

**Кормовые добавки, кормовые культуры**

УДК 619:636.52/58:636.084:577.2

doi: 10.15389/agrobiology.2025.6.1097rus

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ (*Gallus gallus*) КРОССА СМЕНА 9 РАЗНОГО ПОЛА ПРИ ВВЕДЕНИИ БЕТАИНА В РАЦИОН\***

Е.А. ИЫЛДЫРЫМ<sup>1, 2</sup> ✉, Л.А. ИЛЬИНА<sup>1, 2</sup>, Г.Ю. ЛАПТЕВ<sup>1</sup>,  
 В.А. ФИЛИППОВА<sup>1, 2</sup>, Д.Г. ТЮРИНА<sup>1</sup>, К.А. СОКОЛОВА<sup>1, 2</sup>, В.А. ЗАЙКИН<sup>1</sup>,  
 Е.С. ПОНОМАРЕВА<sup>1</sup>, В.И. ФИСИНИН<sup>3</sup>, И.А. ЕГОРОВ<sup>3</sup>, Т.А. ЕГОРОВА<sup>3</sup>,  
 В.А. МАНУКЯН<sup>3</sup>, Т.Н. ЛЕНКОВА<sup>3</sup>, О.Н. ДЕГТЯРЕВА<sup>3</sup>, М.С. ТИШЕНКОВА<sup>3</sup>,  
 Е.С. ДЕМИДОВА<sup>3</sup>, Л.М. КАШПОРОВ<sup>3</sup>, В.Е. ПАЩЕНКО<sup>3</sup>

Оптимизация состава рационов остается актуальной задачей современного птицеводства, учитывая стремление повысить рентабельность производства при минимизации затрат на дорогостоящие компоненты рациона. В настоящей работе впервые получены результаты, демонстрирующие влияние введения в рацион бетаина на экспрессию ключевых генов, связанных с иммунитетом, воспалительными процессами, барьерной функцией кишечника, антиоксидантной активностью и транспортом питательных веществ у цыплят-бройлеров кросса Смена 9 на фоне рационов с пониженным содержанием обменной энергии (на 5 %), лизина (на 10 %) и метионина (на 10 %). Целью работы было изучение влияния различных дозировок (200-400 г/т корма) бетаина на экспрессию ряда генов в тканях слепых отростков кишечника у цыплят-бройлеров кросса Смена 9, а также оценка его влияния на мясную продуктивность птицы, получавшей рацион с пониженным содержанием обменной энергии, лизина и метионина. Исследование проводили на цыплятах-бройлерах (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 на базе ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП (г. Сергиев Посад) в 2025 году. Были сформированы четыре группы птицы ( $n = 36$  в каждой группе с равным разделением по полу): I группа (контрольная) получала основной рацион (ОР) с пониженным содержанием обменной энергии (на 5 %), лизина (на 10 %) и метионина (на 10 %) в соответствии с рекомендациями ВНИТИП (17); II группа — ОР с добавлением 200 г/т комбикорма бетаина в форме кристаллического порошка с содержанием 95 % триметилглицина («Taian Navay Chemicals Co., Ltd», Китай), III группа — ОР с добавлением 300 г/т бетаина, IV группа — ОР с добавлением 400 г/т бетаина. Бетаин вносили посредством тщательного смешивания с комбикормом вручную. Кормление осуществляли вволю с использованием рассыпных комбикормов. Цикл кормления был трехэтапным: первый этап (до 14-х сут жизни) — использование стартерного комбикорма Старт (СГЦ «Загорское ЭПХ», Россия); второй этап (15-21-е сут) — применение ростоформирующего комбикорма Рост (СГЦ «Загорское ЭПХ», Россия); третий этап (22-35-е сут) — завершающая фаза с применением финишного комбикорма Финиш (СГЦ «Загорское ЭПХ», Россия). В конце эксперимента убивали птицу посредством декапитации и проводили отбор тканей слепых отростков кишечника для последующего анализа экспрессии генов. Анализ экспрессии генов был выполнен методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Общую РНК выделяли из образцов тканей с использованием коммерческого набора Aurum™ Total RNA («Bio-Rad», США) в соответствии с протоколом производителя. qRT-PCR выполняли с использованием набора SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix («Bio-Rad», США) на детектирующем амплификаторе DTLite 4S1 (НПК «ДНК-технология», Россия). Использовали праймеры для генов *IL6*, *IL8L2*, *PTGS2*, кодирующих провоспалительные цитокины, *AvBD1*, *AvBD2*, *AvBD9*, *AvBD10*, *AvBD11*, кодирующих антимикробные пептиды, *Casps6*, кодирующего каспазу-6, *MUC2*, кодирующего синтез муцина, *SGLT2*, кодирующего натрий-глюкозный котранспортер 2, *SOD1*, кодирующего супероксиддисмутазу 1. Относительную экспрессию генов рассчитывали с использованием метода 2<sup>-ΔΔCT</sup>. В дополнение к изучению экспрессии генов, фиксировали живую массу цыплят индивидуально, среднесуточный прирост живой массы, убойный выход и содержание абдоминального жира в тушах. Представляют интерес выявленные половые и дозозависимые различия в ответе на бетаин. Настоящая работа впервые демонстрирует сложный, дифференцированный эффект бетаина на экспрессию генов, связанных с иммунитетом, воспалением и метаболизмом глюкозы, в зависимости от пола и дозировки. Так, наиболее значительное увеличение живой массы петушков (на 7,2 и 7,3 %,  $p \leq 0,05$ ) наблюдалось при повышенных дозировках бетаина (300 и 400 г/т), что демонстрирует ранее известные свойства бетаина по улучшению продуктивности цыплят-бройлеров кросса Смена 9. При этом было выявлено существенное снижение отложения абдоминального жира ( $p \leq 0,05$ ). Бетаин вызывал дифференцированную реакцию, характеризующуюся повышением экспрессии *SOD1* — ключевого гена антиоксидантной защиты. Влияние бетаина на экспрессию многих генов иммунитета зависело от пола птицы. Так, у курочек произошло более чем 8-кратное увеличение экспрессии гена *AvBD1* при дозировке 200 г/т бетаина ( $p \leq 0,01$ ). В то же время при более высоких

\* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-66-00061, <https://rscf/project/22-66-00061/>.

дозах отмечалось снижение экспрессии других генов семейства *AvBD* ( $p \leq 0,05$ ). Отмечено снижение уровня мРНК генов провоспалительных факторов (*IL6*, *IL8* и *PTGS2*) ( $p \leq 0,05$ ). Количество мРНК гена *Casr6* повышалось у курочек при скармливании 200 г/т бетаина в 13,9 раза по сравнению с контролем ( $p \leq 0,01$ ). У петушков в группе с дозировкой 200 г/т произошел резкий скачок экспрессии *SGLT2* (натрий-глюкозный транспортер второго типа) — в 362 раза ( $p \leq 0,001$ ), а при увеличении дозировки до 300 и 400 г/т — соответственно в 39,4 и 13,5 раза ( $p \leq 0,01$ ). Таким образом, включение бетаина в корм цыплят-бройлеров кросса Смена 9 при одновременном снижении в рационе обменной энергии, лизина и метионина положительно влияет на производственные показатели птицы. Полученные результаты демонстрируют сложные и зависящие от пола и дозировки эффекты, которые бетаин оказывает на иммунную систему птицы, а также его потенциальную роль в модуляции воспалительных процессов и улучшении метаболизма глюкозы через регуляцию генной экспрессии.

**Ключевые слова:** бетаин, экспрессия генов, мясная продуктивность, цыплята-бройлеры, иммунитет, воспаление, рацион.

В современном птицеводстве оптимизация кормления — это основополагающий фактор, который определяет экономическую эффективность отрасли (1). Полноценные протеиновые корма занимают центральное место в обеспечении роста и развития птицы (2). Такое биологически активное вещество, как бетаин (триметилглицин) играет важную роль для поддержания здоровья и продуктивности сельскохозяйственной птицы (3). Бетаин выступает в качестве донора метильных групп в реакциях, катализируемых бетаин-гомоцистеинметилтрансферазой, играя роль в регенерации метионина из гомоцистеина (4). Благодаря этому бетаин снижает потребность птицы в дорогостоящем метионине (5). Также бетаин выступает в качестве осмопротектора, помогая организму справляться с осмотическим стрессом (6). Бетаин способен усиливать аппетит и способствовать лучшей усвояемости питательных веществ из корма, что позитивно сказывается на его конверсии (7). Бетаин также облегчает преобразование и всасывание жирных кислот, увеличивая их поступление в кровь и ткани, что улучшает обмен веществ и эффективность использования корма. Это особенно важно при скармливании низкопитательных или нестандартных рационов, где необходима дополнительная поддержка организма (8).

Известно, что бетаин поддерживает целостность эпителия кишечника, улучшая его барьерную функцию и снижая риск проникновения патогенных микроорганизмов (9). Повышенная плотность микроворсинок в кишечнике способствует более эффективному всасыванию питательных веществ (10).

