



Современные методы борьбы со стрессами в птицеводстве: от антиоксидантов к сиртуинам и витагенам

Сурай П. Ф., докт. биол. наук, иностранный член РАСХН

Шотландский с/х колледж и Университет Глазго (Великобритания)
Сумской национальный аграрный университет (Украина)
Одесская национальная академия пищевых технологий (Украина)

Фисинин В. И., докт. с/х наук, академик РАСХН

ГНУ ВНИТИП Россельхозакадемии

О стрессах и их роли в снижении продуктивности и ухудшении воспроизводительных качеств сельскохозяйственной птицы в последние годы написано достаточно много (Фисинин В. И. и др., 2009; Сурай П. Ф., 2002, 2006). Тем не менее, каждый год появляются новые научные данные о том, что последствия стрессов гораздо тяжелее, чем ранее считалось. Например, разработка концепции витагенов позволила глубже понять молекулярные механизмы естественной защиты организма от стрессов.

Стало понятно, что адаптация организма к стрессу сопряжена с целой цепочкой молекулярных событий, которая ведет к «включению» одних генов и «выключению» других. Это дает организму возможность максимально использовать все имеющиеся резервы, чтобы выйти из стрессовой ситуации с минимальными потерями. Следует иметь в виду, что на молекулярном уровне отрицательное действие стрессов опосредовано через избыточное образование свободных радикалов, повреждающих все типы биологических молекул. Таким

образом, взяв под контроль образование вышеупомянутых радикалов в клетке (и в организме в целом), удастся достичь положительного эффекта в снижении отрицательного действия как средовых, так и кормовых, и внутренних стрессов.

В последние годы все больше внимания уделяется изучению негативных последствий окисления белков клеточных структур, так же как и последствий окислительных изменений в структуре ДНК. При этом особое место занимают исследования в сфере разработки эффективных препаратов комплексного действия, помогающих свети к минимуму отрицательные последствия стрессов. К сожалению, большинство научных работ в этом направлении проведено в медицине, и лишь немногое из достигнутого молекулярными биологами используется в птицеводстве.

Стрессы в птицеводстве

Стрессы в птицеводстве начинаются еще с инкубатора. Как ранняя выборка цыплят, так и их задержка в инкубаторе являются сильными стрессами, способными существенно снизить будущую продуктивность птицы. Такое же выраженное стрессовое действие оказывают вакцинация в инкубатории, транспортировка цыплят в корпуса, посадка в корпусе при отсутствии выровненной подстилки, оптимальной температуры и вентиляции. В дальнейшем добавляются кормовые стрессы, связанные не только с переходом цыпленка от желткового питания (в последнюю неделю инкубации) к сухому корму, отличающемуся по составу от желтка, но и с несбалансированностью рациона по питательным и биологически активным веществам. Наличие микотоксинов в кормах — один из основных кормовых стрессов. При этом добавляются стрессы, связанные с вакцинациями, и, конечно же, в летние месяцы особую роль играют тепловые стрессы. О стрессах, возникающих в процессе выращивания бройлеров, ремонтного молодняка, а также при содержании промышленных кур-несушек и родительского стада кур, написано достаточно много, и хотелось лишь еще раз отметить их роль в снижении продуктивных и воспроизводительных качеств птицы. Одна из важнейших проблем, связанных со стрессами, — это повышенная потребность птицы в ряде питательных и биологических веществ для борьбы со стрессами, в то время как их поступление с кормом, как правило, уменьшается из-за снижения поедания корма (Фисинин В. И. и др., 2009; Сурай П. Ф., 2002, 2006).

Молекулярные механизмы развития стрессов

С физиологической точки зрения стресс — это отклонение от оптимальных условий среды, включая внешние условия содержания птицы, внутренние — такие как бактериальный баланс в кишечнике, а также условия кормления и поения с учетом отклонений от оптимального состава рациона. В целом основные стрессы в птицеводстве можно разделить на средовые, кормовые и внутренние. Рассматривая упомянутые стрессы, следует иметь в виду, что они приводят как к ухудшению воспроизводительных качеств родительского стада кур (снижению оплодотворенности яиц, вывода молодняка и жизнеспособности цыплят в первые дни после вывода), так и к падению продуктивности бройлеров (ухудшению конверсии корма и уменьшению среднесуточных привесов, повышенному падежу цыплят).

