього є покращення життєздатності та продуктивності курчат-бройлерів. Отже, GFA-B доцільно розглядати як ефективний засіб функціональної оптимізації кишкового гомеостазу та продуктивності птиці.

.

# ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі здійснено оцінку впливу GFA-B на бар'єрну функцію кишечника, стан кишкового мікробіому, загальну резистентність, метаболічну адаптацію та продуктивність курчат-бройлерів. На основі аналізу експресії молекулярних маркерів бар'єрної та імунозапальної відповіді у порожній і сліпій кишці, а також їх взаємозв'язків зі структурно-функціональною перебудовою мікробіому встановлено, що задавання GFA-B курчатам-бройлерам сприяє зміцненню кишкового бар'єра, обмеженню прозапальних реакцій, формуванню більш зрілої анаеробної мікробної екосистеми та покращенню системних адаптивних і продуктивних показників організму. З урахуванням одержаних результатів обґрунтовано доцільність використання GFA-B як засобу підвищення резистентності та продуктивності курчат-бройлерів із мінімізацією застосування антибактеріальних препаратів.

**1.** Застосування GFA-B сприяє посиленню бар'єрної функції порожньої кишки, що проявляється хвилеподібною динамікою експресії мРНК E-cadherin та Occludin із транзиторною активацією на 3-му тижні життя, але водночас стабільним і вираженим підвищенням вмісту відповідних білків упродовж 3–6 тижнів. Підвищення рівня E-cadherin на 27,2–37,1% та Occludin на 16,3–35,2% ($p<0,001$) свідчить про зміцнення міжклітинної адгезії та tight junction-комплексів, що забезпечує підвищення структурної цілісності кишкового епітелію.

**2.** У сліпій кишці GFA-B зумовлює посилення бар'єрної функції, що проявляється фазною активацією експресії мРНК Occludin та стабільним підвищенням його білкового рівня упродовж 3–6 тижнів на 16,3–30,9% ($p<0,001$). Це вказує на зміцнення tight junction-комплексів та підвищення функціональної стабільності епітеліального бар'єра в даному відділі кишечника.

**3.** У порожній кишці GFA-B модулює імунозапальну відповідь, що проявляється стійким зниженням білкового рівня TNF-α на 16,7–39,1%

($p<0,001$) при одночасному підвищенні IFN-γ на 26,8–89,1% ($p<0,001$). Таким чином застосування GFA-B сприяє оптимізації імунної реактивності з формуванням контрольованої запальної відповіді. Виявлена невідповідність між рівнями мРНК і білків для частини маркерів свідчить про важливу роль посттранскрипційної регуляції у реалізації ефектів GFA-B.

4. GFA-B впливає на імунозапальні процеси у сліпій кишці, забезпечуючи взаємну регуляцію продукції цитокінів та транскрипційної активності. Незважаючи на активацію експресії мРНК TNF-α у пізні терміни, його білковий рівень залишається зниженим на 24,8–35,4% ($p<0,001$), що вказує на регуляцію на посттранскрипційному рівні та значний вплив локального мікросередовища кишечника.

5. У контрольній групі взаємозв'язки між молекулярними маркерами мають обмежений і фрагментарний характер, тоді як за дії GFA-B формується щільна інтегрована мережа позитивних кореляцій між білками бар'єрної та імунозапальної ланок ($r = 0,82–1,00$; $p<0,05–0,001$). Це свідчить про посилення узгодженості функціонування різних регуляторних систем кишечника.

6. Інтегральні індекси (BII, IAI, FIBS, BIBI) є більш інформативними порівняно з окремими показниками, оскільки відображають узгоджену взаємодію бар'єрних та імунозапальних механізмів. За дії GFA-B відбувається системне зміщення функціонального стану кишечника у бік бар'єрної домінанти: BII зростає у 4,2–11,4 раза, IAI знижується на 57,5–94,3%, а індекси FIBS і BIBI набувають стабільно додатних значень ($p<0,001$), що відображає оптимізацію бар'єрно-імунного балансу.

7. GFA-B достовірно підвищує альфа-різноманіття мікробіому кишечника (індекси Шеннона та Сімпсона; $p=0,008$) та зменшує міжіндивідуальну варіабельність, що свідчить про формування більш стабільної та структурно впорядкованої мікробної екосистеми. Аналіз бета-різноманіття підтверджує суттєву перебудову мікробіому та чітке розмежування груп (PERMANOVA, $p=0,013$).

8. Застосування GFA-B спричиняє спрямований таксономічний зсув мікробіому, що проявляється зниженням частки потенційно патогенних бактерій (*Escherichia coli, Proteus mirabilis, Helicobacter pullorum*; $p<0,01$) та одночасним підвищенням представленості облігатно анаеробних і коменсальних таксонів. Це свідчить про нормалізацію мікробної екосистеми та зменшення мікробного навантаження патобіонтів.

9. GFA-B сприяє збагаченню мікробіому ключовими бутират-продукуючими бактеріями (*Faecalibacterium prausnitzii, Fusicatenibacter saccharivorans, Butyricicoccus pullicaecorum, Blautia producta*; $p<0,01$), що вказує на посилення ферментаційних процесів та синтезу коротколанцюгових жирних кислот як ключових метаболітів підтримання кишкового гомеостазу.

10. Застосування GFA-B не порушує фізіологічної динаміки гематологічних показників, але супроводжується посиленням кисневотранспортної функції крові та активацією клітинної і тромбоцитарної ланок, що проявляється підвищенням еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів у критичні періоди росту ($p<0,05–0,01$). Зміни лейкограми мають фазний характер і відображають модулюючий вплив на імунну реактивність без ознак патологічного запалення.

11. GFA-B чинить адаптивний модулювальний вплив на білковий, азотистий та ферментний обмін у 4–6-тижневому віці, що проявляється фазними змінами альбумінів, глобулінів, креатиніну, сечової кислоти та активності печінкових ферментів. За відсутності змін показників енергетичного та мінерального обміну це свідчить про збереження базового метаболічного гомеостазу.

12. Застосування GFA-B у виробничих умовах підвищує ефективність вирощування курчат-бройлерів, що проявляється збільшенням збереженості поголів’я, покращенням конверсії корму та зростанням середньодобового приросту, що підтверджує його практичну доцільність у сучасних технологіях птахівництва.

# ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

З урахуванням отриманих результатів для впровадження у практику промислового птахівництва рекомендується застосовувати препарат IP Enterin C3–C12 (GFA-B) у формі порошку в дозі 2 кг/т корму, починаючи з 16-ї доби життя і до завершення відгодівельного циклу. Препарат забезпечує зміцнення бар'єрної функції кишечника, нормалізацію мікробіому з підвищенням частки бутират-продукуючих бактерій та зниженням рівня патобіонтів, а також регуляцію імунозапальної відповіді.

Результати досліджень пропонуються використовувати в навчальному процесі в розділах дисциплін «Фізіологія тварин», «Фізіологія сільськогосподарських тварин», «Біохімія тварин» та «Патофізіологія тварин», «Ветеринарна дієтологія» під час вивчення травлення та бар’єрної функції кишечника у курей.

# СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ


1. Melnyk, A. Y., Sakara, V. S., Vovkotrub, N. V., et al. (2021). Metabolic disorders in poultry (review). Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 23(103), 125–135. https://doi.org/10.32718/nvlvet10317
2. Wickramasuriya, S. S., Park, I., Lee, K., et al. (2022). Role of physiology, immunity, microbiota, and infectious diseases in the gut health of poultry. Vaccines, 10(2), 172. https://doi.org/10.3390/VACCINES10020172
3. Kallam, N. R. K., & Sejian, V. (2021). Gut health and immunity in improving poultry production. In Poultry (Vol. 13, pp. 2–21). https://doi.org/10.5772/intechopen.95989
4. Kogut, M. H., Yin, X. N., Yuan, J. M., et al. (2017). Gut health in poultry. CABI Reviews, 12, 1–7. https://doi.org/10.1079/PAVSNNR201712031
5. Ducatelle, R., Goossens, E., Meyer, F. D., et al. (2018). Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: Present status and future perspectives. Veterinary Research, 49(1), 43. https://doi.org/10.1186/s13567-018-0538-6
6. Chelakkot, C., Ghim, J., & Ryu, S. H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. Experimental & Molecular Medicine, 50(8), 1–9. https://doi.org/10.1038/s12276-018-0126-x
7. Tamchuk, L. M., & Masiuk, D. M. (2024). The modulation of intestinal barrier integrity in broiler chickens is associated with the microbiome changes. The Animal Biology, 26(3), 26–34. https://doi.org/10.15407/animbiol26.03.026
8. Cha, H.-J. (2025). Tight junction proteins at the crossroads of inflammation, barrier function, and disease modulation. International Journal of Molecular Sciences, 26(17), 8115. https://doi.org/10.3390/ijms26178115
9. Saint-Martin, V., Guillory, V., Chollot, M., et al. (2024). The gut microbiota and its metabolite butyrate shape metabolism and antiviral immunity along the gut-lung axis in the chicken. Communications Biology, 7(1), 1185. https://doi.org/10.1038/s42003-024-06815-0