Одна из важных особенностей бетаина заключается в его участии в липидном обмене. Вещество препятствует чрезмерному накоплению жира, активизируя мобилизацию жирных кислот из депо и ускоряя их использование в обменных процессах. Это приводит к формированию высококачественного мяса с оптимальным содержанием жира (11).

Традиционное кормление птицы строится на соблюдении оптимальных норм обмена энергии, аминокислот и других питательных веществ, важных для максимального раскрытия генетического потенциала. Тем не менее желание снизить затраты вынуждает производителей мяса и яиц искать альтернативные решения, которые позволяют использовать менее полноценные по составу корма без ущерба для продуктивности (12). Предполагается, что включение в рацион бетаина компенсирует недостаток питательных веществ и энергии в корме без снижения показателей продуктивности птицы.

Показано, что дополнение рационов цыплят-бройлеров бетаином способствует улучшению переваримости и использования питательных веществ, повышению выхода живой массы и качества мяса (13). Одним из аспектов влияния бетаина на организм птицы, вероятно, служит его способность воздействовать на экспрессию ключевых генов, регулирующих

иммунитет, пищеварение и метаболизм. Так, добавление бетаина в питьевую воду цыплят-бройлеров изменяло экспрессию мРНК аквапоринов (*AQP1-4* и *AQP 9*), связанных с транспортом воды, рецепторов глюкокортикоидов (*GR*), а также проопиомеланокортина (*POMC*), участвующего в регуляции стресса (14). Включение бетаина в рацион цыплят-бройлеров изменило в тканях печени экспрессию генов, связанных с липидным обменом (*PLIN1*, *ACACA*, *DGAT1*), углеводным обменом (*PKLR*, *PGAM1*) и иммунной системой (*IFITM3*, *MX1*, *ISG15*) (15). На сегодняшний день влияние бетаина на экспрессию ключевых генов у цыплят-бройлеров кросса Смена 9 не изучалось.

Ранее было установлено, что экспрессия генов иммунитета (*IL8*, *IRF7*, *PTGS2*, *AvBD1*, *AvBD2*, *AvBD9*, *AvBD10*, *Casp6*) и адаптационного потенциала (*CAT1*, *HSF1*, *HSF2*, *SOD*, *Gpx1*, *HO-1*) различается в зависимости от генотипа (линии CM5 и CM9) и пола у кур и петухов родительского поголовья мясного кросса Смена 9. В частности, у петухов линии CM5 экспрессия генов *HSF1* и *HSF2* была в среднем в 1,6 и 3,0 раза выше, чем у кур той же линии ( $p \leq 0,05$ ), а у петухов линии CM9 экспрессия генов *AvBD2*, *AvBD9*, *AvBD10*, *IL8* и *PTGS2* усиливалась по сравнению с петухами линии CM5 соответственно в 7,6; 5,3; 2,1; 6,3 и 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ) (16).

В настоящей работе впервые получены результаты, демонстрирующие влияние введения в рацион бетаина на экспрессию ключевых генов, связанных с иммунитетом, воспалительными процессами, барьерной функцией кишечника, антиоксидантной активностью и транспортом питательных веществ у цыплят-бройлеров кросса Смена 9 на фоне рационов с пониженным содержанием обменной энергии (на 5 %), лизина (на 10 %) и метионина (на 10 %).

Целью работы было изучение влияния различных дозировок бетаина (200–400 г/т корма) на экспрессию ряда генов в тканях слепых отростков кишечника у цыплят-бройлеров кросса Смена 9, а также оценка влияния бетаина на мясную продуктивность птицы, получавшей рацион с пониженным содержанием обменной энергии, лизина и метионина.

**Методика.** Исследование проводили на цыплятах-бройлерах (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 на базе ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП (г. Сергиев Посад) в 2025 году. Были сформированы четыре группы птицы ( $n = 36$  в каждой группе с равным разделением по полу): I группа (контрольная) получала основной рацион (ОР) с пониженным содержанием обменной энергии (на 5 %), лизина (на 10 %) и метионина (на 10 %) в соответствии с рекомендациями ВНИТИП (17); II группа — ОР с добавлением 200 г/т комбикорма бетаина в форме кристаллического порошка (содержание 95 % триметилглицина, «Taian Navay Chemicals Co., Ltd», Китай), III группа — ОР с добавлением 300 г/т бетаина, IV группа — ОР с добавлением 400 г/т бетаина. Пониженное содержание обменной энергии, лизина и метионина было смоделировано для имитации условий удешевления рациона, что нередко характерно для практики птицеводства. Бетаин вносили посредством тщательного смешивания с комбикормом вручную.

Для всех групп птицы, содержащихся в клеточных батареях («Big Dutchman AG», Германия), поддерживались стандартные условия (включая плотность посадки, освещение, температуру и влажность) в соответствии с рекомендациями, разработанными для кросса (18). Птицу кормили вволю с использованием рассыпных комбикормов. Цикл кормления был трехэтапным: первый этап (до 14-х сут жизни) — использование стартерного комбикорма Старт (СГЦ «Загорское ЭПХ», Россия); второй этап (15–21-е сут) — применение ростоформирующего комбикорма Рост (СГЦ «Загорское ЭПХ»,

Россия; третий этап (22-35-е сут) — завершающий с применением финишного комбикорма Финиш (СГЦ «Загорское ЭПХ», Россия). В состав комбикормов добавляли премиксы, обеспечивающие необходимое количество витаминов и микроэлементов.

В конце эксперимента птицу убивали посредством декапитации и отбирали ткани слепых отростков кишечника для анализа экспрессии генов. Ткани фиксировали (консервировали) с помощью раствора «RNAlater» («Invitrogen Corporation», подразделение корпорации «Thermo Fisher Scientific, Inc.», США) согласно протоколу производителя.

Экспрессию генов анализировали методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (qRT-PCR). Общую РНК выделяли из образцов тканей с использованием коммерческого набора Aurum™ Total RNA («Bio-Rad», США) в соответствии с протоколом производителя. РНК подвергали обратной транскрипции в комплементарную ДНК (кДНК) с помощью набора iScript™ Reverse Transcription Supermix («Bio-Rad», США). qRT-PCR выполняли с использованием набора SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix («Bio-Rad», США) на детектирующем амплификаторе DPlite 4S1 (НПК «ДНК-технология», Россия). Режим и условия амплификации: 5 мин при 95 °С; 30 с при 95 °С, 30 с при 60 °С, 30 с при 70 °С (40 циклов). Смесь для амплификации содержала 10 мкл SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix, 0,2 мкл прямого и 0,2 мкл обратного праймеров, 1 мкл кДНК и была доведена водой до общего объема.

Использовали праймеры для генов *IL6*, *IL8L2*, *PTGS2*, кодирующих провоспалительные цитокины (играют важную роль в развитии воспалительного ответа), *AvBD1*, *AvBD2*, *AvBD9*, *AvBD10*, *AvBD11*, кодирующих антимикробные пептиды (участвуют в защите слизистых оболочек от патогенов), *Casp6*, кодирующего каспазу-6 (вовлечен в процесс апоптоза клеток), *MUC2*, кодирующего синтез муцина (основной компонент слизи, защищающий слизистую оболочку кишечника), *SGLT2*, кодирующего натрий-глюкозный котранспортер 2 (участвует в транспорте глюкозы в кишечнике), *SOD1*, кодирующего супероксиддисмутазу 1 (антиоксидантный фермент, защищающий клетки от окислительного стресса):

Ген	Нуклеотидные последовательности праймеров (5'→3')
<i>SOD1</i> , супероксиддисмутаз 1	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA R: TGTTGTCTCCAAATTCATGCACATG
<i>AvBD1</i> , β-дефензин 1	F: CCGTTTCTGTCAACCGTCA R: CCTTTGCTAAAAATCCCTTC
<i>AvBD2</i> , β-дефензин 2	F: GCACTCCAGGTTTCTCCA R: GGCGTCCGACTTTGATTA
<i>AvBD9</i> , птичий бета-дефензин 9	F: AACACCGTCAGGCATCTTCACA R: CGTCTTCTGGCTGTAAGCTGGA
<i>AvBD10</i> , птичий бета-дефензин 9	F: GCTCTTCGCTGTTCTCCTCT R: CCAGAGATGGTGAAGGTG
<i>AvBD11</i> , птичий бета-дефензин 11	F: AGTCTGCAATTCGTTAGAGGCG R: GGATGTGGTTTCCAAGGGTTTA
<i>IL6</i> , интерлейкин 6	F: AGGACGAGATGTGCAAGAAGTTC R: TTGGGCAGGTTGAGGTTGTT
<i>IL8L2 (IL8)</i> , интерлейкин 8	F: GGAAGAGAGGTTGTGCTTGGA R: TAACATGAGGCACCGATGTG
<i>PTGS2</i> , простагландин-эндопероксидазы	F: TCGAGATCACACTTGATTGACA R: TTTGTGCCTGTGGGTCAG
<i>Casp6</i> , каспаза 6	F: CAGAGGAGACAAGTGCCAGA, R: CCAGGAGCCGTTTACAGTTT
<i>SGLT2</i> , натрий-глюкозного котранспортер 2-го типа	F: ACCAAGTACTGCAAGGCGAA R: TGAGGGTTCCTTCTGGCT
<i>MUC2</i> , муцин 2	F: CTGGCTCCTTGTGGCTCCTC R: AGCTGCATGACTGGAGACAACCTG

Относительную экспрессию генов рассчитывали с использованием метода  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (19). Уровень экспрессии генов в контрольных группах был принят за 1.