Особого внимания заслуживает иммунная система, так как она наиболее чувствительна к разного рода стрессам (Фисинин В. И., Сурай П. Ф., 2006; Фисинин В. И., Сурай П. Ф., 2011). В результате разбалансировки иммунной системы снижается естественная резистентность птицы к различным заболеваниям и уменьшается эффективность вакцинаций (Сурай П. Ф., 2005).

В зависимости от силы стресса организм или справляется с ним, или гибнет. При этом в процессе эволюции животные и человек выработали механизмы, которые позволяют им в экстремальных условиях мобилизовать все защитные силы и справиться со стрессом.

В течение многих лет ученые пытались найти причины, которые приводят к подобным изменениям в организме при различных стрессах (тепловых, кормовых или внутренних). Оказалось, что связующим звеном во многих стрессовых ситуациях является избыточное образование свободных радикалов с последующим разрушением белков, липидов и ДНК (Фисинин В. И. и др., 2008, 2009; Папазян Т. Т. и др., 2009; Сурай П. Ф., 2002, 2006). Таким образом, свободнорадикальная теория стрессов получила наибольшее развитие в последние годы. Свободные радикалы — это активированные молекулы кислорода, способные повреждать все типы биологических молекул. Известно, что в нормальных физиологических условиях в каждой клетке ежедневно образуется примерно 200 миллиардов свободных радикалов. В стрессовых условиях образование свободных радикалов увеличивается в несколько раз, и антиоксидантная система просто не справляется с потоком молекул-убийц. В результате происходят нарушения на уровне клеточных мембран, приводящие к пагубным последствиям на уровне метаболизма клетки. Это в свою очередь приводит к снижению продуктивности птицы и ухудшению ее воспроизводительных качеств.

Витагены и их роль в защите от стрессов

Расшифровка генетических кодов человека и ряда видов животных позволила сделать важный шаг в поиске механизмов регуляции генов. В частности, выяснилось, что в организме существуют механизмы «включения» и «выключения»

генов. В упрощенном виде можно представить гены в виде лампочек, которые способны включаться и выключаться. При этом количество света в конкретной комнате зависит не столько от количества лампочек, сколько от их мощности. Дело в том, что, вероятно, гены могут функционировать не на полную мощность. Среди веществ, способных регулировать («включать-выключать») гены, можно отметить витамин E, селен, карнитин и ряд других. Наука, изучающая влияние пищевых веществ на активность генов, называется нутригеномикой (Фисинин В. И., Сурай П. Ф., 2006). Ряд фармакологических препаратов также способен воздействовать на активность генов (фармакогеномика). Кроме того, на гены влияют микотоксины (микотоксиногеномика), условия внешней среды (экогеномика) и ряд других факторов.

Способность клетки справляться со стрессовыми ситуациями, известная как клеточный ответ на стресс, нуждается в активации специфических путей, направленных на выживание, так же как и образование молекул, характеризующихся антиоксидантной и антиапоптотической активностью, которые находятся под контролем витагенов. Витагены — это гены, ответственные за выживание организма в критических условиях. Устойчивость к стрессам и «починка» поврежденных при стрессе молекул зависят от активности витагенов, которые контролируют метаболизм и являются связующим звеном между стрессом и гомеостазом с одной стороны и здоровьем и продуктивностью птицы — с другой. Продуктами деятельности витагенов являются

различные белковые молекулы, включая антиоксидантные белки-ферменты (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза), белки теплового шока (белки-шапероны), ферменты второй фазы детоксикации чужеродных веществ, белковые факторы роста, а также белки, вовлеченные в регуляцию метаболизма энергии и поддержания клеточного гомеостаза кальция, а также ряда других белков, таких как сиртуины, способных оказывать защитное действие в условиях стресса, предупреждая повреждения, вызываемые свободными радикалами. Изменения в экспрессии генов и апоптоз являются важнейшими элементами адаптации к стрессу. Следовательно, при разработке методов профилактики стрессов эти два процесса должны учитываться в первую очередь. Так, дополнительный синтез супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы приводит к существенному снижению повреждения биологических молекул свободными радикалами, так как процесс их образования более жестко контролируется антиоксидантными ферментами. С другой стороны, синтез так называемых белков теплового шока является очень важным защитным механизмом в условиях стресса. При этом протеины теплового шока относятся к группе белков-шаперонов. Другую важную группу защитных белков называют сиртуины.