10. Ren, J., He, Q., Shang, H., et al. (2026). Host genetic and environmental determinants of chicken gut microbiota: A review. Poultry Science, 105(3), 106432. https://doi.org/10.1016/j.psj.2026.106432
11. Mogoş, G. F., Manciulea (Profir), M., Enache, R.-M., et al. (2025). Intestinal microbiota in early life: Latest findings regarding the role of probiotics as a treatment approach for dysbiosis. Nutrients, 17(13), 2071. https://doi.org/10.3390/nu17132071
12. Liu, L., Li, Q., Yang, Y., et al. (2021). Biological function of short-chain fatty acids and its regulation on intestinal health of poultry. Frontiers in Veterinary Science, 8, 736739. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.736739
13. Zhu, Q., Sun, P., Zhang, B., et al. (2021). Progress on gut health maintenance and antibiotic alternatives in broiler chicken production. Frontiers in Nutrition, 8, 692839. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.692839
14. Gomez-Osorio, L.-M., Yepes-Medina, V., Ballou, A., et al. (2021). Short and medium chain fatty acids and their derivatives as a natural strategy in the control of necrotic enteritis and microbial homeostasis in broiler chickens. Frontiers in Veterinary Science, 14(8), 773372. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.773372
15. Kim, J. W., Kim, J. H., & Kil, D. (2015). Dietary organic acids for broiler chickens: A review. Revista Colombiana de Ciencias Pecuaria, 28(2), 109–123. https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v28n2a01
16. Ducatelle, R., Goossens, E., Eeckhaut, V., et al. (2023). Poultry gut health and beyond. Animal Nutrition, 13, 240–248. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.03.005
17. Liu, X., Ma, Z., Wang, Y., et al. (2023). Compound probiotics can improve intestinal health by affecting the gut microbiota of broilers. Journal of Animal Science, 101, skad388. https://doi.org/10.1093/jas/skad388
18. Chen, Y., Li, Y., Li, X., et al. (2024). Indole-3-propionic acid alleviates intestinal epithelial cell injury via regulation of the TLR4/NF-κB pathway to

improve intestinal barrier function. Molecular Medicine Reports, 30(4), 189. https://doi.org/10.3892/mmr.2024.13313

19. Nwako, J. G., Patel, S. D., Roach, T. J., et al. (2025). Enteroendocrine cells regulate intestinal barrier permeability. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 328(5), C1501–C1508. https://doi.org/10.1152/ajpcell.01077.2024
20. Tommaso, N. D., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R. (2021). Intestinal barrier in human health and disease. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(23), 12836. https://doi.org/10.3390/ijerph182312836
21. Yoo, J.-S., & Oh, S. F. (2023). Unconventional immune cells in the gut mucosal barrier: Regulation by symbiotic microbiota. Experimental & Molecular Medicine, 55(9), 1905–1912. https://doi.org/10.1038/s12276-023-01088-9
22. Surd, A. O., Răducu, C., Răducu, E., et al. (2024). Lamina propria and GALT: Their relationship with different gastrointestinal diseases, including cancer. Gastrointestinal Disorders, 6(4), 947–963. https://doi.org/10.3390/gidisord6040066
23. Wan, F., Wang, M., Zhong, R., et al. (2022). Supplementation with Chinese medicinal plant extracts from Lonicera hypoglauca and Scutellaria baicalensis mitigates colonic inflammation by regulating oxidative stress and gut microbiota in a colitis mouse model. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 11, 798052. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.798052
24. Sevim, R., Erhan, S., & Matur, E. (2025). MicroRNAs as key modulators of intestinal barrier function: Pattern recognition receptors, epithelial junctional complexes, and therapeutic approaches. Digestive Diseases and Sciences, 70(10), 3206–3228. https://doi.org/10.1007/s10620-025-09131-7
25. Nakamura, A., & Matsumoto, M. (2025). Role of polyamines in intestinal mucosal barrier function. Seminars in Immunopathology, 47(1), 9. https://doi.org/10.1007/s00281-024-01035-4

26. Kocot, A. M., & Wróblewska, B. (2021). Fermented products and bioactive food compounds as a tool to activate autophagy and promote the maintenance of the intestinal barrier function. Trends in Food Science & Technology, 118, 905–919. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.014
27. Fu, R., Jiang, X., Li, G., et al. (2022). Junctional complexes in epithelial cells: Sentinels for extracellular insults and intracellular homeostasis. The FEBS Journal, 289(23), 7314–7333. https://doi.org/10.1111/febs.16174
28. Buchholz, J. S. von, Bilic, I., Aschenbach, J. R., et al. (2021). Establishment of a novel probe-based RT-qPCR approach for detection and quantification of tight junctions reveals age-related changes in the gut barriers of broiler chickens. PLOS ONE, 16(3), e0248165. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248165
29. Sujiyanto, White, C. S., Bauer, L. L., et al. (2024). The dual sugar test (lactulose plus mannitol) is an unreliable indicator of feed withdrawal-associated changes in intestinal permeability in broiler chickens. Poultry Science, 103(2), 103336. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103336
30. Peng, X. Y., Xing, T., Li, J. L., et al. (2023). Guanidinoacetic acid supplementation improves intestinal morphology, mucosal barrier function of broilers subjected to chronic heat stress. Journal of Animal Science, 101, skac355. https://doi.org/10.1093/jas/skac355
31. Liu, W.-C., Guo, Y., An, L.-L., et al. (2021). Protective effects of dietary betaine on intestinal barrier function and cecal microbial community in indigenous broiler chickens exposed to high temperature environment. Environmental Science and Pollution Research, 28(9), 10860–10871. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11326-6
32. Alhotan, R. A., Al Sulaiman, A. R., Alharthi, A. S., et al. (2021). Protective influence of betaine on intestinal health by regulating inflammation and improving barrier function in broilers under heat stress. Poultry Science, 100(9), 101337. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101337

33. Du, M., Cheng, Y., Chen, Y., et al. (2023). Dietary supplementation with synbiotics improves growth performance, antioxidant status, immune function, and intestinal barrier function in broilers subjected to cyclic heat stress. Environmental Science and Pollution Research, 30(7), 18026–18038. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23385-y
34. Deng, C., Zheng, J., Zhou, H., et al. (2023). Dietary glycine supplementation prevents heat stress-induced impairment of antioxidant status and intestinal barrier function in broilers. Poultry Science, 102(3), 102408. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102408
35. Zhang, L.-Z., Gong, J.-G., Li, J.-H., et al. (2023). Dietary resveratrol supplementation on growth performance, immune function and intestinal barrier function in broilers challenged with lipopolysaccharide. Poultry Science, 102(10), 102968. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102968
36. Tan, H., Zhen, W., Bai, D., et al. (2023). Effects of dietary chlorogenic acid on intestinal barrier function and the inflammatory response in broilers during lipopolysaccharide-induced immune stress. Poultry Science, 102(5), 102623. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102623
37. Guo, S., Xing, Y., Xu, Y., et al. (2022). Progress of studies on plant-derived polysaccharides affecting intestinal barrier function in poultry. Animals, 12(22), 3205. https://doi.org/10.3390/ani12223205
38. Yang, J., Sun, Y., Wang, Q., et al. (2024). Astragalus polysaccharides-induced gut microbiota play a predominant role in enhancing of intestinal barrier function of broiler chickens. Journal of Animal Science and Biotechnology, 15(1), 106. https://doi.org/10.1186/s40104-024-01060-1
39. Guo, S., Shi, B., Xing, Y., et al. (2024). Artemisia annua L. polysaccharide improves the growth performance and intestinal barrier function of broilers challenged with Escherichia coli. Frontiers in Microbiology, 15, 1390815. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1390815
40. Barekatain, R., Chalvon-Demersay, T., McLaughlan, C., et al. (2021). Intestinal barrier function and performance of broiler chickens fed additional

arginine, combination of arginine and glutamine or an amino acid-based solution. Animals, 11(8), 2416. https://doi.org/10.3390/ani11082416

41. Wu, Q., Wang, C., Liao, J., et al. (2022). Effects of dietary supplementation with glutamine on the immunity and intestinal barrier gene expression in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. Animals, 12(17), 2168. https://doi.org/10.3390/ani12172168
42. Li, P., Liu, C., Niu, J., et al. (2022). Effects of dietary supplementation with vitamin A on antioxidant and intestinal barrier function of broilers co-infected with coccidia and Clostridium perfringens. Animals, 12(23), 3431. https://doi.org/10.3390/ani12233431
43. Huang, Y., Lang, A., Yang, S., et al. (2024). The combined use of cinnamaldehyde and vitamin C is beneficial for better carcass character and intestinal health of broilers. International Journal of Molecular Sciences, 25(15), 8396. https://doi.org/10.3390/ijms25158396
44. Gilani, S., Chrystal, P. V., & Barekatain, R. (2021). Current experimental models, assessment and dietary modulations of intestinal permeability in broiler chickens. Animal Nutrition, 7(3), 801–811. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.001
45. Wu, Z., Yang, K., Zhang, A., et al. (2021). Effects of Lactobacillus acidophilus on the growth performance, immune response, and intestinal barrier function of broiler chickens challenged with Escherichia coli O157. Poultry Science, 100(9), 101323. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101323
46. Li, P., Zhao, S., Teng, Y., et al. (2024). Dietary supplementary with ellagic acid improves the intestinal barrier function and flora structure of broiler chicken challenged with E. coli K88. Poultry Science, 103(12), 104429. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104429
47. Li, W., Xu, B., Wang, L., et al. (2021). Effects of Clostridium butyricum on growth performance, gut microbiota and intestinal barrier function of broilers. Frontiers in Microbiology, 12, 777456. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.777456