Одновременно с исследованием экспрессии генов фиксировали живую массу цыплят индивидуально, среднесуточный прирост живой массы, убойный выход и содержание абдоминального жира в тушах (20).

При проведении эксперимента руководствовались принципами гуманного обращения с животными согласно международным стандартам защиты лабораторных животных. Все процедуры выполняли в строгом соответствии с нормами Европейского сообщества относительно использования позвоночных животных в научных исследованиях, принятыми в рамках Конвенции Совета Европы ETS № 123 (21).

Математическую и статистическую обработку результатов осуществляли методом многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в программах Microsoft Excel XP/2003, R-Studio v. 1.1.453 (<https://rstudio.com>, США). Вычисляли средние значения ( $M$ ) и стандартные ошибки среднего ( $\pm$ SEM). Для сравнения двух контрольной и опытной групп применяли  $t$ -критерий Стьюдента. Средние значения сравнивали с использованием теста достоверно значимой разницы Тьюки (HSD) и функции TukeyHSD в пакете R Stats Package (США).

**Результаты.** Состав и питательная ценность каждого из этих комбикормов, использованных на разных этапах выращивания птицы, представлены в таблице 1. Содержание премиксов в составе кормов приведено в таблице 2.

**1. Состав (%) комбикормов, используемых при выращивании цыплят-бройлеров (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП, г. Сергиев Посад, 2025 год)**

Компонент	Старт (до 14-х сут)	Рост (15-21-е сут)	Финиш (22-35-е сут)
Пшеница	41,03	41,86	44,95
Соевый шрот	29,50	21,28	16,75
Кукуруза	15,00	15,00	15,00
Соя полножирная	5,00	10,00	10,00
Масло подсолнечное	3,02	3,82	4,53
Мука рыбная	2,50	1,50	—
Жмых подсолнечный	—	3,02	4,73
Монокальцийфосфат	1,44	1,12	1,28
Известняк (Са 36 %)	1,01	1,03	1,15
Премикс (0,5 %)	0,50	0,50	0,50
Соль	0,27	0,29	0,34
Лизин сульфат	0,25	0,22	0,35
DL-гидроксиметионин, содержащий 88 % ОН-метионина	0,30	0,24	0,24
Треонин	0,09	0,04	0,09
Холин хлорид (60 %)	0,08	0,08	0,08
Фекорд-Концентрат (ООО «Фермент», Россия)	0,01	—	0,01
Всего	100,0	100,0	100,0

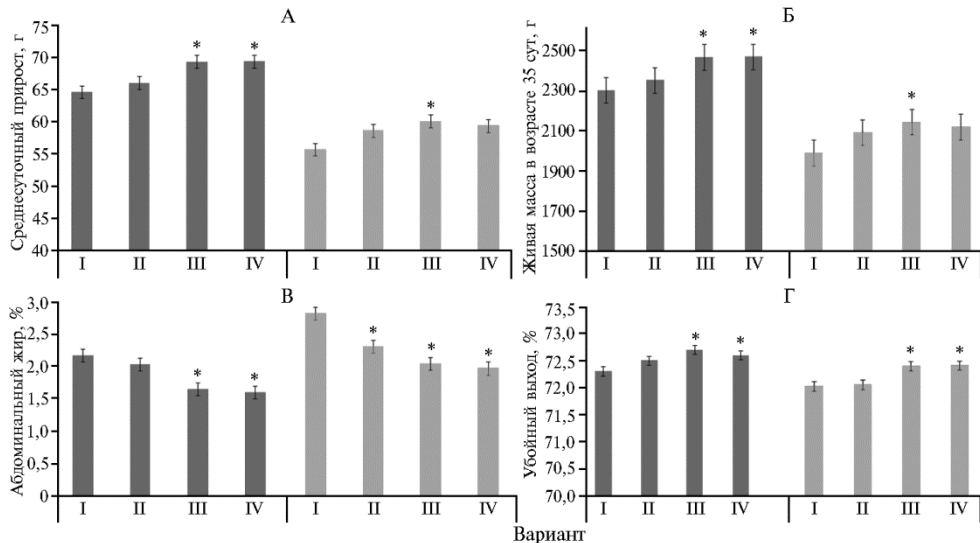
Примечание. Прочерки означают, что указанный компонент отсутствует в составе комбикорма.

**2. Содержание витаминов и микроэлементов в 1 кг комбикормов, используемых при выращивании цыплят-бройлеров (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП, г. Сергиев Посад, 2025 год)**

Компонент	Старт (до 14-х сут)	Рост (15-21-е сут)	Финиш (22-35-е сут)
Витамин А, тыс. МЕ/кг	12,00	10,00	10,00
Витамин Д3, тыс. МЕ/кг	3,50	3,00	3,00
Витамин Е, мг/кг	30,00	20,00	20,00
Витамин К3, мг/кг	2,00	1,00	1,00
Витамин В1, мг/кг	2,00	1,00	1,00
Витамин В2, мг/кг	8,00	6,00	6,00
Витамин В6, мг/кг	3,00	3,00	3,00
Витамин В12, мг/кг	0,025	0,025	0,025
Биотин, мг/кг	0,10	0,05	0,05
Холин, мг/кг	500,00	500,00	500,00
Фолиевая кислота, мг/кг	0,50	0,50	0,50
Никотиновая кислота, мг/кг	30,00	20,00	20,00

		Продолжение таблицы 2	
Пантотеновая кислота, мг/кг	10,00	10,00	10,00
Марганец, мг/кг	100	100	100
Цинк, мг/кг	70,00	70,00	70,00
Железо, мг/кг	25,00	25,00	25,00
Медь, мг/кг	3,50	3,50	3,50
Йод, мг/кг	0,70	0,70	0,70
Селен, мг/кг	0,300	0,300	0,300

При введении бетаина в различных дозировках в рацион цыплят-бройлеров кросса Смена 9 были отмечены некоторые изменения в зоотехнических показателях (рис. 1). Сохранность поголовья птицы во всех группах составила 100 %.



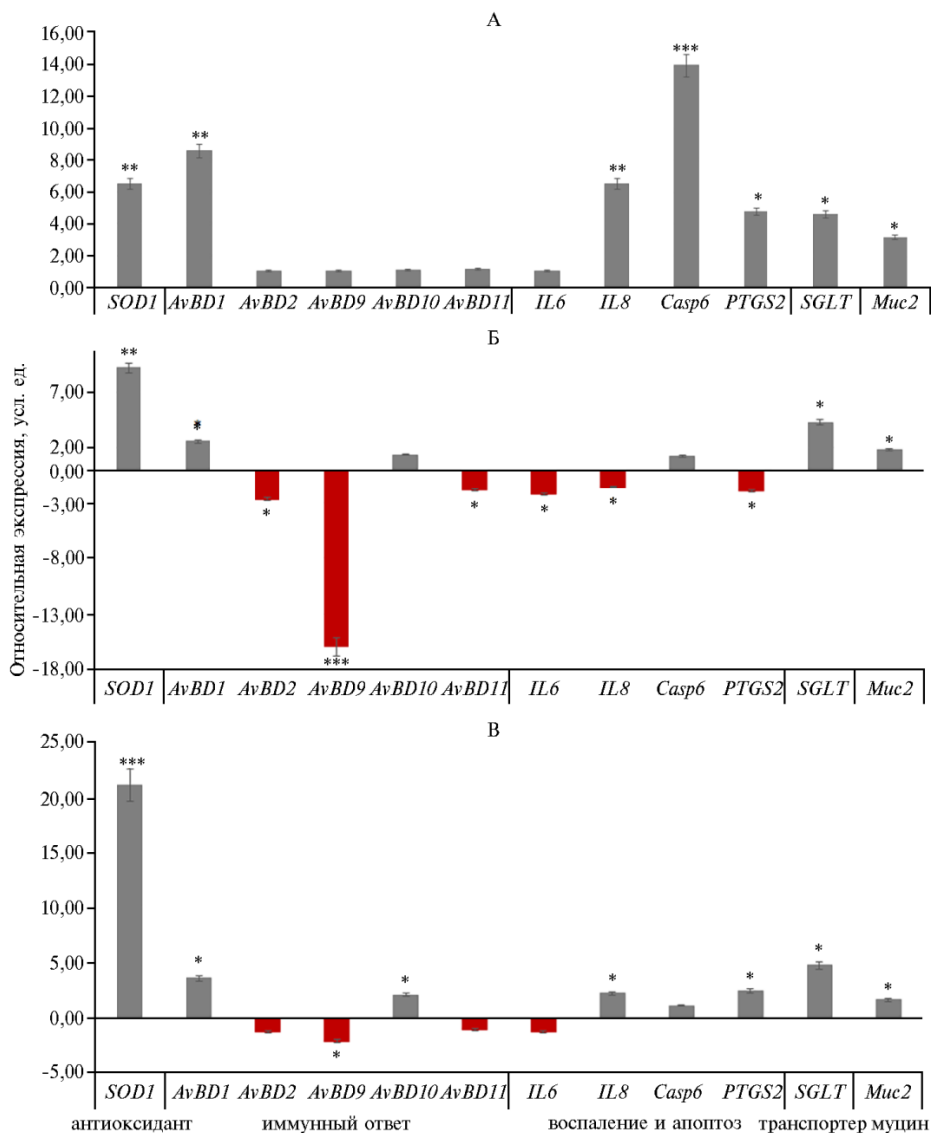
**Рис. 1.** Среднесуточные прирост живой массы (А); живая масса в возрасте 35 сут (Б); абдоминальный жир (В); убойный выход (Г) у петушков (слева) и курочек (справа) (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 в зависимости от включения в рацион добавки бетаина в разных дозах ( $n = 3$ ,  $M \pm SEM$ ; ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП, г. Сергиев Посад, 2025 год). Описание групп см. в разделе «Методика».

