



УДК 636.5:575

МАТЕРИНСКИЙ ЭФФЕКТ В ПТИЦЕВОДСТВЕ — ОТ ВИТАМИНОВ К ВИТАГЕНАМ И ЭПИГЕНЕТИКЕ

Фисинин В. И., президент Росптицесоюза, директор ФГБНУ ВНИТИП, академик РАН, д-р с.-х. наук, профессор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» (ФГБНУ ВНИТИП)

Шацких Е. В., профессор, д-р биол. наук

ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО УрГАУ)

Латыпова Е. Н., начальник цеха инкубации, канд. биол. наук

ОАО «Птицефабрика «Боровская»

Сурай П. Ф., д-р биол. наук, иностранный член РАН, профессор

Университет Святого Иштвана (Венгрия) и Тракийский Университет (Болгария)

Аннотация: Исследования показали, что кормление родительского стада и различные стрессы, перенесенные птицей в период выращивания ремонтного молодняка и в кладковый период, способны влиять на полученное потомство.

Summary: The researches have shown that parent flock feeding and different stresses in pullet growing and egg laying periods can influence on generation received.

Ключевые слова: птица, стрессы, экспрессия генов, эпигенетика, редокс-баланс, материнское программирование.

Key Words: poultry, stresses, gene expression, epigenetics, redox balance, maternal programming.

Введение

За последние 20 лет в науке о питании произошли поистине революционные изменения, и фраза «мы — то, что мы едим» постепенно трансформировалась в «мы — то, что ели наши бабушки с дедушками». В это трудно поверить, но последние достижения в области молекулярной биологии, нутригеномики и эпигенетики подтвердили, что питание является определяющим фактором не только здоровья человека и животных/птиц, но и во многом определяет здоровье их потомства.

От расшифровки генома к эпигенетике

На расшифровку генома человека были затрачены огромные средства, и эта работа является прорывом в науке. При этом, как часто бывает, ожидания ученых и общественности не оправдались. Когда проект расшифровки генома начинался, все средства массовой информации дружно описывали невероятные возможности результатов данной работы — от лечения генетически обусловленных болезней до создания новых видов животных. Однако, как оказалось, биология человека и животных значительно сложнее и расшифровка последовательности ДНК стала лишь

небольшим шагом в направлении понимания молекулярных основ жизни. Расшифровав генетический код, ученые столкнулись с другой проблемой — как определить, какой ген «включен» и какой «выключен» и что является пусковым звеном в данном процессе. В этом отношении нутригеномика, изучающая влияние питания на экспрессию генов [19], стала своеобразным трамплином для дальнейшего продолжения исследований. Таким образом, родилось новое направление в науке — «эпигенетика», то есть отрасль науки, рассматривающая молекулярные механизмы «включения-выключения» генов. Именно эпигенетика призвана объяснить, каким образом внешняя среда влияет на проявление внешних признаков (формирование фенотипа) и как некоторые фенотипические признаки передаются будущим поколениям без изменения последовательности ДНК.

Механизмы «включения-выключения» генов

Ученые выяснили, что в организме существуют, по крайней мере, три основных процесса/уровня, определяющие «включение-выключение» генов [26, 28, 29, 44]. Во-первых, это метилирование ДНК в области цитозина, которое по сути является «выключателем»

активности гена. Как только произошло метилирование цитозина в соответствующем участке ДНК, возможность списывания информации с гена прекратилась — ген «выключился». После того, как определенные ферменты произведут деметилирование данного участка ДНК, ген снова «включится» — с него будет списываться информация и синтезироваться соответствующий белок. Таким образом, процесс метилирования-деметилирования является своеобразным «включателем-выключателем» активности генов. Во-вторых, процесс ацетилирования лизиновых остатков гистонов в нуклеосоме тоже является «включателем» генов. При ацетилировании гистонов изменяется упаковка ДНК в нуклеосоме, и появляется возможность списывания информации, то есть ген активируется. Соответственно деацетилирование гистонов «выключает» ген. В-третьих, микроРНК являются третьим уровнем («включателем») генов. Они (микроРНК) способны связываться с матричной РНК и тем самым предупреждать считывание информации, блокируя работу рибосом и соответственно предупреждая синтез белков уже на пост-трансляционном уровне. Таким образом, стало понятно, что многие пищевые вещества, включая бетаин, витамин В₁₂, фолиевую кислоту и метионин, могут поставлять



метильные группы, необходимые для метилирования ДНК, и тем самым влиять на экспрессию («включение») определенных генов в организме.

Регуляция редокс-баланса клетки

Результаты исследований последнего десятилетия убедительно доказали, что редокс-баланс внутри клетки и, в частности в ядре, является определяющим фактором при запуске «включений-выключений» многих генов. В частности, был описан фактор транскрипции Nrf2, который отвечает за «включение» генов, связанных с синтезом основных антиоксидантных ферментов и ряда антиоксидантных молекул [36]. Данный фактор находится в цитоплазме в неактивном состоянии и связан со специальным белком-репрессором (Keap1). При этом период полураспада этого комплекса составляет лишь 20 мин, так как он быстро подвергается деградации в протеосомах. В условиях стресса свободные радикалы и продукты их метаболизма окисляют тиоловые связи цистеина в белке-репрессоре (Keap1), изменяя его конфигурацию. В результате белок-репрессор покидает молекулу Nrf2, которая в свободном виде проникает в ядро, где связывается с так называемым *Antioxidant Response Element (ARE)* — антиоксидант-респонсивным элементом в промоутерной части многих антиоксидантных генов. Это приводит к активации генов, и начинается синтез дополнительных антиоксидантных молекул, включая ферменты синтеза глутатиона, детоксикации чужеродных веществ и др. Следует подчеркнуть, что недавно были описаны и другие механизмы активации Nrf2, но суть осталась прежней — происходит «включение» соответствующих генов и синтез антиоксидантных молекул, способствующих преодолению окислительного стресса и восстановлению редокс-потенциала в клетке.