48. Xu, X., Yang, S., Olajide, J. S., et al. (2021). Clostridium butyricum supplement can ameliorate the intestinal barrier roles in broiler chickens experimentally infected with Clostridium perfringens. Frontiers in Physiology, 12, 737481. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.737481

49. Cai, Y., Xiao, C., Tian, B., et al. (2024). Dietary probiotic based on a dual-strain Bacillus subtilis improves immunity, intestinal health, and growth performance of broiler chickens. Journal of Animal Science, 102, skae183. https://doi.org/10.1093/jas/skae183

50. Liu, R., Ding, X., Dang, M., et al. (2024). Effects of hesperidin, thymol, rosmarinic acid and their combined effect on growth performance, intestinal barrier function and cecal microbiota in broilers. Poultry Science, 103(12), 104247. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104247

51. Latek, U., Chłopecka, M., Karlik, W., et al. (2022). Phytogenic compounds for enhancing intestinal barrier function in poultry—A review. Planta Medica, 88(03/04), 218–236. https://doi.org/10.1055/a-1524-0358

52. Song, W., Chen, J., Ai, G., et al. (2025). Mechanisms of the effects of turpiniae folium extract on growth performance, immunity, antioxidant activity and intestinal barrier function in LPS-challenged broilers. Poultry Science, 104(4), 104903. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.104903

53. Khongthong, S., Faroongsarng, D., Roekngam, N., et al. (2023). Sanguinarine-based isoquinoline alkaloids modulated the gut-brain axis and enhanced growth performance and gut integrity in natural heat stress broiler chickens. Livestock Science, 275, 105297. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105297

54. Zhang, R., Zhang, H., Liu, J., et al. (2022). Rhamnolipids enhance growth performance by improving the immunity, intestinal barrier function, and metabolome composition in broilers. Journal of the Science of Food and Agriculture, 102(3), 908–919. https://doi.org/10.1002/jsfa.11423

55. Rao, Z., Li, Y., Yang, X., et al. (2024). Diet xylo-oligosaccharide supplementation improves growth performance, immune function, and

intestinal health of broilers. Animal Nutrition, 17, 165–176. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.01.004

56. Li, S., Zhang, K., Bai, S., et al. (2024). Extract of Scutellaria baicalensis and Lonicerae flos improves growth performance, antioxidant capacity, and intestinal barrier of yellow-feather broiler chickens against Clostridium perfringens. Poultry Science, 103(7), 103718. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103718
57. Lee, J. Y., Yoon, J. H., An, S. H., et al. (2023). Intestinal immune cell populations, barrier function, and microbiomes in broilers fed a diet supplemented with Chlorella vulgaris. Animals, 13(14), 2380. https://doi.org/10.3390/ani13142380
58. Wan, S., Sun, N., Li, H., et al. (2022). Deoxynivalenol damages the intestinal barrier and biota of the broiler chickens. BMC Veterinary Research, 18(1), 311. https://doi.org/10.1186/s12917-022-03392-4
59. Wan, S., Wang, L., Hao, Z., et al. (2024). Baicalin ameliorates the gut barrier function and intestinal microbiota of broiler chickens. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 56(4), 634–644. https://doi.org/10.3724/abbs.2024029
60. Liu, X., Ji, Y., Lv, H., et al. (2025). Microbiome and metabolome reveal beneficial effects of baicalin on broiler growth performance and intestinal health. Poultry Science, 104(2), 104678. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104678
61. Tang, W., Wang, Z., Dong, Y., et al. (2026). Monochromatic light affects intestinal barrier function of chick via an anti-oxidation pathway involving melatonin and its receptor Mel1b. Poultry Science, 105(2), 106305. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.106305
62. Yu, L. C.-H., Wang, J.-T., Wei, S.-C., et al. (2012). Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology, 3(1), 27–43. https://doi.org/10.4291/wjgp.v3.i1.27

63. Wigley, P. (2015). Blurred lines: Pathogens, commensals, and the healthy gut. Frontiers in Veterinary Science, 40(2), 164628. https://doi.org/10.3389/FVETS.2015.00040

64. Oost, M. J., Velkers, F. C., Kraneveld, A. D., et al. (2021). Development of the in vitro cecal chicken ALIMEntary tRact mOdel-2 to study microbiota composition and function. Frontiers in Microbiology, 12, 726447. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.726447

65. Hansen, C. H. F., Nielsen, D. S., Kverka, M., et al. (2012). Patterns of early gut colonization shape future immune responses of the host. PLOS ONE, 7(3), e34043. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034043

66. Conroy, M. E., Shi, H. N., & Walker, W. A. (2009). The long-term health effects of neonatal microbial flora. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 9(3), 197–201. https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32832b3f1d

67. Barnes, E. M., Impey, C. S., & Cooper, D. M. (1980). Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. The American Journal of Clinical Nutrition, 33(11), 2426–2433. https://doi.org/10.1093/ajcn/33.11.2426

68. Ballou, A. L., Ali, R. A., Mendoza, M. A., et al. (2016). Development of the chick microbiome: How early exposure influences future microbial diversity. Frontiers in Veterinary Science, 3(2), 163–181. https://doi.org/10.3389/FVETS.2016.00002

69. Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. R., et al. (2005). Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Two The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria. https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7

70. Akinyemi, F. T., Ding, J., Zhou, H., et al. (2020). Dynamic distribution of gut microbiota during embryonic development in chicken. Poultry Science, 99(10), 5079–5090. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.016

71. Singh, J., Sharma, S., & Nara, S. (2015). Evaluation of gold nanoparticle based lateral flow assays for diagnosis of enterobacteriaceae members in food

and water. Food Chemistry, 170, 470–483. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.092

72. Aruwa, C. E., Pillay, C., Nyaga, M. M., et al. (2021). Poultry gut health—Microbiome functions, environmental impacts, microbiome engineering and advancements in characterization technologies. Journal of Animal Science and Biotechnology, 12(1), 119. https://doi.org/10.1186/s40104-021-00640-9
73. Melki, R., & Litvak, Y. (2024). From vacant to vivid: The nutritional landscape drives infant gut microbiota establishment. Molecular Microbiology, 122(3), 347–356. https://doi.org/10.1111/mmi.15296
74. Litvak, Y., Mon, K. K. Z., Nguyen, H., et al. (2019). Commensal Enterobacteriaceae protect against Salmonella colonization through oxygen competition. Cell Host & Microbe, 25(1), 128–139.e5. https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.12.003
75. Proszkowiec-Weglarz, M., Miska, K. B., Ellestad, L. E., et al. (2022). Delayed access to feed early post-hatch affects the development and maturation of gastrointestinal tract microbiota in broiler chickens. BMC Microbiology, 22(1), 206. https://doi.org/10.1186/s12866-022-02619-6
76. Zhao, H., Comer, L., Akram, M. Z., et al. (2025). Recent advances in the application of microbiota transplantation in chickens. Journal of Animal Science and Biotechnology, 16(1), 91. https://doi.org/10.1186/s40104-025-01233-6
77. Wei, S., Morrison, M., & Yu, Z. (2013). Bacterial census of poultry intestinal microbiome. Poultry Science, 92(3), 671–683. https://doi.org/10.3382/ps.2012-02822
78. Oakley, B. B., Lillehoj, H. S., Kogut, M. H., et al. (2014). The chicken gastrointestinal microbiome. FEMS Microbiology Letters, 360(2), 100–112. https://doi.org/10.1111/1574-6968.12608
79. Dumonceaux, T. J., Hill, J. E., Hemmingsen, S. M., et al. (2006). Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. Applied and

Environmental Microbiology, 72(4), 2815–2823. https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2815-2823.2006

80. Lu, J., Idris, U., Harmon, B., et al. (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. Applied and Environmental Microbiology, 69(11), 6816–6824. https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6816-6824.2003
81. Apajalahti, J., Kettunen, A., & Graham, H. (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. World's Poultry Science Journal, 60(2), 223–232. https://doi.org/10.1079/WPS200415
82. Zhao, L., Wang, G., Siegel, P., et al. (2013). Quantitative genetic background of the host influences gut microbiomes in chickens. Scientific Reports, 3(1), 1163. https://doi.org/10.1038/srep01163
83. Meijerink, N., Van den Biggelaar, R. H. G. A., Van Haarlem, D. A., et al. (2021). A detailed analysis of innate and adaptive immune responsiveness upon infection with Salmonella enterica serotype Enteritidis in young broiler chickens. Veterinary Research, 52, 1–21. https://doi.org/10.1186/s13567-021-00978-y
84. Moran Jr., E. T. (2014). Intestinal events and nutritional dynamics predispose Clostridium perfringens virulence in broilers. Poultry Science, 93(12), 3028–3036. https://doi.org/10.3382/ps.2014-04313
85. Rinttilä, T., & Apajalahti, J. (2013). Intestinal microbiota and metabolites—Implications for broiler chicken health and performance. Journal of Applied Poultry Research, 22(3), 647–658. https://doi.org/10.3382/japr.2013-00742
86. Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., et al. (2005). Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. The Journal of Nutrition, 135(2), 187–192. https://doi.org/10.1093/jn/135.2.187
87. Oakley, B. B., & Kogut, M. H. (2016). Spatial and temporal changes in the broiler chicken cecal and fecal microbiomes and correlations of bacterial taxa

with cytokine gene expression. Frontiers in Veterinary Science, 11(3), 168639. https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00011

88. Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., et al. (2011). Necrotic enteritis in broilers: An updated review on the pathogenesis. Avian Pathology, 40(4), 341–347. https://doi.org/10.1080/03079457.2011.590967
89. Guabiraba, R., & Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: Still many black holes. FEMS Microbiology Letters, 362(15), fnv118. https://doi.org/10.1093/femsle/fnv118
90. Kemmett, K., Humphrey, T., Rushton, S., et al. (2013). A longitudinal study simultaneously exploring the carriage of APEC virulence associated genes and the molecular epidemiology of faecal and systemic E. coli in commercial broiler chickens. PLOS ONE, 8(6), e67749. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067749
91. FSA welcomes retailers' efforts to reduce Campylobacter on chickens. (2015). Veterinary Record, 176(25), 639. https://doi.org/10.1136/VR.H3270
92. Pećina-Šlaus, N. (2003). Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. Cancer Cell International, 3, 17. https://doi.org/10.1186/1475-2867-3-17
93. Takahashi, T., & Schleimer, R. P. (2021). Epithelial-cell-derived extracellular vesicles in pathophysiology of epithelial injury and repair in chronic rhinosinusitis: Connecting immunology in research lab to biomarkers in clinics. International Journal of Molecular Sciences, 22(21), 11709. https://doi.org/10.3390/ijms222111709
94. McConkey, D. J., Choi, W., Marquis, L., et al. (2009). Role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in drug sensitivity and metastasis in bladder cancer. Cancer and Metastasis Reviews, 28, 335–344. https://doi.org/10.1007/s10555-009-9194-7
95. Peinado, H., Olmeda, D., & Cano, A. (2007). Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: An alliance against the epithelial phenotype? Nature Reviews Cancer, 7(6), 415–428. https://doi.org/10.1038/nrc2131

96. Ye, Y., Xiao, Y., Wang, W., et al. (2010). ERα signaling through slug regulates E-cadherin and EMT. Oncogene, 29(10), 1451–1462. https://doi.org/10.1038/onc.2009.433

97. Hu, Y., Zheng, Y., Dai, M., et al. (2019). G9a and histone deacetylases are crucial for Snail2-mediated E-cadherin repression and metastasis in hepatocellular carcinoma. Cancer Science, 110(11), 3442–3452. https://doi.org/10.1111/cas.14173

98. Sasaki, M., Sitaraman, S. V., Babbin, B. A., et al. (2007). Invasive Escherichia coli are a feature of Crohn's disease. Laboratory Investigation, 87(10), 1042–1054. https://doi.org/10.1038/labinvest.3700661

99. Suzuki, T. (2020). Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. Animal Science Journal, 91(1), e13357. https://doi.org/10.1111/asj.13357

100. Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., et al. (1993). Occludin: A novel integral membrane protein localizing at tight junctions. Journal of Cell Biology, 123(6), 1777–1788. https://doi.org/10.1083/jcb.123.6.1777

101. Al-Sadi, R., Khatib, K., Guo, S., et al. (2011). Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 300(6), G1054–G1064. https://doi.org/10.1152/AJPGI.00055.2011

102. Saitou, M., Furuse, M., Sasaki, H., et al. (2000). Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. Molecular Biology of the Cell, 11(12), 4131–4142. https://doi.org/10.1091/mbc.11.12.4131

103. Ciccocioppo, R., Finamore, A., Ara, C., et al. (2006). Altered expression, localization, and phosphorylation of epithelial junctional proteins in celiac disease. American Journal of Clinical Pathology, 125(4), 502–511. https://doi.org/10.1309/DTYRA91G8R0KTM8M

104. Gassler, N., Rohr, C., Schneider, A., et al. (2001). Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. American Journal

of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 281(1), G216–G228. https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.281.1.G216

105. Zeissig, S., Bürgel, N., Günzel, D., et al. (2007). Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. Gut, 56(1), 61–72. https://doi.org/10.1136/gut.2006.094375

106. Neurath, M. F., Artis, D., & Becker, C. (2025). The intestinal barrier: A pivotal role in health, inflammation, and cancer. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 10(6), 573–592. https://doi.org/10.1016/S2468-1253(24)00390-X

107. Nakai, D., & Miyake, M. (2023). Intestinal membrane function in inflammatory bowel disease. Pharmaceutics, 16(1), 29. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010029

108. Górecka, A., Jura-Półtorak, A., Koźma, E. M., et al. (2024). Biochemical modulators of tight junctions (TJs): Occludin, claudin-2 and zonulin as biomarkers of intestinal barrier leakage in the diagnosis and assessment of inflammatory bowel disease progression. Molecules, 29(19), 4577. https://doi.org/10.3390/molecules29194577

109. Kouli, A., Torsney, K. M., & Kuan, W.-L. (2018). Parkinson's disease: Etiology, neuropathology, and pathogenesis. In Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects (pp. 3–26). https://doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch1

110. Lui, F., & Tsao, J. W. (2026). Alzheimer disease. In StatPearls. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/

111. Brookmeyer, R., Abdalla, N., Kawas, C. H., et al. (2018). Forecasting the prevalence of preclinical and clinical Alzheimer's disease in the United States. Alzheimer's & Dementia, 14(2), 121–129. https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.10.009

112. Moradi-Lakeh, M., Forouzanfar, M. H., Vollset, S. E., et al. (2017). Burden of musculoskeletal disorders in the Eastern Mediterranean Region, 1990–

2013: Findings from the Global Burden of Disease Study 2013. Annals of the Rheumatic Diseases, 76(8), 1365–1373. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210146

113. Zuo, Y., Feng, Q., Jin, L., et al. (2020). Regulation of the linear ubiquitination of STAT1 controls antiviral interferon signaling. Nature Communications, 11(1), 1146. https://doi.org/10.1038/s41467-020-14948-z

114. Li, J., Su, L., Jiang, J., et al. (2024). RanBP2/Nup358 mediates sumoylation of STAT1 and antagonizes interferon-α-mediated antiviral innate immunity. International Journal of Molecular Sciences, 25(1), 299. https://doi.org/10.3390/IJMS25010299

115. Asano, S., Okada-Ogawa, A., Kobayashi, M., et al. (2023). Involvement of interferon gamma signaling in spinal trigeminal caudal subnucleus astrocyte in orofacial neuropathic pain in rats with infraorbital nerve injury. Molecular Pain, 19, 1–13. https://doi.org/10.1177/17448069231222403

116. Bhat, M. Y., Solanki, H. S., Advani, J., et al. (2018). Comprehensive network map of interferon gamma signaling. Journal of Cell Communication and Signaling, 12, 745–751. https://doi.org/10.1007/s12079-018-0486-y

117. Jorgovanovic, D., Song, M., Wang, L., et al. (2020). Roles of IFN-γ in tumor progression and regression: A review. Biomarker Research, 8(1), 49. https://doi.org/10.1186/s40364-020-00228-x

118. Lv, C., Yuan, D., & Cao, Y. (2021). Downregulation of interferon-γ receptor expression endows resistance to anti--programmed death protein 1 therapy in colorectal cancer. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 376(1), 21–28. https://doi.org/10.1124/jpet.120.000284

119. Chen, Z., Yao, M.-W., Shen, Z.-L., et al. (2023). Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergistically enhance the immunosuppressive capacity of human umbilical-cord-derived mesenchymal stem cells by increasing PD-L1 expression. World Journal of Stem Cells, 15(8), 787–806. https://doi.org/10.4252/wjsc.v15.i8.787

120. Li, N., Wang, J., Zhang, N., et al. (2018). Cross-talk between TNF-α and IFN-γ signaling in induction of B7-H1 expression in hepatocellular carcinoma cells. Cancer Immunology, Immunotherapy, 67(2), 271–283. https://doi.org/10.1007/s00262-017-2086-8

121. Duangnumsawang, Y., Zentek, J., & Goodarzi Boroojeni, F. (2021). Development and functional properties of intestinal mucus layer in poultry. Frontiers in Immunology, 12, 745849. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.745849

122. Szkopek, D., Mendel, M., Kinsner, M., et al. (2025). Cannabidiol and nano-selenium mediate intestinal barrier function by affecting mucosal microstructures, and gut-associated immunological and oxidative stress response in the gut of chickens infected with C. perfringens. Frontiers in Immunology, 16, 1529449. https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1529449

123. Zhao, L., Jiang, Q., Lei, J., et al. (2024). Bile acid disorders and intestinal barrier dysfunction are involved in the development of fatty liver in laying hens. Poultry Science, 103(12), 104422. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104422

124. Jia, H., & Dong, N. (2024). Effects of bile acid metabolism on intestinal health of livestock and poultry. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 108(5), 1258–1269. https://doi.org/10.1111/jpn.13969