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

Так, добавление бетаина в дозировках 300 г/т (III опытная группа) и 400 г/т (IV опытная группа) привело к наибольшему (на 7,2-7,3 %) увеличению живой массы петушков в возрасте 35 сут относительно контроля ( $2300 \pm 28,9$  г) — соответственно до  $2465 \pm 16,33$  и  $2467 \pm 10,07$  г ( $p \leq 0,05$ ). У курочек наблюдалась аналогичная тенденция: максимальная живая масса в возрасте 35 сут была отмечена в III опытной группе ( $2141 \pm 11,97$  г) по сравнению с I контрольной группой ( $1987 \pm 24,48$  г) (увеличение на 7,8 %;  $p \leq 0,05$ ). Среднесуточный прирост живой массы демонстрировал сходную динамику при введении бетаина. Помимо этого, введение бетаина способствовало снижению отложения абдоминального жира как у петушков, так и у курочек ( $p \leq 0,05$ ). Например, у курочек отложения абдоминального жира снижались в 1,4 раза в III и IV опытных группах по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, введение бетаина в рацион цыплят-бройлеров в условиях дефицита обменной энергии и некоторых аминокислот может способствовать улучшению показателей мясной продуктивности. Тенденция к снижению количества абдоминального жира при повышении дозировки бетаина свидетельствует о его вероятном влиянии на метаболизм липидов. Это согласуется с данными о роли бетаина в метилировании и

осмопротекции (22). Ранее было показано, что добавление бетаина в рацион крыс с ожирением улучшило метаболизм метионина в печени, снизило содержание гомоцистеина и предотвращало накопление жира (23). Добавление бетаина в рацион серебряного карпа улучшало показатели роста и снижало отложение липидов (24). Аналогичные данные были получены на свиньях (25). Добавка бетаина уменьшала содержание жира в брюшной полости ягнят (26). Добавление бетаина в рацион гусей снижало потребление корма в период откорма, однако повышало усвояемость аминокислот и липолитическую активность (27).



**Рис. 2.** Экспрессия ключевых генов у курочек (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 в зависимости от включения в рацион добавки бетаина в разных дозах: А — II опытная группа, Б — III опытная группа, В — IV опытная группа. По оси абсцисс представлены изменения в экспрессии генов в опытных группах (II-IV) относительно контрольной группы I, где экспрессия генов условно принята за единицу (1). Снижение экспрессии генов в опытных группах по сравнению с контрольной характеризовалось отрицательными значениями, тогда как увеличение экспрессии — положительными значениями. Численные значения указывают на кратность отклонения экспрессии в опытных группах от экспрессии в контрольной группе. Описание групп см. в разделе «Методика».

\*, \*\* и \*\*\* Различия при сравнении II-IV групп с контролем статистически значимы соответ-

ственно при  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  и  $p \leq 0,001$  согласно  $t$ -критерию Стьюдента.

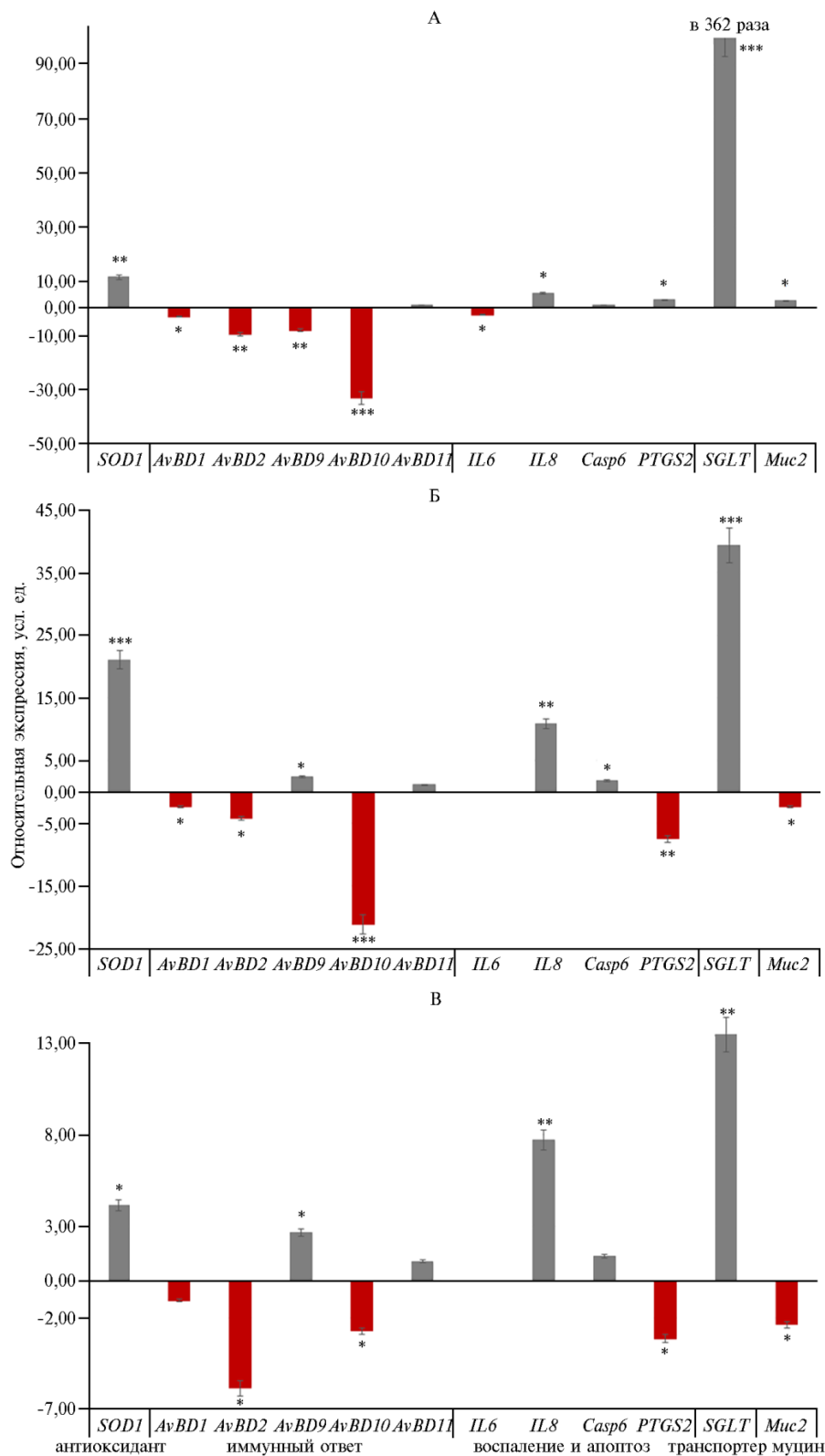


Рис. 3. Экспрессия ключевых генов у петушков (*Gallus gallus*) кросса Смена 9 в зависимости от включения в рацион добавки бетаина в разных дозах: А — II опытная группа, Б — III опытная

группа, В — IV опытная группа. По оси абсцисс представлены изменения в экспрессии генов в опытных группах (II-IV) относительно контрольной группы I, где экспрессия генов условно принята за единицу (1). Снижение экспрессии генов в опытных группах по сравнению с контрольной характеризовалось отрицательными значениями, тогда как увеличение экспрессии — положительными значениями. Численные значения указывают на кратность отклонения экспрессии в опытных группах от экспрессии в контрольной группе. Описание групп см. в разделе «Методика».