Белки-шапероны

Белки теплового шока (HSP) получили свое название из-за взаимосвязи их синтеза с тепловым шоком. Позже стало известно, что их уровень повышается в ответ на любой стресс — окислительный

процесс, слабое кислородное голодание, слабые отравления, радиацию и другие. Вторая важная функция белков теплового шока — так называемая шаперонная. Термин относится к большому семейству широко распространенных белков, которые формируют эволюционно-важную систему защиты в клетках. Это уникальные ремоделирующие белки, способствующие выживанию клеток в стрессовых условиях. Благодаря этой функции, HSP способны регулировать процессы формирования и разрушения пространственной структуры других белков (в молекулярной биологии для обозначения этих процессов используются устойчивые термины — фолдинг и анфолдинг, соответственно). В зависимости от задачи регуляторные функции HSP в отношении разных белков выражаются по-разному. С одной стороны, вновь синтезируемые белки нуждаются в «шаперонной» услуге HSP, за счет которых они приобретают необходимый для адекватной биологической активности «правильный» фолдинг («сворачивание», пространственную структуру). Однако если белок подлежит удалению, то HSP, наоборот, способствуют «расплетанию» полипептидной цепи с последующей ее деградацией посредством активации протеосом — огромных цитоплазматических внутриклеточных образований. Показано, что стресс активирует не только экспрессию белков теплового шока, но и стимулирует образование и активацию протеосом, усиливая катаболические процессы в клетке и обеспечивая коррекцию структуры белков. Таким образом, белки-шапероны участвуют в предотвращении агрегации неправильно «свернутых» белков, разрушении белковых

агрегатов и «разворачивании» нативных белков-мишеней для переноса их через мембраны. При этом в условиях теплового стресса белки-шапероны участвуют в предотвращении агрегации протеинов, «выключении» многих химических реакций в клетке и индукции синтеза различных шаперонов и других белков, обеспечивающих выживание клетки.

Роль белков-сиртуинов в защите от стресса

Еще одним важным элементом защиты от стрессов являются белки-сиртуины — это специфические белки, участвующие, с одной стороны, в поддержании структурной целостности ДНК и регулирующие считывание информации и ее передачу на РНК, а с другой стороны, участвующие в антиоксидантной защите. При этом их рассматривают в качестве своеобразных сенсоров, способных улавливать стресс и передавать сигналы, способствующие мобилизации механизмов антиоксидантной защиты.

Роль апоптоза в стресс-условиях

Апоптоз — это запрограммированная клеточная смерть, опосредованная через изменения в клетке на уровне генома, то есть, по сути дела, это самоубийство клеток. За последнее десятилетие было доказано, что очень точный баланс между антиоксидантами и прооксидантами в организме в целом и в каждой клетке в частности обеспечивает регуляцию множества важнейших метаболических процессов, поддерживающих иммунокомпетентность, рост, развитие и защиту от различных стрессов, связанных

с промышленными условиями производства мяса птицы и яиц. В целом редокс-баланс клетки можно измерить с помощью микроэлектродов. Среди веществ, способствующих поддержанию положительного редокс-баланса, находятся природные антиоксиданты, включая витамин Е, коэнзим Q, каротиноиды, восстановленный глутатион и тиоредоксин, аскорбиновую кислоту и целый ряд других веществ. Данный баланс может нарушаться в условиях окислительного стресса, когда организм уже не может справиться с постоянно возрастающим потоком свободных радикалов, приводящих к повреждению все новых и новых молекул в клетке.

Микотоксины рассматриваются в качестве основных стресс-факторов кормового происхождения, нарушающих вышеуказанный баланс. При этом на начальных этапах микотоксикоза происходит активация витагенов, ответственных за дополнительный синтез антиоксидантных компонентов в клетке в условиях стресса. Это приводит к увеличению активности антиоксидантных ферментов (СОД, GSH-Px, каталазы и других), дополнительно к синтезу белков-шаперонов (белков теплового шока), а также изменению активности ферментов детоксикации чужеродных соединений. На данном этапе поддержание высокого редокс-потенциала клетки является основным моментом защиты от дальнейшего развития неуправляемых изменений. Отрегулировав данный баланс, можно поддержать жизнеспособность организма без существенных потерь продуктивных и репродуктивных функций. В тот момент, когда баланс

перестает поддерживаться, происходит запуск целого каскада регуляторных механизмов, которые в конечном счете приводят к апоптозу клеток.