125. Liu, W.-C., Pan, Z.-Y., Zhao, Y., et al. (2022). Effects of heat stress on production performance, redox status, intestinal morphology and barrier-related gene expression, cecal microbiome, and metabolome in indigenous broiler chickens. Frontiers in Physiology, 13. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.890520

126. Hosseindoust, A., Kang, H. K., & Kim, J. S. (2022). Quantifying heat stress; the roles on metabolic status and intestinal integrity in poultry, a review. Domestic Animal Endocrinology, 81, 106745. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2022.106745

127. Fei, L., Xinyu, C., Xingyu, X., et al. (2024). Alterations of intestinal mucosal barrier, cecal microbiota diversity, composition, and metabolites of yellow-feathered broilers under chronic corticosterone-induced stress: A possible mechanism underlying the anti-growth performance and glycolipid metabolism. Microbiology Spectrum, 12(5), e03473-23. https://doi.org/10.1128/spectrum.03473-23

128. Reisinger, N., Emsenhuber, C., Doupovec, B., et al. (2020). Endotoxin translocation and gut inflammation are increased in broiler chickens receiving an oral lipopolysaccharide (LPS) bolus during heat stress. Toxins, 12(10), 622. https://doi.org/10.3390/toxins12100622

129. Thiam, M., Barreto Sánchez, A. L., Zhang, J., et al. (2021). Association of heterophil/lymphocyte ratio with intestinal barrier function and immune response to Salmonella enteritidis infection in chicken. Animals, 11(12), 3498. https://doi.org/10.3390/ani11123498

130. Chen, J., Tellez, G., Richards, J. D., et al. (2015). Identification of potential biomarkers for gut barrier failure in broiler chickens. Frontiers in Veterinary Science, 2. https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00014

131. Hassan, W. M. M., Abd El Tawab, A. A., & El-Shannat, S. M. (2020). Evaluation of the hematological and clinical biochemical markers of stress in broiler chickens. Veterinary World, 13(10), 2294. https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2020.2294-2300

132. Yu, D. G., Namgung, N., Kim, J. H., et al. (2021). Effects of stocking density and dietary vitamin C on performance, meat quality, intestinal permeability, and stress indicators in broiler chickens. Journal of Animal Science and Technology, 63(4), 815–826. https://doi.org/10.5187/jast.2021.e77

133. Obianwuna, U. E., Chang, X., Oleforuh-Okoleh, V. U., et al. (2024). Phytobiotics in poultry: Revolutionizing broiler chicken nutrition with plant-derived gut health enhancers. Journal of Animal Science and Biotechnology, 15(1), 169. https://doi.org/10.1186/s40104-024-01101-9

134. Li, Y., Zhao, Q., Zhang, Q., et al. (2025). Dietary supplementation with apigenin ameliorates intestinal injury in broilers suffering from necrotic enteritis. Poultry Science, 104(11), 105633. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105633

135. Jiang, Z., Su, W., Wen, C., et al. (2022). Effect of porcine Clostridium perfringens on intestinal barrier, immunity, and quantitative analysis of intestinal bacterial communities in mice. Frontiers in Veterinary Science, 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.881878

136. Kim, D. Y., Kim, J. H., Choi, W. J., et al. (2021). Comparative effects of dietary functional nutrients on growth performance, meat quality, immune responses, and stress biomarkers in broiler chickens raised under heat stress conditions. Animal Bioscience, 34(11), 1839–1848. https://doi.org/10.5713/ab.21.0230

137. Jiang, Y., Zhang, W., Gao, F., et al. (2015). Effect of sodium butyrate on intestinal inflammatory response to lipopolysaccharide in broiler chickens. Canadian Journal of Animal Science, 95(3), 389–395. https://doi.org/10.4141/cjas-2014-183

138. Zhou, L., Lin, Y., Chang, Y., et al. (2023). The influence of Piper sarmentosum extract on growth performance, intestinal barrier function, and metabolism of growing chickens. Animals, 13(13), 2108. https://doi.org/10.3390/ani13132108

139. Wassie, T., Cheng, B., Zhou, T., et al. (2022). Microbiome-metabolome analysis reveals alterations in the composition and metabolism of caecal microbiota and metabolites with dietary Enteromorpha polysaccharide and Yeast glycoprotein in chickens. Frontiers in Immunology, 13. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.996897

140. Nuria, V.-S., P. P., D., Eric, P., et al. (2024). Unraveling the benefits of Bacillus subtilis DSM 29784 poultry probiotic through its secreted metabolites: An in vitro approach. Microbiology Spectrum, 12(11), e00177-24. https://doi.org/10.1128/spectrum.00177-24

141. Uyanga, V. A., Sun, L., Liu, Y., et al. (2023). Effects of arginine replacement with L-citrulline on the arginine/nitric oxide metabolism in chickens: An animal model without urea cycle. Journal of Animal Science and Biotechnology, 14(1), 9. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00817-w

142. Miao, S., Li, J., Chen, Y., et al. (2024). Targeting gut microbiota and metabolism profiles with coated sodium butyrate to ameliorate high-energy and low-protein diet-induced intestinal barrier dysfunction in laying hens. Animal Nutrition, 19, 104–116. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.06.006

143. Jiantao, Y., Kailong, Q., Yanpeng, S., et al. (2024). Microbiota-accessible fiber activates short-chain fatty acid and bile acid metabolism to improve intestinal mucus barrier in broiler chickens. Microbiology Spectrum, 12(1), e02065-23. https://doi.org/10.1128/spectrum.02065-23

144. Ren, Y., Tian, Y., Hou, M., et al. (2023). Evaluation of stimbiotic on growth performance and intestinal development of broilers fed corn- or wheat-based diets. Poultry Science, 102(12), 103094. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103094

145. Liu, X., Fu, C., Gao, Q., et al. (2025). Effect of tryptophan supplementation levels on the cecal microbial composition, growth performance, immune function and antioxidant capacity in broilers. Metabolites, 15(11), 736. https://doi.org/10.3390/metabo15110736

146. Su, Y., Wang, M., Wu, Z., et al. (2025). Dihydrosanguinarine enhances tryptophan metabolism and intestinal immune function via AhR pathway activation in broilers. Journal of Animal Science and Biotechnology, 16(1), 94. https://doi.org/10.1186/s40104-025-01220-x

147. Barekatain, R., Inhuber, V., Sharma, N., et al. (2025). Intestinal barrier function, caecal microbiota and growth performance of thermoneutral or heat stressed broiler chickens fed reduced crude protein diets supplemented with guanidinoacetic acid. Poultry Science, 104(2), 104792. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.104792

148. Huang, B., Wan, Y., Li, G., et al. (2025). Immune stress impairs broiler performance by affecting hypothalamic methylation modification and intestinal 5-HT synthesis. Poultry Science, 104(9), 105444. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105444

149. Kim, H. W., Lee, S. Y., Hur, S. J., et al. (2023). Effects of functional nutrients on chicken intestinal epithelial cells induced with oxidative stress. Journal of Animal Science and Technology, 65(5), 1040–1052. https://doi.org/10.5187/jast.2023.e22

150. Sun, Y., Li, Z., Yan, M., et al. (2024). Responses of intestinal antioxidant capacity, morphology, barrier function, immunity, and microbial diversity to chlorogenic acid in late-peak laying hens. Animals, 14(20), 2957. https://doi.org/10.3390/ani14202957

151. Wang, Q., Zhan, X., Wang, B., et al. (2022). Modified montmorillonite improved growth performance of broilers by modulating intestinal microbiota and enhancing intestinal barriers, anti-inflammatory response, and antioxidative capacity. Antioxidants, 11(9), 1799. https://doi.org/10.3390/antiox11091799

152. Cheng, H., Zhang, D., Wu, J., et al. (2023). Interactions between gut microbiota and polyphenols: A mechanistic and metabolomic review. Phytomedicine, 119, 154979. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154979

153. Ouyang, H., Zentek, J., Ebersbach, L., et al. (2025). Effects of different concentrations of a white grape marc extract on broiler performance, apparent ileal digestibility, antioxidant capacity, intestinal barrier function and nutrient transport markers. Poultry Science, 104(9), 105366. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105366

154. Dehau, T., Cherlet, M., Croubels, S., et al. (2023). Berberine-microbiota interplay: Orchestrating gut health through modulation of the gut microbiota and metabolic transformation into bioactive metabolites. Frontiers in Pharmacology, 14. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1281090

155. Hu, W., Du, L., Shao, J., et al. (2024). Molecular and metabolic responses to immune stress in the jejunum of broiler chickens: Transcriptomic and metabolomic analysis. Poultry Science, 103(5), 103621. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103621

156. Abbas, W., Bi, R., Hussain, M. D., et al. (2024). Antibiotic cocktail effects on intestinal microbial community, barrier function, and immune function in early broiler chickens. Antibiotics, 13(5), 413. https://doi.org/10.3390/antibiotics13050413

157. Chen, P., Rehman, M. U., He, Y., et al. (2025). Exploring the interplay between Eimeria spp. infection and the host: Understanding the dynamics of gut barrier function. Veterinary Quarterly, 45(1), 1–22. https://doi.org/10.1080/01652176.2025.2452169