\*, \*\* и \*\*\* Различия при сравнении II-IV групп с контролем статистически значимы соответственно при  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  и  $p \leq 0,001$  согласно *t*-критерию Стьюдента..

Одновременно с изучением зоотехнических показателей была проведена оценка экспрессии генов в образцах тканей кишечника. Данные количественной ПЦР с обратной транскрипцией (рис. 2 и 3) показали значительную вариацию экспрессии генов в зависимости от дозировки бетаина и пола цыплят-бройлеров.

У курочек экспрессия гена *SOD1*, кодирующего супероксиддисмутазу 1 — ключевой антиоксидантный фермент (28) увеличилась при введении 200 г/т бетаина (II группа) в 6,5 раза, 300 г/т бетаина (III группа) — в 9,2 раза ( $p \leq 0,01$ ), 400 г/т бетаина (IV группа) — в 21,1 раза ( $p \leq 0,001$ ) по сравнению с контролем (I группа). У петушков наблюдалось аналогичное увеличение в 11,3 и 21,1 раза для II и III групп ( $p \leq 0,01$ ), то есть происходило заметное улучшение антиоксидантной защиты под влиянием добавки, что было показано в других исследованиях (29). Ранее M. Shakeri с соавт. (30) обнаружили, что добавление бетаина может снизить окислительный стресс у цыплят-бройлеров при повышенных температурах окружающей среды за счет увеличения активности антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза (GSH Px). R. Chen с соавт. (31) установили, что добавление бетаина не только улучшило показатели роста бройлеров, но и предотвратило ухудшение качества мяса при стрессе от транспортировки за счет изменения анаэробного гликолиза в мышцах и антиоксидантной активности.

Интересно, что в экспрессии генов, связанных с синтезом антимикробных пептидов (группа *AvBD*), наблюдались выраженные половые различия ( $p \leq 0,05$ ). Так, у курочек экспрессия *AvBD1* в ответ на введение в комбикорм 200 г/т бетаина достигала 8,6-кратного увеличения ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о более эффективной антимикробной защите слизистой желудочно-кишечного тракта (32). Однако при добавлении 300 г/т бетаина наблюдалось снижение количества мРНК *AvBD2* и *AvBD9* (соответственно в 2,6 и 16 раз,  $p \leq 0,05$ ). Это указывает на иммунную регуляцию в ответ на избыточное количество бетаина (33). У петушков также были отмечены аналогичные изменения, особенно выраженные для *AvBD2*. Относительное количество мРНК этого гена снизилось на 9,9 раза во II опытной группе ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с I группой. Вероятно, большие дозы бетаина вызывают регуляторные реакции в антимикробной системе, что, в свою очередь, оказывает влияние на защитные функции организма птицы (6).

У курочек экспрессия провоспалительных генов *IL6*, *IL8* и *PTGS2* (циклооксигеназа-2) снижалась в III группе в 1,57-2,22 раза ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с контролем. Ослабление экспрессии провоспалительных цитокинов и *PTGS2* может свидетельствовать о потенциальном противовоспалительном действии бетаина. Известно, что *PTGS2* играет ключевую роль в синтезе простагландинов — медиаторов воспаления (34). Воспаление — это один из существенных факторов, способствующих развитию стресса у птицы (35). Поэтому снижение экспрессии *PTGS2* приводит к повышению

устойчивости к стрессу, улучшению общего физиологического состояния и росту продуктивности. Экспрессия гена *Casp6*, напротив, значительно увеличивалась у курочек при скормливании 200 г/т бетаина (в 13,9 раза по сравнению с контролем;  $p \leq 0,01$ ).

Ген *Casp6* кодирует каспазу-6 — ключевой фермент в каскаде апоптоза (36). Индукция его экспрессии приводит к удалению поврежденных или дисфункциональных клеток, что, в конечном итоге, способствует поддержанию клеточного гомеостаза и предотвращению развития патологических состояний (37). У петушков из III группы экспрессия гена *IL8* увеличилось в 10,9 раза и отмечалось снижение экспрессии гена *PTGS2* в 7,5 раза ( $p \leq 0,01$ ). Эти изменения подчеркивают различную модулирующую роль бетаина в регуляции экспрессии генов, связанных с воспалением и апоптозом, у птиц разных полов. Они могут быть связаны с половыми различиями в метаболизме, гормональном статусе и иммунной регуляции (38).

Очень интересные результаты были получены при оценке экспрессии генов, связанных с транспортом глюкозы. У петушков экспрессия *SGLT2* возросла в 362 раза во II группе ( $p \leq 0,001$ ) и достигала увеличения в 39,4 и 13,5 раза соответственно в III и IV группах по сравнению с I группой ( $p \leq 0,01$ ). *SGLT2* — белок-транспортёр, присутствующий в эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника птицы (39). Основная функция *SGLT2* — осуществлять вторично активный транспорт глюкозы из просвета кишечника в клетки, используя электрохимический градиент ионов натрия (40). Поэтому активация экспрессии мРНК гена *SGLT2* указывает на улучшение всасывания глюкозы. Уменьшение количества мРНК гена *SGLT2* при повышении концентрации бетаина могло означать, что бетаин имеет оптимальные концентрации для проявления эффекта и дальнейшее увеличение дозы подавляет метаболические процессы, необходимые для экспрессии *SGLT2*. Аналогичные, но значительно менее выраженные изменения наблюдались и у курочек: в опытных группах экспрессия *SGLT2* возросла в 4,3-4,8 раза ( $p \leq 0,05$ ).

Экспрессия гена *MUC2* у курочек умеренно увеличивалась (в 3,2 раза) во II группе по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ), что может благоприятно сказаться на состоянии слизистой оболочки кишечника. У петушков также наблюдалось повышение лишь при 200 г/т бетаина в корме (в 2,6 раза по сравнению с контролем;  $p \leq 0,05$ ).

*MUC2* (муцин 2) кодирует основной гель-образующий белок муцин, который служит ключевым компонентом слизистого слоя, выстилающего поверхность кишечника (41). Слизистый слой выполняет множество важных функций, включая физическую защиту эпителиальных клеток от воздействия патогенных микроорганизмов, токсинов, механического повреждения и агрессивных факторов пищеварения (42). Он служит средой для адгезии комменсальных бактерий, которые влияют на иммунную функцию, пищеварение и общее здоровье особи (43). Индукция экспрессии *MUC2* может способствовать снижению проницаемости кишечника для патогенов и токсинов, уменьшению воспаления, усилению всасывания питательных веществ и устойчивости к заболеваниям, улучшению общего здоровья пищеварительной системы и организма в целом (44).

Значительные различия в экспрессии генов между курочками и петушками могут быть обусловлены рядом факторов, например гормональным статусом (45). Тестостерон (доминирующий гормон у самцов) снижает чувствительность к воспалительным процессам (46). Самцы и самки различаются по строению внутренних органов, особенностям метаболизма

и гормональному профилю (47). У самцов более развит мышечный аппарат и костяк, требующие большего количества энергии и питательных веществ (48). При этом самцы более подвижны и тратят больше энергии на движения и территориальное поведение, что также увеличивает их потребность в питательных веществах (49). Как следствие, реакция организма петушков на добавление бетаина в корм может отличаться от таковой у курочек. Гены, связанные прежде всего с иммунитетом и распределением питательных веществ, тоже могут проявлять различную экспрессию в зависимости от пола птицы.