Следует иметь в виду, что поддержание гомеостаза клетки включает процессы, связанные с удалением поврежденных клеток, с которыми не справились клеточные механизмы. Этот процесс часто называют запрограммированной клеточной смертью или апоптозом, поскольку считается, что клетка активирует свою внутреннюю программу, которая приводит ее к смерти. Несколько стадий, таких как инициация сигналов смерти на уровне плазматической мембраны, экспрессия проапоптозных онкопротеинов, активация протеаз смерти, эндонуклеаз и т. д., приводят к необратимому движению к клеточной смерти. Таким образом, на уровне клетки принимается решение — продолжать ей жить или она должна самоуничтожиться.

Апоптоз существенно отличается от некроза, который в литературе описан более детально. При некрозе клеток, когда их смерть наступает от осмотического, физического или химического повреждения, отмечается раннее нарушение внутренних и внешних мембран с последующим освобождением денатурированных белков, и за этим следует индукция воспалительного процесса. В отличие от некроза, апоптоз характеризуется сжатием клетки, ядерным пикнозом, конденсацией хроматина, распадом ДНК на отдельные участки и активацией цистеиновых протеаз с названием каспазы. Свободные радикалы рассматриваются в качестве главных

виновников апоптоза: они участвуют в инициации и осуществлении данного процесса. Например, снижение концентрации восстановленного глутатиона повышает долю клеток, подвергающихся апоптозу в данной популяции клеток, в то время как восстановление концентрации глутатиона в клетке тормозит процесс апоптоза. При этом восстановленный глутатион рассматривают в качестве одного из главных сенсоров, запускающих процесс апоптоза.

В условиях высокого стресса запрограммированная клеточная смерть является единственным возможным механизмом, блокирующим передачу серьезных мутаций будущим поколениям, то есть апоптоз в клетке можно рассматривать в качестве своеобразного «рубильника», отключение которого останавливает все процессы. Таким образом, запуск апоптоза вызывает необратимые изменения в основных звеньях метаболизма, приводящие в конечном счете к токсикозу, который наблюдается, например, в условиях потребления высоких доз микотоксинов.

Разработка новых приемов борьбы со стрессами

Принимая во внимание последние достижения молекулярной биологии, можно сделать вывод, что главным принципом уменьшения отрицательных последствий стрессов является мобилизация собственных сил организма, в частности, активация витагенов и синтез дополнительных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. При этом существует два основных пути доставки целевых компонентов

в организм — с кормом и с водой. Кормовой путь использовался во многих экспериментах, в результате чего для снижения влияния стрессового фактора было разработано значительное количество премиксов, содержащих различные антиоксиданты в повышенной концентрации (Фисинин В. И. и др., 2009). Однако выяснилось, что в производственных условиях применять такие премиксы весьма проблематично. Во-первых, технически сложно заменить обычный корм в бункере возле корпуса с птицей на новый, обогащенный специальными антистрессовыми добавками. Следовательно, пока не скормлен имеющийся корм в бункере, новый с добавками птица получит не скоро, и это обстоятельство ограничивает возможность быстро реагировать на стрессовую ситуацию. Во-вторых, в условиях стресса потребление корма, как правило, уменьшается. Таким образом, потребность в витаминах, минералах и ряде других веществ при стрессе увеличивается, а их поступление с кормом — снижается. Это еще больше усугубляет отрицательные последствия стрессов.

Известно, что в ветеринарную практику современного птицеводства прочно вошла система медикации. Сегодня посредством медикаторов (дозатронов) выпаивают антибиотики, пробиотики, витамины и другие препараты. В связи с этим при разработке новой концепции борьбы со стрессами мы исходили из того, что выпаивание препаратов с водой через медикатор является наиболее эффективным путем достижения поставленной цели. Такой подход дает возможность наиболее быстро реагировать на стрессовую ситуацию.

Выбор компонентов для антистрессового препарата

В настоящее время в промышленном птицеводстве используется большое количество препаратов, выпаиваемых с водой. Среди них ведущее место занимают различные смеси витаминов, минералов и аминокислот. Следует отметить, что применение таких препаратов дает положительный эффект, однако он ограничен тем, что направлен на коррекцию дефицита определенных элементов. В то же время в предупреждении отрицательных последствий стрессов важную роль играет ряд других веществ (антиоксиданты, гепатопротекторы, осмогены, электролиты, органические кислоты и др.), которые, как правило, не входят в состав препаратов, имеющихся на рынке России и ближнего зарубежья. Индивидуальное же выпаивание таких веществ не дает желаемого результата по снижению отрицательного действия стрессов.