158. Mantzios, T., Tsiouris, V., Kiskinis, K., et al. (2023). In vitro investigation of the antibacterial activity of nine commercial water disinfectants, acidifiers, and glyceride blends against the most important poultry zoonotic bacteria. Pathogens, 12(3), 381. https://doi.org/10.3390/pathogens12030381

159. Shahidi, S., Yahyavi, M., & Zare, D. N. (2014). Influence of dietary organic acids supplementation on reproductive performance of freshwater Angelfish (Pterophyllum scalare). Global Veterinaria, 13(3), 373–377. https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2014.13.03.84297

160. Ricke, S. C., Dittoe, D. K., & Richardson, K. E. (2020). Formic acid as an antimicrobial for poultry production: A review. Frontiers in Veterinary Science, 7, 533419. https://doi.org/10.3389/FVETS.2020.00563

161. Hermans, D., Martel, A., Van Deun, K., et al. (2010). Intestinal mucus protects Campylobacter jejuni in the ceca of colonized broiler chickens against the bactericidal effects of medium-chain fatty acids. Poultry Science, 89(6), 1144–1155. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00717

162. Aljumaah, M. R., Alkhulaifi, M. M., Abudabos, A. M., et al. (2020). Organic acid blend supplementation increases butyrate and acetate production

in Salmonella enterica serovar Typhimurium challenged broilers. PLOS ONE, 15(6), e0232831. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232831

163. Kelly, C. J., Zheng, L., Campbell, E. L., et al. (2015). Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. Cell Host & Microbe, 17(5), 662–671. https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2015.03.005

164. Facchin, S., Vitulo, N., Calgaro, M., et al. (2020). Microbiota changes induced by microencapsulated sodium butyrate in patients with inflammatory bowel disease. Neurogastroenterology & Motility, 32(10), e13914. https://doi.org/10.1111/nmo.13914

165. Desbois, A. P., & Smith, V. J. (2010). Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 85(6), 1629–1642. https://doi.org/10.1007/S00253-009-2355-3

166. Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., et al. (2018). Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. International Journal of Molecular Sciences, 19(4), 1114. https://doi.org/10.3390/IJMS19041114

167. Feyaerts, J. (2022, March). Why is the use of monoglycerides so popular? Poultry World. https://www.foodagribusiness.world/feed/why-is-the-use-of-monoglycerides-so-popular

168. Batovska, D. I., Todorova, I. T., Tsvetkova, I. V., et al. (2009). Antibacterial study of the medium chain fatty acids and their 1-monoglycerides: Individual effects and synergistic relationships. Polish Journal of Microbiology, 58(1), 43–47.

169. Wang, H., Chen, H., Lin, Y., et al. (2022). Butyrate glycerides protect against intestinal inflammation and barrier dysfunction in mice. Nutrients, 14(19), 3991. https://doi.org/10.3390/NU14193991

170. Amer, S. A., A-Nasser, A., Al-Khalaifah, H. S., et al. (2020). Effect of dietary medium-chain α-monoglycerides on the growth performance,

intestinal histomorphology, amino acid digestibility, and broiler chickens' blood biochemical parameters. Animals, 11(1), 57. https://doi.org/10.3390/ANI11010057

171. Feye, K. M., Dittoe, D. K., Jendza, J. A., et al. (2021). A comparison of formic acid or monoglycerides to formaldehyde on production efficiency, nutrient absorption, and meat yield and quality of Cobb 700 broilers. Poultry Science, 100(12), 101476. https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2021.101476
172. Xu, E., Chen, C., Fu, J., et al. (2021). Dietary fatty acids in gut health: Absorption, metabolism and function. Animal Nutrition, 7(4), 1337–1344. https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2021.09.010
173. Hariastuti, N. I. (2011). Avian influenza virus inactivation by caprylic acid, sodium caprylate, and monocaprylin. Health Science Journal of Indonesia, 2(1), 41–45. https://doi.org/10.22435/hsji.v2i1Apr.62.41-45
174. Suresh, G., Das, R. K., Kaur Brar, S., et al. (2018). Alternatives to antibiotics in poultry feed: Molecular perspectives. Critical Reviews in Microbiology, 44(3), 318–335. https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1373062
175. Azizi, M. N., Aminullah, N., Alam, S., et al. (2026). Poultry gut health: Industry drivers, management determinants, and emerging research directions. Veterinary and Animal Science, 31, 100566. https://doi.org/10.1016/j.vas.2026.100566
176. Naeem, M., & Bourassa, D. (2025). Probiotics in poultry: Unlocking productivity through microbiome modulation and gut health. Microorganisms, 13(2), 257. https://doi.org/10.3390/microorganisms13020257
177. Abou-Jaoudeh, C., Andary, J., & Abou-Khalil, R. (2024). Antibiotic residues in poultry products and bacterial resistance: A review in developing countries. Journal of Infection and Public Health, 17(12), 102592. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102592

178. Ma, J., Piao, X., Mahfuz, S., et al. (2021). The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids. Animal Nutrition, 9, 159–174. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.09.012

179. Ali, Q., Ma, S., La, S., et al. (2022). Microbial short-chain fatty acids: A bridge between dietary fibers and poultry gut health—A review. Animal Bioscience, 35(10), 1461–1478. https://doi.org/10.5713/AB.21.0562

180. Clavijo, V., & Flórez, M. J. V. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. Poultry Science, 97(3), 1006–1021. https://doi.org/10.3382/PS/PEX359

181. Tabler, T. W., Greene, E. S., Orlowski, S. K., et al. (2020). Intestinal barrier integrity in heat-stressed modern broilers and their ancestor wild jungle fowl. Frontiers in Veterinary Science, 7. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00249

182. Sacakli, P., Çınar, Ö. Ö., Ceylan, A., et al. (2023). Performance and gut health status of broilers fed diets supplemented with two graded levels of a monoglyceride blend. Poultry Science, 102(2), 102359. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102359

183. Mátis, G., Mackei, M., Boomsma, B., et al. (2022). Dietary protected butyrate supplementation of broilers modulates intestinal tight junction proteins and stimulates endogenous production of short chain fatty acids in the caecum. Animals, 12(15), 1940. https://doi.org/10.3390/ani12151940

184. Rohde, F., Schusser, B., Hron, T., et al. (2018). Characterization of chicken tumor necrosis factor-α, a long missed cytokine in birds. Frontiers in Immunology, 9. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00605

185. Zeng, T., Sun, H., Huang, M., et al. (2023). Dietary supplementation of coated sodium butyrate improves growth performance of laying ducks by regulating intestinal health and immunological performance. Frontiers in Immunology, 14. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1142915

186. Idowu, P. A., Mpofu, T. J., Magoro, A. M., et al. (2025). Impact of probiotics on chicken gut microbiota, immunity, behavior, and productive

performance—A systematic review. Frontiers in Animal Science, 6. https://doi.org/10.3389/fanim.2025.1562527

187. Yang, H., Rao, J. N., & Wang, J.-Y. (2014). Posttranscriptional regulation of intestinal epithelial tight junction barrier by RNA-binding proteins and microRNAs. Tissue Barriers, 2(1), e28320. https://doi.org/10.4161/tisb.28320

188. Cummins, P. M. (2012). Occludin: One protein, many forms. Molecular and Cellular Biology, 32(2), 242–250. https://doi.org/10.1128/MCB.06029-11

189. Duangnumsawang, Y., Zentek, J., Vahjen, W., et al. (2022). Alterations in bacterial metabolites, cytokines, and mucosal integrity in the caecum of broilers caused by feed additives and host-related factors. Frontiers in Physiology, 13. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.935870

190. Wang, L., Cheng, J., Shan, X., et al. (2026). Sodium butyrate ameliorates lipid metabolism disorder, intestinal injury, and microbial dysbiosis in broilers under lipopolysaccharide-induced immune stress condition. Poultry Science, 105(2), 106263. https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.106263

191. Karadedos, D. M., Mantzios, T., Kiousi, D. E., et al. (2025). Metagenomic insight into cecal microbiota shifts in broiler chicks following Eimeria spp. vaccination. Microorganisms, 13(7), 1470. https://doi.org/10.3390/microorganisms13071470

192. Farkas, V., Csitári, G., Menyhárt, L., et al. (2022). Microbiota composition of mucosa and interactions between the microbes of the different gut segments could be a factor to modulate the growth rate of broiler chickens. Animals, 12(10), 1296. https://doi.org/10.3390/ANI12101296

193. Liao, X., Shao, Y., Sun, G., et al. (2020). The relationship among gut microbiota, short-chain fatty acids, and intestinal morphology of growing and healthy broilers. Poultry Science, 99(11), 5883–5895. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.033

194. Lundberg, R., Scharch, C., & Sandvang, D. (2021). The link between broiler flock heterogeneity and cecal microbiome composition. Animal Microbiome, 3(1), 54. https://doi.org/10.1186/s42523-021-00110-7

195. Louis, P., & Flint, H. J. (2017). Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. Environmental Microbiology, 19(1), 29–41. https://doi.org/10.1111/1462-2920.13589