Таким образом, введение бетаина в рацион цыплят-бройлеров кросса Смена 9, получающих корм с пониженным содержанием обменной энергии (на 5 %), лизина (на 10 %) и метионина (на 10 %), вызывает каскад взаимосвязанных эффектов, приводящих к улучшениям в зоотехнических показателях и модуляции экспрессии ряда ключевых генов в тканях слепых отростков кишечника. Наиболее значительное увеличение живой массы на 7,2 и 7,3 % ( $p \leq 0,05$ ) наблюдалось при повышенных дозировках бетаина (300 и 400 г/т). При этом было выявлено существенное снижение отложения абдоминального жира ( $p \leq 0,05$ ), что указывает на положительное влияние бетаина на липидный метаболизм. На молекулярно-клеточном уровне бетаин вызывал дифференцированную реакцию, характеризующуюся повышением экспрессии *SOD1* — ключевого гена антиоксидантной защиты. Особо стоит отметить впервые выявленные половые различия в модуляции экспрессии генов иммунной системы под воздействием бетаина. У курочек наблюдалось более чем 8-кратное увеличение экспрессии гена *AvBD1* при дозе бетаина 200 г/т ( $p \leq 0,01$ ), что указывает на укрепление защитных свойств слизистой оболочки кишечника. Однако при более высоких дозах отмечалось снижение экспрессии других генов семейства *AvBD* ( $p \leq 0,05$ ). Одновременное уменьшение количества мРНК провоспалительных генов *IL6*, *IL8* и *PTGS2* предполагает, что бетаин обладает противовоспалительными свойствами и может способствовать снижению воспалительных реакций в тканях, в особенности у курочек. Кроме того, усиление барьерной функции кишечника, обусловленное повышенной экспрессией *MUC2*, вероятно, позволяет улучшать усвояемость аминокислот и других ценных веществ, что способствует поддержанию продуктивности в условиях недостатка питательных веществ и энергии. Особое внимание заслуживает изменение экспрессии гена *SGLT2* (натрий-глюкозный транспортер второго типа), который ответственен за поглощение глюкозы в кишечнике. У петушков в группе с дозировкой бетаина 200 г/т произошел резкий скачок экспрессии *SGLT2* — в 362 раза ( $p \leq 0,001$ ), а при увеличении дозировки до 300 и 400 г/т — соответственно в 39,4 и 13,5 раза ( $p \leq 0,01$ ), что отражает возможное повышение эффективности транспорта глюкозы и энергетического обеспечения организма. В целом, полученные данные демонстрируют преимущества добавления бетаина в рацион цыплят-бройлеров. Представляют интерес выявленные половые и дозозависимые различия в ответе на бетаин. Настоящая работа впервые демонстрирует сложный, дифференцированный эффект бетаина на экспрессию генов, связанных с иммунитетом, воспалением и метаболизмом глюкозы, в зависимости от пола и дозировки. Половые и дозозависимые различия в ответе на бетаин подчеркивают необходимость индивидуального подхода к применению и дозировкам этой кормовой добавки в рационах сельскохозяйственной птицы. На следующем этапе исследования мы планируем провести секвенированием полного транскриптома (РНК-секвенирование) с целью выявления глобального профиля

экспрессии генов в различных органах и тканях птицы в ответ на введение бетаина. Это позволит определить дополнительные сигнальные пути и механизмы, вовлеченные в адаптивную реакцию организма цыплят-бройлеров на дефицит питательных веществ и энергии, выявить новые РНК-маркеры действия бетаина, а также подтвердить существующие гипотезы относительно половой специфичности уровней экспрессии ключевых генов.

<sup>1</sup>ООО «БИОТРОФ+»,

192284 Россия, г. Санкт-Петербург, Загребский б-р, 19, корп. 1,  
e-mail: ilina@biotrof.ru, laptev@biotrof.ru,  
tiurina@biotrof.ru, dfcx@biotrof.ru, kate@biotrof.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский

государственный аграрный университет,

196601 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин,  
Петербургское ш., 2,  
e-mail: deniz@biotrof.ru ✉, filippova@biotrof.ru, ksenya.k.a@biotrof.ru;

<sup>3</sup>ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский  
и технологический институт птицеводства РАН,

141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад,  
ул. Птицеградская, 10,  
e-mail: olga@vnitip.ru, eta164@yandex.ru, manukyan@vnitip.ru,  
dissovet@vnitip.ru, fncvntip@mail.ru, tishenkova.m@yandex.ru,  
mixalysha@mail.ru, lev-lud2@live.ru, viktoriiia\_pashchenko@mail.ru

Поступила в редакцию

26 сентября 2025 года

Принята к публикации

3 ноября 2025 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2025, V. 60, № 6, pp. 1097–1112

## CHANGES OF GENE EXPRESSION IN MALE AND FEMALE SMENA 9 BROILER CHICKENS (*Gallus gallus*) FED DIETARY BETAINE

E.A. Yildirim<sup>1, 2</sup> ✉, L.A. Ilyina<sup>1, 2</sup>, G.Yu. Laptev<sup>1</sup>, V.A. Filippova<sup>1, 2</sup>, D.G. Tyurina<sup>1</sup>,  
K.A. Sokolova<sup>1, 2</sup>, V.A. Zaikin<sup>1</sup>, E.S. Ponomareva<sup>1</sup>, V.I. Fisinin<sup>3</sup>, I.A. Egorov<sup>3</sup>,  
T.A. Egorova<sup>3</sup>, V.A. Manukyan<sup>3</sup>, T.N. Lenkova<sup>3</sup>, O.N. Degtyareva<sup>3</sup>, M.S. Tishenkova<sup>3</sup>,  
E.S. Demidova<sup>3</sup>, L.M. Kashporov<sup>3</sup>, V.E. Pashchenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>JSC Biotrof+, 19, corp. 1, Zagrebksii bulv., St. Petersburg, 192284 Russia, e-mail ilina@biotrof.ru, laptev@biotrof.ru, tiurina@biotrof.ru, dfcx@biotrof.ru, kate@biotrof.ru;

<sup>2</sup>Saint Petersburg State Agrarian University, 2, Sankt-Peterburgskoe sh., St. Petersburg, 196601 Russia, e-mail deniz@biotrof.ru (✉ corresponding author), filippova@biotrof.ru, ksenya.k.a@biotrof.ru

<sup>3</sup>Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail olga@vnitip.ru, eta164@yandex.ru, manukyan@vnitip.ru, dissovet@vnitip.ru, fncvntip@mail.ru, tishenkova.m@yandex.ru, mixalysha@mail.ru, lev-lud2@live.ru, viktoriiia\_pashchenko@mail.ru

ORCID:

Yildirim E.A. [orcid.org/0000-0002-5846-5105](https://orcid.org/0000-0002-5846-5105)

Ilyina L.A. [orcid.org/0000-0003-2789-4844](https://orcid.org/0000-0003-2789-4844)

Laptev G.Yu. [orcid.org/0000-0002-8795-6659](https://orcid.org/0000-0002-8795-6659)

Filippova V.A. [orcid.org/0000-0001-8789-9837](https://orcid.org/0000-0001-8789-9837)

Tyurina D.G. [orcid.org/0000-0001-9001-2432](https://orcid.org/0000-0001-9001-2432)

Sokolova K.A. [orcid.org/0000-0002-9541-6839](https://orcid.org/0000-0002-9541-6839)

Zaikin V.A. [orcid.org/0009-0006-8029-9955](https://orcid.org/0009-0006-8029-9955)

Ponomareva E.S. [orcid.org/0000-0002-4336-8273](https://orcid.org/0000-0002-4336-8273)

Fisinin V.I. [orcid.org/0000-0003-0081-6336](https://orcid.org/0000-0003-0081-6336)

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by the Russian Science Foundation, grant No. 22-66-00061, <https://rscf.ru/project/22-66-00061/>.

Final revision received September 26, 2025

Accepted November 03, 2025

doi: 10.15389/agrobiol.2025.6.1097eng

### Abstract

Optimizing poultry diets remains a pressing issue in modern poultry farming, given the desire to increase production profitability while minimizing the cost of expensive diet components. This study provides the first results demonstrating the effect of betaine supplementation on the expression of key genes associated with immunity, inflammation, intestinal barrier function, antioxidant activity, and nutrient transport in Smena 9 broiler chickens fed diets with reduced metabolizable energy (by 5%), lysine (by 10 %), and methionine (by 10 %). The work aimed at studying effects of 200–400 g/t betaine on the expression of a number of genes in the caecum tissues in Smena 9 cross broiler chickens/ In addition, we aimed to assess its effect on the meat productivity of poultry fed a diet with a reduced