Анализ современной литературы и наши собственные эксперименты позволили определить важнейшие компоненты, регулирующие витагены и способствующие максимальной мобилизации защитных сил организма. Таким образом, в состав антистрессового препарата нового поколения Feed-Food Magic Antistress были включены следующие компоненты:

- вещества, регулирующие витагены (карнитин, бетаин, витамины Е и С, селен);
- комплекс антиоксидантной защиты (антиоксиданты, витамины и минералы в оптимальном соотношении для эффективной рециклизации витамина Е в клетке);

- электролиты, способствующие повышению потреблению воды и предотвращающие отрицательные последствия теплового и других стрессов;
- осмогены (бетаин);
- органические кислоты, поддерживающие оптимальный уровень pH кишечника, что создает условия для улучшения его микрофлоры, структурной целостности и пищеварения;
- незаменимые аминокислоты (лизин и метионин);
- комплекс веществ, способствующих метаболизму микотоксинов в печени (карнитин, бетаин, витамины E и C, селен, лизин и метионин);
- иммуномодулирующий комплекс веществ (витамины E и C, карнитин, бетаин, лизин, метионин, селен, цинк и марганец);
- комплекс жирорастворимых витаминов (A, D₃, E и K);
- комплекс водорастворимых витаминов;
- минералы (цинк, марганец и магний).

Ключевые моменты борьбы со стрессами в промышленных условиях

- Результаты исследований убедительно показали, что новая концепция антистрессовой защиты при выращивании цыплят-бройлеров должна включать следующие моменты: поддержку цыплят в первые дни жизни после посадки — именно в этот критический период необходимо обеспечить эффективное развитие кишечника и иммунной системы;
- поддержку цыплят до и после вакцинаций — это ключевой момент повышения

эффективности данных мероприятий;

- поддержку печени и стимулирование метаболизма микотоксинов — важнейшее звено в борьбе с кормовыми стрессами;
- поддержку птицы в условиях теплового стресса, что позволит существенно уменьшить падеж и предотвратить снижение роста и развития цыплят;
- защиту от негативного влияния технологических стрессов (прореживание, отлов птицы, взвешивание и др.), что предупредит потерю продуктивности;
- снижение стрессовой нагрузки, что позволит существенно уменьшить падеж птицы (исключить синдром внезапной смерти и асциты).

Отметим, что при выращивании ремонтного молодняка к вышеупомянутым стрессам добавляются стрессы, связанные с переводом птицы во взрослое стадо и возможными расклевами из-за увеличения интенсивности освещения. В таких условиях использование антистрессовой защиты является важнейшим технологическим моментом для промышленного птицеводства.

В производстве пищевого и инкубационного яйца основной стресс птицы связан с выходом на пик яйценоскости, и в этом случае дополнительное обеспечение ее комплексом биологически активных веществ также оказывается оправданным.

Заключение

Новый антистрессовый препарат является результатом многолетних исследований молекулярных механизмов

развития стрессов и изучения влияния различных биологически активных веществ на ключевые звенья гомеостаза в организме, особенно в условиях стресса.

В состав антистрессового препарата нового поколения входят именно те вещества, которые в комплексе способны предельно мобилизовать защитные силы организма птицы и свести к минимуму отрицательные последствия стрессов. При этом все эти компоненты включены в состав препарата в оптимальных концентрациях, позволяющих достичь максимального защитного эффекта.

Для ветеринарного специалиста и технолога птицеводческого предприятия новый антистрессовый препарат, по сути, является важнейшим инструментом эффективной борьбы со стрессами и снижения их отрицательного влияния на продуктивные и воспроизводительные качества сельскохозяйственной птицы. Препарат прошел экспериментальную и производственную проверку и успешно используется на многих птицеводческих предприятиях, занимающихся выращиванием бройлеров и ремонтного молодняка, а также содержанием товарных кур-несушек и кур родительского стада.

Кроме того, исследованиями доказано, что препарат может быть успешно использован в борьбе со стрессами в индейководстве и при выращивании водоплавающей птицы. Есть все основания полагать, что данная концепция окажется также эффективной в мясном и молочном животноводстве.