196. de-Cara, A., Saldaña, B., Vázquez, P., et al. (2023). Dietary protected sodium butyrate and/or olive leaf and grape-based by-product supplementation modifies productive performance, antioxidant status and meat quality in broilers. Antioxidants, 12(1), 201. https://doi.org/10.3390/antiox12010201

197. Hu, Q., Yin, F., Yang, L., et al. (2022). Dietary tributyrin intervention improves the carcass traits, organ indices, and blood biomarker profiles in broilers under the isocaloric diets administration. Poultry Science, 101(10), 102061. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102061

198. Al-Khalaifah, H., & Al-Nasser, A. (2020). Dietary supplementation with various fat oils affects phytohemagglutinin skin test in broiler chickens. Frontiers in Immunology, 11. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01735

199. Kuswandi, W., Budiman, C., Khaerunnisa, I., et al. (2025). Rearing system and immune status influence the small intestinal microbiota of IPB-D3 chickens: A full-length 16S rRNA metagenomic approach. Veterinary World, 18(8), 2206–2221. https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.2206-2221

200. Al-Surrayai, T., & Al-Khalaifah, H. (2022). Dietary supplementation of fructooligosaccharides enhanced antioxidant activity and cellular immune response in broiler chickens. Frontiers in Veterinary Science, 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.857294

201. Gu, Z., Xu, W., Gu, T., et al. (2025). Exploring the dietary strategies of coated sodium butyrate: Improving antioxidant capacity, meat quality, fatty acid composition, and gut health in broilers. Genes, 16(4), 433. https://doi.org/10.3390/genes16040433

202. Masiuk, D. M. & V. S. Nedzvetsky, 2025. Monoglyceride blend supplementation modulates intestinal molecular markers expression and microbiome status in the duodenum of broiler chickens. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2, 1-16. https://doi.org/10.15547/bjvm.2024-0127

203. Masiuk, D., Nedzvetsky V., & Maksymchuk, Ya. (2024). The current state and prospects for the use of organic acids and their compositions in poultry feed: A literature review. Scientific Horizons, 27(7), 148-157. https://doi.org/10.48077/scihor7.2024.148

204. Masiuk, D.M., Nedzvetsky, V.S., & Baydas, G. (2025). Muramyl peptide blend ameliorates intestinal inflammation and barrier integrity in Caco-2 cells. Karbala International Journal of Modern Science, 11(1), Article 7. https://doi.org/10.33640/2405-609X.3389

# ДОДАТКИ

*Додаток А*

# СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## Статті у наукових фахових виданнях України

3. **Shatalov S. A.**, Kirici M. PCR method application to assess the molecular markers of intestinal barrier integrity in farming broilers. Theoretical and Applied Veterinary Medicine. 2024. Vol. 12, No. 4. P. 31–36. DOI: https://doi.org/10.32819/2024.12020 *(Здобувач брав участь у плануванні дослідження, відборі та підготовці біологічного матеріалу, проведенні молекулярно-генетичних досліджень, аналізі отриманих результатів і підготовці рукопису статті).*

4. **Shatalov S. A.** Glycerides blend supplementation modulates the composition and diversity of gut microbiota in broiler chickens. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2025. Vol. 8, No. 3. P. 104–111. DOI: https://doi.org/10.32718/ujvas8-3.14

6. **Shatalov S. A.** Fatty acid glycerides modulate the expression of intercellular adhesion proteins and cytokines in the small intestine of broiler chickens. Theoretical and Applied Veterinary Medicine. 2025. Vol. 13, No. 4. P. 3–11. DOI: https://doi.org/10.32819/2025.13016

7. **Shatalov S. A.,** Nedzvetsky V. S. Effects of a glyceride mixture on metabolic parameters and productivity of broiler chickens during the period of intensive growth. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2026. Vol. 9, No. 1. P. 99–105. DOI: https://doi.org/10.32718/ujvas9-1.17. *(Здобувач брав участь у проведенні виробничого експерименту, визначенні метаболічних і продуктивних показників, статистичному аналізі даних та підготовці матеріалів до друку).*

8. **Shatalov S. A.** Modulation of barrier integrity and inflammation in the caecum of broiler chickens exposed to glycerides blend. Theoretical and Applied Veterinary Medicine. 2026. Vol. 14, No. 1. P. 24–29. DOI: https://doi.org/10.32819/2026.14004

**Тези наукових доповідей**

10. Нездвецький В. С., **Шаталов С. А.**, Волков А. Р. Застосування методу RT-PCR для характеристики бар'єрної функції кишечника курчат-бройлерів // Вплив змін клімату на здоров'я, добробут і продуктивність сільськогосподарських тварин : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. Одеса, 18 трав. 2023 р. С. 96–99. (*Здобувачем виконано аналіз наукових джерел, проведено експериментальні дослідження та підготовлено текст тез*)

11. **Shatalov S.**, Nezdvetsky V., Baydas G., Baselga R., Benito A., Arnal J. L. Advantages in RT-PCR method application to assess intestinal barrier function in broiler chickens // Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи: матеріали VIII Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 7–8 черв. 2023 р. С. 16–18. (*Здобувачем обґрунтовано методичний підхід, виконано основний обсяг експериментальних досліджень та узагальнено отримані результати*)

12. **Shatalov S. A.**, Baselga R., Benito A., Arnal J. L., Nedzvetsky V. S. Evaluation of intestinal barrier function in broiler chickens using polymerase chain reaction method // Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи: матеріали IX Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 28–29 трав. 2024 р. С. 161–162. (*Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку результатів та підготовлено текст публікації.*)

13. **Shatalov S.**, Gordiienko I., Nedzvetsky V. Assessment of intestinal barrier function in broiler chickens using polymerase chain reaction (PCR) techniques // Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології : матеріали VII Міжнар. наук. конф. Дніпро, 3–4 жовт. 2024 р. С. 81. (*Здобувачем виконано основний обсяг експериментальних досліджень, проведено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів*)

14. **Шаталов С. А.**, Погрібняк А. М., Недзвецький В. С. Застосування методу полімеразної ланцюгової реакції для оцінки стану бар'єрної функції

кишечника у бройлерів // Від діагностики до лікування: нові горизонти: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. Дніпро, 13–14 груд. 2024 р. С. 47. (*Здобувачем проведено експериментальні дослідження, узагальнено результати та підготовлено текст тез*)

15. **Shatalov S. A.**, Nedzvetsky V. S. Molecular markers application to find out the efficacy of antibiotics replacers // Тези доповідей XXIII Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених. Львів, 15–16 трав. 2025 р. С. 78. (*Здобувачем виконано експериментальні дослідження, проведено аналіз молекулярних маркерів та сформульовано висновки*)

16. **Shatalov S. A.**, Faraj A. M. PCR method application to assess the molecular markers of intestinal barrier integrity in farming broilers // Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи : матеріали X Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпро, 20–21 трав. 2025 р. С. 14. (*Здобувачем розроблено дизайн дослідження, виконано експериментальну частину та здійснено узагальнення результатів*)

17. **Шаталов С. А.**, Недзвецький В. С. Оцінка впливу суміші моногліцеридів на кишковий бар’єр та імунну відповідь у бройлерів // Актуальні питання ветеринарної патології: матеріали Міжнар. наук. конф. Київ, 2–3 жовт. 2025 р. С. 106. (*Здобувачем виконано експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку та інтерпретацію результатів*)

18. **Шаталов С. А.**, Недзвецький В. С. Кормові добавки препарату гліцеридів регулюють склад та різноманітність мікробіому бройлерів // Актуальні питання ветеринарної морфології, патології та біотехнології: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. Дніпро, 19–20 берез. 2026 р. С. 110. (*Здобувачем виконано дослідження мікробіому, проведено біоінформатичний аналіз та узагальнено отримані результати.*)

**Апробація результатів дисертації**: Основні положення та результати дисертаційної роботи були представлені на: Міжнародній науково-практичній конференції «Вплив змін клімату на здоров'я, добробут і продуктивність сільськогосподарських тварин» (м. Одеса, 18 травня 2023 р.); VIII Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 7–8 червня 2023 р.); IX Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 28–29 травня 2024 р.), VII Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (м. Дніпро, 3–4 жовтня 2024 р.) та Всеукраїнській науково-практичній конференції «Від діагностики до лікування: нові горизонти» (м. Дніпро, 13–14 грудня 2024 р.); XXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених (м. Львів, 15–16 травня 2025 р.); X Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і здобувачів вищої освіти «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпро, 20–21 травня 2025 р.); Міжнародній науковій конференції «Актуальні питання ветеринарної патології» (м. Київ, 2–3 жовтня 2025 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання ветеринарної морфології, патології та біотехнології» (м. Дніпро, 19–20 березня 2026 р.).

***Додаток Б***

**ЗАТВЕРДЖУЮ**
Перший проректор, проректор
з навчальної роботи
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету,
кандидат сільськогосподарських наук,
професор
_____ Дмитро ОНОПРІЄНКО
«___» _____ 2026 р.

**ПОГОДЖЕНО**
Проректор з наукової та
інноваційної роботи
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету,
доктор сільськогосподарських наук,
професор
_____ Юрій ТКАЛІЧ
«23» лютого 2026 р.