content of metabolizable energy, lysine and methionine. The study was conducted on broiler chickens (*Gallus gallus*) of the Smena 9 cross (Zagorskoye EPH, the All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, Sergiev Posad, 2025). Four groups of birds were formed ( $n = 36$  each), equal in males and females. Group I (control) received the basic diet (BD) with a reduced content of metabolizable energy (by 5 %) and lysine (by 10 %) and 200 g/t of betaine crystalline powder containing 95 % trimethylglycine (Taian Havay Chemicals Co., Ltd, China). OR in group III was added with 300 g/t of betaine, in group IV with 400 g/t of betaine. Betaine was added by thoroughly mixing it with the compound feed manually. Feeding was ad libitum using crumbled compound feed. The feeding cycle was three-stage, the first stage (up to 14 days of life) with the starter compound feed Start (SGC Zagorskoye EPH, Russia); the second stage (15-21 days) with growth-forming compound feed Rost (SGC Zagorskoye EPH, Russia), and the third stage (22-35 days) with the finishing compound feed Finish (SGC Zagorskoye EPH, Russia). At the end of the experiment, the birds were decapitated and the caeca tissues were collected for gene expression analysis. Gene expression analysis was performed by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Total RNA was isolated from tissue samples using the commercial Aurum™ Total RNA kit (Bio-Rad, USA) according to the manufacturer's protocol. qRT-PCR was performed (a DTLite 4S1 detection amplifier, NPK DNA-technology, Russia) using the SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix kit (Bio-Rad, USA). Primers were used to the genes *IL6*, *IL8L2*, *PTGS2*, encoding proinflammatory cytokines, *AvBD1*, *AvBD2*, *AvBD9*, *AvBD10*, *AvBD11*, encoding antimicrobial peptides, *Casps6*, encoding caspase-6, *MUC2*, encoding mucin synthesis, *SGLT2*, encoding sodium-glucose cotransporter 2, *SOD1*, encoding superoxide dismutase 1. Relative gene expression was calculated by the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. The chickens' body-weight, average daily live weight gain, slaughter yield and abdominal fat content in carcasses were assessed individually. The most significant increase in the live weight of cockerels (by 7.2 and 7.3 %,  $p \leq 0.05$ ) was observed at higher doses betaine (300 and 400 g/t), demonstrating the previously known properties of betaine in improving the productivity of Smena 9 broiler chickens. We also revealed a significant decrease in abdominal fat deposition ( $p \leq 0.05$ ). Betaine caused a differentiated response characterized by an increase in the expression of the *SOD1* gene, a key gene for antioxidant defense. The effect of betaine on the expression of many immune genes depended on the sex of the bird. Thus, in hens, there was a more than 8-fold increase in the expression of the *AvBD1* gene for 200 g/t betaine ( $p \leq 0.01$ ). At higher doses, the expression of other genes of the *AvBD* family decreased ( $p \leq 0.05$ ). A decrease in the mRNA level of proinflammatory genes *IL6*, *IL8*, and *PTGS2* ( $p \leq 0.05$ ) occurred. The *Casp6* mRNA level increased in hens fed 200 g/t betaine by 13.9 times compared to the control ( $p \leq 0.01$ ). In cockerels of the group fed 200 g/t betaine, there was a sharp jump in the expression of *SGLT2* (sodium-glucose transporter type 2) by 362 times ( $p \leq 0.001$ ), with an increase by 39.4 and 13.5 times for 300 and 400 g/t, respectively ( $p \leq 0.01$ ). Thus, when metabolizable energy, lysine and methionine in feeds are reduced, the dietary betaine has a positive effect on the production indicators of Smena 9 cross broiler chickens. The results obtained demonstrate complex and sex- and dosage-dependent effects of betaine on the immune system of the birds, as well as its potential role in modulating inflammatory processes and improving glucose metabolism through the regulation of gene expression.

Keywords: betaine, gene expression, meat productivity, broiler chickens, immunity, inflammation, diet.

## REFERENCES

1. Papunidi E.K., Karimova A.Z., Potapova A.V., Smolentsev S.Yu. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Sel'skokhozyaystvennie nauki. Ekonomicheskie nauki»*, 2019, 5(2): 191-196 (doi: 10.30914/2411-9687-2019-5-2-191-196) (in Russ.).
2. Aleksandrov Yu.A. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Sel'skokhozyaystvennie nauki. Ekonomicheskie nauki»*, 2015: 4(4): 5-11 (in Russ.).
3. Elsherbeni A.I., Aldhalmi A.K., Youssef I.M., Kamal M., Ashour E.A., Moustafa M., Al-Kahtani M.A., Al-Shehri M., Abd El-Hack M.E. The role of trimethylglycine (betaine) as an anti-heat stress agent in sustainable poultry production: enhancing growth, stress resilience, and nutrient utilization. *Journal of Thermal Biology*, 2025, 130: 104152 (doi: 10.1016/j.jtherbio.2025.104152).
4. Arumugam M.K., Paal M.C., Donohue T.M. Jr., Ganesan M., Osna N.A., Kharbanda K.K. Beneficial effects of betaine: a comprehensive review. *Biology*, 2021, 10(6): 456 (doi: 10.3390/biology10060456).
5. Wang H., Liu L., He X., Bian G. Effect of betaine on growth performance, methionine metabolism, and methyl transfer in broilers aged 1 to 21 days and fed a low-methionine diet. *The Journal of Poultry Science*, 2025, 62: 2025010 (doi: 10.2141/jpsa.2025010).
6. Buonaiuto G., Federiconi A., Vecchiato C.G., Benini E., Mordenti A.L. Betaine dietary supplementation: healthy aspects in human and animal nutrition. *Antioxidants*, 2025, 14(7): 771 (doi: 10.3390/antiox14070771).
7. Li H., Zeng Y., Wang G., Zhang K., Gong W., Li Z., Tian J., Xia Y., Xie W., Xie J., Xie S.,

- Yu E. Betaine improves appetite regulation and glucose-lipid metabolism in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) fed a high-carbohydrate-diet by regulating the AMPK/mTOR signaling. *Heliyon*, 2024, 10(7): e28423 (doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e28423).
8. Dobrijević D., Pastor K., Nastić N., Özogul F., Krulj J., Kokić B., Bartkiene E., Rocha J.M., Kojić J. Betaine as a functional ingredient: metabolism, health-promoting attributes, food sources, applications and analysis methods. *Molecules*, 2023, 28(12): 4824 (doi: 10.3390/molecules28124824).
  9. Perumal S.K., Arumugam M.K., Osna N.A., Rasineni K., Kharbanda K.K. Betaine regulates the gut-liver axis: a therapeutic approach for chronic liver diseases. *Frontiers in Nutrition*, 2025, 12: 1478542 (doi: 10.3389/fnut.2025.1478542).
  10. Azman M., Sabri A.H., Anjani Q.K., Mustaffa M.F., Hamid K.A. Intestinal absorption study: challenges and absorption enhancement strategies in improving oral drug delivery. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(8): 975 (doi: 10.3390/ph15080975).
  11. Du J., Shen L., Tan Z., Zhang P., Zhao X., Xu Y., Gan M., Yang Q., Ma J., Jiang A., Tang G., Jiang Y., Jin L., Li M., Bai L., Li X., Wang J., Zhang S., Zhu L. Betaine supplementation enhances lipid metabolism and improves insulin resistance in mice fed a high-fat diet. *Nutrients*, 2018, 10(2): 131 (doi: 10.3390/nu10020131).
  12. Vlasov E.A., Sizova E.A., Nechitailo K.S., Ryazantseva K.V., Kamirova A.M., Ivanisheva A.P., Shoshin D.E., Musabaeva L.L., Mustafina A.S. Physical and biological methods to improve feed nutrition value (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2024, 59(3): 411-430 (doi: 10.15389/agrobiology.2024.3.411rus).
  13. Park J.H., Kim I.H. The effects of betaine supplementation in diets containing different levels of crude protein and methionine on the growth performance, blood components, total tract nutrient digestibility, excreta noxious gas emission, and meat quality of the broiler chickens. *Poultry Science*, 2019, 98(12): 6808-6815 (doi: 10.3382/ps/pez412).
  14. Al-Sagan A.A., Al-Abdullatif A., Hussein E.O.S., Saadeldin I.M., Al-Mufarrej S.I., Qaid M., Albaadani H.H., Swelum A.A.-A., Alhotan R. Effects of betaine supplementation on live performance, selected blood parameters, and expression of water channel and stress-related mRNA transcripts of delayed placement broiler chicks. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 7: 632101 (doi: 10.3389/fvets.2020.632101).
  15. Kim D.Y., Han G.P., Lim C., Kim J.M., Kil D.Y. Effect of dietary betaine supplementation on the liver transcriptome profile in broiler chickens under heat stress conditions. *Animal Bioscience*, 2023, 36(11): 1632-1646 (doi: 10.5713/ab.23.0228).
  16. Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilyina L.A., Filippova V.A., Kalitkina K.A., Ponomareva E.S., Dubrovin A.V., Tyurina D.G., Fisinin V.I., Egorov I.A., Egorova T.A., Manukyan V.A., Lenkova T.N. Expression of genes of immune response and adaptation and cecal microbiome composition in males and females of chickens (*Gallus gallus* L.) in CM5 and CM9 preparatory lines of Smena 9 cross. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2023, 58(2): 313-332 (doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.313rus).
  17. Egorov I.A., Manukyan V.A., Lenkova T.N., Okolelova T.M., Lukashenko V.S., Shevyakov A.N., Ignatova G.V., Egorova T.V., Andrianova E.N., Rozanov B.L., Lisenko M.A., Egorova T.A., Grozina A.A., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Aleksandrova I.L., Il'ina L.A., Novikova N.I. *Metodika provedeniya nauchnikh i proizvodstvennikh issledovaniy po kormleniyu sel'skokhozyaystvennoy ptitsi. Molekulyarno-geneticheskie metody opredeleniya mikroflori kishchechnika* /Pod redaktsiyey V.I. Fisinina [Methodology for conducting scientific and industrial research on feeding poultry. Molecular genetic methods for determining intestinal microflora. V.I. Fisinin (ed.)]. Sergiev Posad, 2013 (in Russ.).
  18. Efimov D.N., Egorova A.V., Emanuylova Zh.V., Ivanov A.V., Konopleva A.P., Zotov A.A., Lukashenko V.S., Komarov A.A., Egorov I.A., Egorova T.A., Baykovskaya E.Yu., Manukyan V.A., Saleeva I.P., Kavtarashvili A.Sh., Smolov S.V. *Rukovodstvo po rabote s ptitsy myasnogo krossa Smena 9 s avtoseksnoy materinskoy formoy* /Pod redaktsiyey V.I. Fisinina [Guide to working with meat-cross poultry Shift 9 with autosex maternal form. V.I. Fisinin (ed.)]. Sergiev Posad, 2021 (in Russ.).
  19. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408 (doi: 10.1006/meth.2001.1262).
  20. Yakovenko A.M., Antonenko T.I., Selionova M.I. *Biometricheskie metody analiza kachestvennikh i kolichestvennikh priznakov v zootekhonii* [Biometric methods for analyzing qualitative and quantitative traits in animal science]. Stavropol', 2013 (in Russ.).
  21. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. Strasbourg, 18.III.1986*. Available: <https://rm.coe.int/168007a67b>. Accessed: 05/20/2025.
  22. Hu H., Tan L., Li X., Li J., Fan C., Huang F., Zhuo Z., Hou K., Xu Y., Wang Q., Yang Y., Cheng J. Betaine reduces lipid anabolism and promotes lipid transport in mice fed a high-fat diet by influencing intestinal protein expression. *Foods*, 2022, 11(16): 2421 (doi: 10.3390/foods11162421).

23. Cordero P., Milagro F.I., Campion J., Martinez J.A. Supplementation with methyl donors during lactation to high-fat-sucrose-fed dams protects offspring against liver fat accumulation when consuming an obesogenic diet. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 2014, 5(5): 385-395 (doi: 10.1017/S204017441400035X).
24. Dong X., Xue W., Hua J., Hang Y., Sun L., Miao S., Wei W., Wu X., Du X. Effects of dietary betaine in allogynogenetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): enhanced growth, reduced lipid deposition and depressed lipogenic gene expression. *Aquaculture Research*, 2018, 49(5): 1967-1972 (doi: 10.1111/are.13652).
25. Zhong Y., Yan Z., Song B., Zheng C., Duan Y., Kong X., Deng J., Li F. Dietary supplementation with betaine or glycine improves the carcass trait, meat quality and lipid metabolism of finishing mini-pigs. *Animal Nutrition*, 2021, 7(2): 376-383 (doi: 10.1016/j.aninu.2020.08.010).
26. Dong L., Jin Y., Cui H., Yu L., Luo Y., Wang S., Wang H. Effects of diet supplementation with rumen-protected betaine on carcass characteristics and fat deposition in growing lambs. *Meat Science*, 2020, 166: 108154 (doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108154).
27. Yang Z., Asare E., Yang Y., Yang J.J., Yang H.M., Wang Z.Y. Dietary supplementation of betaine promotes lipolysis by regulating fatty acid metabolism in geese. *Poultry Science*, 2021, 100(11): 101460 (doi: 10.1016/j.psj.2021.101460).
28. Zheng M., Liu Y., Zhang G., Yang Z., Xu W., Chen Q. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1675 (doi: 10.3390/antiox12091675).
29. Luo D., Wang X., Cao S., Ba L., Chen J. Recent advances in betaine: extraction, identification, and bioactive functions in human health. *Food Science & Nutrition*, 2025, 13(4): e70173 (doi: 10.1002/fsn3.70173).
30. Shakeri M., Cottrell J.J., Wilkinson S., Ringuet M., Furness J.B., Dunshea F.R. Betaine and antioxidants improve growth performance, breast muscle development and ameliorate thermoregulatory responses to cyclic heat exposure in broiler chickens. *Animals*, 2018, 8(10): 162 (doi: 10.3390/ani8100162).
31. Chen R., Wen C., Gu Y., Wang C., Chen Y., Zhuang S., Zhou Y. Dietary betaine supplementation improves meat quality of transported broilers through altering muscle anaerobic glycolysis and antioxidant capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(6): 2656-2663 (doi: 10.1002/jsfa.10296).
32. Terada T., Nii T., Isobe N., Yoshimura Y. Effects of toll-like receptor ligands on the expression of proinflammatory cytokines and avian  $\beta$ -defensins in cultured chick intestine. *Journal of Poultry Science*, 2020, 57(3): 210-222 (doi: 10.2141/jpsa.0190086).
33. Akbari M.R., Haghghi H.R., Chambers J.R., Brisbin J., Read L.R., Sharif S. Expression of antimicrobial peptides in cecal tonsils of chickens treated with probiotics and infected with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008, 15(11): 1689-1693 (doi: 10.1128/CVI.00242-08).
34. Martín-Vázquez E., Cobo-Vuilleumier N., López-Noriega L., Lorenzo P.I., Gauthier B.R. The PTGS2/COX2-PGE2 signaling cascade in inflammation: pro or anti? A case study with type 1 diabetes mellitus. *International Journal of Biological Sciences*, 2023, 19(13): 4157-4165 (doi: 10.7150/ijbs.86492).
35. Abo-Al-Ela H.G., El-Kassas S., El-Naggar K., Abdo S.E., Jahejo A.R., Al Wakeel R.A. Stress and immunity in poultry: light management and nanotechnology as effective immune enhancers to fight stress. *Cell Stress & Chaperones*, 2021, 26(3): 457-472 (doi: 10.1007/s12192-021-01204-6).
36. Dagbay K.B., Hill M.E., Barrett E., Hardy J.A. Tumor-associated mutations in caspase-6 negatively impact catalytic efficiency. *Biochemistry*, 2017, 56(34): 4568-4577 (doi: 10.1021/acs.biochem.7b00357).
37. Dho S.H., Cho M., Woo W., Jeong S., Kim L.K. Caspases as master regulators of programmed cell death: apoptosis, pyroptosis and beyond. *Experimental & Molecular Medicine*, 2025, 57(6): 1121-1132 (doi: 10.1038/s12276-025-01470-9).
38. Sciarra F., Campolo F., Franceschini E., Carlomagno F., Venneri M.A. Gender-specific impact of sex hormones on the immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(7): 6302 (doi: 10.3390/ijms24076302).
39. Hussar P., Popovska-Percinic F., Blagoevska K., Järveots T., Düritis I. Immunohistochemical study of glucose transporter GLUT-5 in duodenal epithelium in norm and in T-2 mycotoxicosis. *Foods*, 2020, 9(7): 849 (doi: 10.3390/foods9070849).
40. Gyimesi G., Pujol-Giménez J., Kanai Y., Hediger M.A. Sodium-coupled glucose transport, the SLC5 family, and therapeutically relevant inhibitors: from molecular discovery to clinical application. *Pflügers Archiv — European Journal of Physiology*, 2020, 472(9): 1177-1206 (doi: 10.1007/s00424-020-02433-x).
41. Stanforth K.J., Zakhour M.I., Chater P.I., Wilcox M.D., Adamson B., Robson N.A., Pearson J.P. The *MUC2* gene product: polymerisation and post-secretory organisation — current models. *Polymers*, 2024, 16(12): 1663 (doi: 10.3390/polym16121663).
42. Cheng H., Li H., Li Z., Wang Y., Liu L., Wang J., Ma X., Tan B. The role of glycosylated mucins in maintaining intestinal homeostasis and gut health. *Animal Nutrition*, 2025, 21: 439-446

(doi: 10.1016/j.aninu.2025.03.004).

43. Zhao Q., Maynard C.L. Mucus, commensals, and the immune system. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2041342 (doi: 10.1080/19490976.2022.2041342).
44. Kang Y., Park H., Choe B.-H., Kang B. The role and function of mucins and its relationship to inflammatory bowel disease. *Frontiers in Medicine*, 2022, 9: 848344 (doi: 10.3389/fmed.2022.848344).
45. Liu R., Miao H., Zhang B., Zhang H. Identification of key differentially expressed genes during early sex determination in chicken embryos. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(19): 9575 (doi: 10.3390/ijms26199575).
46. Rotter I., Ciosek Ż., Syroka A., Ryl A. A cross-sectional study of testosterone deficiency and inflammatory markers in older men. *Frontiers in Endocrinology*, 2025, 16: 1606949 (doi: 10.3389/fendo.2025.1606949).
47. Shi H., Brown L.M., Rahimian R. Sex/gender differences in metabolism and behavior: influence of sex chromosomes and hormones. *International Journal of Endocrinology*, 2015: 245949 (doi: 10.1155/2015/245949).
48. Del-Cuerpo I., Jerez-Mayorga D., Chirisa-Ríos L.J., Morenas-Aguilar M.D., Mariscal-Arcas M., López-Moro A., Delgado-Floody P. Males have a higher energy expenditure than females during squat training. *Nutrients*, 2023, 15(15): 3455 (doi: 10.3390/nu15153455).
49. Petric R., Kalcounis-Rueppell M., Marler C.A. Are testosterone pulses a physiological mechanism for expanding activity beyond territories? *Royal Society Open Science*, 2024, 11(10): 231198 (doi: 10.1098/rsos.231198).