**Акт**

**про впровадження результатів дисертації в навчальний процес та науково-дослідну роботу**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарія» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», виконаної аспірантом кафедри фізіології, біохімії тварин і лабораторної діагностики Дніпровського державного аграрно-економічного університету **Шаталовим Сергієм Анатолійовичем**, розглянуто на засіданні кафедри фізіології, біохімії тварин і лабораторної діагностики Дніпровського державного аграрно-економічного університету (протокол № 6 від 23.02.2026 року).

Результати дослідження впроваджено в освітньо-професійну програму для викладання дисциплін «Фізіологія тварин», «Ветеринарна дієтологія», «Ветеринарна клінічна біохімія» за підготовки здобувачів ОС «Магістр» рівня вищої освіти із спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» в Дніпровському державному аграрно-економічному університеті та використовуються у проведенні наукових досліджень на кафедрі.

Декан факультету
ветеринарної медицини,
кандидат ветеринарних наук, доцент Іван БІБЕН

Завідувач кафедри фізіології,
біохімії тварин і лабораторної
діагностики,
доктор ветеринарних наук,
професор Дмитро МАСЮК

***Додаток В***

Затверджую:
директор ББН
ТОВ «Агро-Овен»
_____ Тетяна ЧАЛА
«02» лютого 2026 р.

**АКТ**

**впровадження результатів дисертаційної роботи у виробництво**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи **«Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів»**, що представлена на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», виконаної **Шаталовим Сергієм Анатолійовичем** впроваджені у ТОВ «Агро-Овен».

1. **Вид впроваджених результатів:** протокол вирощування курчат-бройлерів із застосуванням SCFA-M у ТОВ «Агро-Овен».
2. **Новизна отриманих результатів** полягає у встановленні впливу SCFA-M на молекулярні маркери структурно-функціональних ушкоджень кишечника курчат-бройлерів: підвищення вмісту E-cadherin та Occludin (білки щільних контактів епітелію), модуляцію рівнів TNF-α та IFN-γ, їхнього взаємозв'язку з мікробіомом кишечника, а також у підтвердженні дії SCFA-M на бар'єрну функцію кишечника, загальну резистентність і продуктивність птиці.
3. **Практичне впровадження використання результатів** в ТОВ «Агро-Овен» шляхом застосування SCFA-M курчатам-бройлерам протягом технологічного циклу, що забезпечило підвищення збереженості, середньодобових приростів маси тіла та поліпшення конверсії корму.
4. **Значущість отриманих результатів** виражається у мінімізації використання антибактеріальних препаратів, підвищенні продуктивності та збереженості курчат-бройлерів, а також у корекції бар'єрної функції порожньої та сліпої кишок, що пов'язано зі стабілізацією стану мікробіому.

Головний лікар ветмедицини
ТОВ «Агро-Овен» Василь КИСИЛИЦЯ

***Додаток Г***

**ПОГОДЖЕНО**
Проректор з наукової роботи
Дніпровського національного
університету імені Олеся Гончара
_____ Олег МАРЕНКОВ
«12» 05 2026 р.

**ЗАТВЕРДЖУЮ**
В.о. проректора з науково-педагогічної роботи
Дніпровського національного
університету імені Олеся Гончара
_____ Наталія ГУК
«12» 05 2026 р.

**А К Т**

впровадження результатів роботи, поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії Шаталова Сергія Анатолійовича «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів» в освітній процес Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара

1. «11» травня 2026 р. пр. № 12 на засіданні вченої ради біолого-екологічного факультету у складі 14 осіб заслухали повідомлення здобувача Шаталова Сергія Анатолійовича про впровадження науково-дослідної роботи «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів» аспіранта кафедри фізіології, біохімії тварин і лабораторної діагностики Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

2. Стисла характеристика результатів дослідження:
Запропоновано використання методу RT-ПЛР для оцінки бар'єрної функції кишечника, що є надзвичайно ефективним. Отримані результати свідчать про те, що додавання коротколанцюгових жирних кислот до раціону курчат-бройлерів сприяє зміцненню їхнього здоров'я через покращення стану інтестинального бар'єра. Це відкриває нові можливості для розроблення стратегій підвищення імунітету та продуктивності птиці. Отже, застосування сучасних молекулярно-біологічних методів дозволяє не лише глибше зрозуміти фізіологічні процеси у кишечнику, але й запропонува- ти науково обгрунтовані рішення для покращення стану птиці у промислових умовах.

3. Впровадження отриманих результатів та апробація даних були використані при викладанні курсів кафедри біохімії та фізіології ДНУ:
1) курси лекцій: «Функціональна біохімія та основи патофізіології», «Фізіологія тварин», «Еволюційна біохімія та фізіологія»;
2) лабораторні практикуми: «Спецпрактикум з фізіології», «Фізіологія тварин», «Еволюційна біохімія та фізіологія».

Шаталов С. А., Недзвецький В. С. Кормові добавки препарату гліцеридів регулюють склад та різноманітність мікробіому бройлерів. «Актуальні питання ветеринарної морфології, патології та біотехнології» Всеукраїнська науково-практична конференція лікарів ветеринарної медицини та здобувачів вищої освіти, 19-20 березня 2026 рік, С. 110-112. https://dspace.dsau.dp.ua/server/api/core/bitstreams/6950fcbe-9d3b-45b4-99e9-93d1f2224f69/content

Шаталов С. А. Оцінка впливу суміші моногліцеридів на кишковий бар'єр та імунну відповідь у бройлерів / С. А. Шаталов, В. С. Недзвецький // Актуальні питання ветеринарної патології : Міжнародна наукова конференція, приурочена 105-річчю факультету ветеринарної медицини та 85-річчю доктора ветеринарних наук, професора, заслуженого діяча науки і

експериментів на тваринах», схвалених на Національному конгресі з біоетики (м. Київ, 2001 р.), дотриманням міжнародних вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та відповідають Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (м. Київ, 2006 р.). Всі процедури з птицею проводились з дотриманням основних принципів біоетики.

Голова комісії,
д.вет.н., професор — Павло СКЛЯРОВ

Заступник голови комісії,
д.вет.н., професор — Олександр СОСНИЦЬКИЙ

Члени комісії:
к.вет.н., доцент — Іван БІБЕН

к.вет.н., доцент — Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

секретар комісії,
к.вет.н., доцент — Владислав ЧУМАК

***Додаток Д***

Проректор з наукової та інноваційної діяльності Дніпровського державного аграрно-економічного університету, доктор сільськогосподарських наук, професор _____ Юрій ТКАЛИЧ

«16» 12 2025 р.

**ВИСНОВОК З БІОЕТИЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ**

Дніпровського державного аграрно-економічного університету щодо експериментальних досліджень аспіранта кафедри фізіології, біохімії тварин і лабораторної діагностики ДДАЕУ Шаталова Сергія Анатолійовича, викладених у дисертаційній роботі «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів» на здобуття ступеня доктор філософії (PhD)

Комісія з біоетики Дніпровського державного аграрно-економічного університету в складі: голови комісії, доктора ветеринарних наук, професора Склярова П.М., заступника голови комісії, доктора ветеринарних наук, професора Сосницького О.І., членів комісії: кандидата ветеринарних наук, доцента Бібена І.А., кандидата ветеринарних наук, доцента Зажарського В.В., та секретаря комісії, кандидата ветеринарних наук, доцента Чумака В.О., розглянула матеріали досліджень дисертаційної роботи Шаталова Сергія Анатолійовича, викладених в дисертаційній роботі на здобуття ступеня доктора філософії (PhD) «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів».

**Висновок комісії:** експериментальні дослідження аспіранта факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету Шаталова Сергія Анатолійовича, викладені в дисертаційній роботі на здобуття ступеня доктор філософії (PhD) «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів» проведені з урахуванням «Загальноетичних принципів

техніки України, академіка НААН України А. Й. Мазуркевича ( Київ, 02-03 жовтня 2025 р. ) / НУБіП України. – Київ, 2025. – С. 107-108. https://dspace.dsau.dp.ua/handle/123456789/13474 .

Шаталов С. А., Погрібняк А. М., Недзвецький В. С. Застосування методу полімерної ланцюгової для оцінки стану бар'єрної функції кишечника у бройлерів. «ВІД ДІАГНОСТИКИ ДО ЛІКУВАННЯ: НОВІ ГОРИЗОНТИ» Всеукраїнська науково-практична конференція лікарів ветеринарної медицини та здобувачів вищої освіти, 13-14 грудня 2024 рік, С. 47 https://www.researchgate.net/profile/Volodymyr-Parchenko/publication/387662633_MINISTERSTVO_OSVITI_I_NAUKI_UKRAINI_Dniprovskij_derzavnij_agrarno-ekonomicnij_universitet/links/677687fcfb9aff6eaa0072c9/MINISTERSTVO-OSVITI-I-NAUKI-UKRAINI-Dniprovskij-derzavnij-agrarno-ekonomicnij-universitet.pdf#page=47

4. Пропозиції ради:
Запропоновано впровадити результати дисертаційної роботи Шаталова Сергія Анатолійовича «Визначення молекулярних маркерів структурно-функціональних ушкоджень в інтестинальній системі курчат-бройлерів» до освітнього процесу кафедри біохімії та фізіології ДНУ.

Голова вченої ради біолого-екологічного факультету,
д.б.н., професор Олена СЕВЕРИНОВСЬКА