Еще одним важнейшим фактором транскрипции, участвующим в регуляции антиоксидантной защиты в стресс-условиях, является так называемый фактор NF-κB [27, 41]. Интересно отметить, что так же, как и Nrf2, он находится в плазме в связанном с белком-репрессором (IκB) виде и как Nrf2 подвергается

деградации в протеосомах. После соответствующей активации он тоже теряет связь с белком-репрессором и транспортируется в ядро, где связывается с соответствующими участками генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов и других важных молекул. Таким образом, данный транскрипционный фактор работает противоположно Nrf2, то есть во многих случаях для восстановления редокс-потенциала клетки необходима активация Nrf2 и ингибирование NF-κB.

Активация витагенов — основа повышения резистентности к стрессу

Еще одним механизмом регуляции защиты от стрессовых ситуаций является активация витагенов, ответственных за адаптационную способность организма к различным стрессам [7, 8, 9, 10, 11]. Эти гены отвечают за синтез не только белков теплового шока, поддерживающих конформационную структуру и соответственно активность многих белков в стресс-условиях, но также обеспечивают синтез гистоновых деацетилаз с названием сиртуины, которые, как отмечалось выше, отвечают за «включение-выключение» генов, путем ацетилирования-деацетилирования гистонов. При этом было установлено, что ряд питательных и биологически активных веществ (карнитин, бетаин, витамины А, Е и др.) способны поддерживать активность витагенов на оптимальном уровне, снижая отрицательные последствия различных стрессов.

Каким же образом можно связать приведенные выше данные об экспрессии генов, эпигенетике, факторах транскрипции и витагенах?

Связующим звеном является стресс. По сути дела, во многих случаях стресс-условий задействованы все вышеуказанные механизмы, и именно стресс отвечает за запуск целого каскада событий, направленных на адаптацию организма и его выживание в условиях стресса [46, 47, 48, 49, 50, 51]. После рассмотрения вышеуказанных моментов легче понять механизмы материнского программирования.

Материнское программирование

Материнское программирование — это, пожалуй, одно из наиболее

быстро развивающихся направлений современной биологии. Оно призвано ответить на вопрос о механизмах передачи фенотипических признаков будущим поколениям без изменения генов/ДНК. Краеугольным камнем данного научного направления являются многочисленные наблюдения влияния условий жизни и питания людей в различных местах обитания на здоровье их потомства.

Так, были проведены детальные исследования потомков голландцев, переживших голод в годы ВОВ. Благодаря подробным медицинским записям удалось выяснить, что вышеупомянутый голод у родителей и прародителей сказался на их детях и внуках, обусловив развитие различных заболеваний. Описаны и другие наблюдения, подтверждающие, что неблагоприятные условия внешней среды отрицательно сказываются на потомстве без изменения структуры ДНК. Исследования на лабораторных животных позволили экспериментально подтвердить, что различные токсические вещества (например, гербициды), потребляемые крысами, способны вызывать существенные метаболические изменения у их потомства во втором и третьем поколениях.

Кроме того, проводились многочисленные наблюдения на животных по влиянию алкоголя, потребленного материнским организмом, на изменения в потомстве двух следующих поколений. Интересны исследования насекомых, например, пчел, свидетельствующие о том, что питание предопределяет получение из личинок простых пчел или матки.

Сегодня ученые все чаще сходятся во мнении, что проблема ожирения людей связана не только и не столько с неправильным питанием людей, а, скорее всего, является следствием неправильного питания их дедушек и бабушек. Есть основания полагать, что увеличение случаев диабета также связано с неправильным питанием предыдущих поколений. Таким образом, в популярной форме концепцию материнского программирования можно свести к тому, что условия жизни и особенно питание будущей матери в первые недели беременности определяют здоровье будущего



ребенка до конца дней его жизни. В это пока трудно поверить, но последние достижения в области эпигенетики позволяют частично объяснить механизмы формирования таких последствий. Более того, можно с уверенностью сказать, что стрессы, перенесенные беременной женщиной, сказываются не только на ее будущем ребенке, но могут вызвать определенные изменения в следующих поколениях ее потомства [25, 31, 34]. Все вышеописанные наблюдения относились к людям и лабораторным животным, и, на первый взгляд, они вряд ли применимы в птицеводстве. Однако материнское программирование — это новое направление исследований, способное принести пользу промышленному птицеводству.

Промышленная птица отличается от млекопитающих тем, что снесенное ею яйцо уже не имеет связи с родителями, и все, что может материнский организм сделать, это перенести в яйцо необходимые для питания эмбриона и выведения здорового птенца вещества. Так, в первые две недели развития основным источником питания эмбриона является белок, а в последнюю неделю — исключительно желток (белок и липиды). Следует также добавить, что водорастворимые витамины эмбрион получает как из белка, так и из желтка, в то время как жирорастворимые витамины поступают исключительно из желтка. Что касается минералов, то они имеются в незначительных количествах как в белке, так и в желтке.

Каким же образом стресс может оказать влияние на птицу (кур, индеек, уток, гусей и т.д.) родительского стада?

Следует отметить, что количество стрессов у птицы в процессе жизни весьма значительно. Это могут быть кормовые стрессы (наличие в кормах микотоксинов и окисленных жиров, дисбаланс питательных и биологически-активных веществ), средовые (повышенная или пониженная температура в птичнике, его загазованность и т.д.), социальные (взаимоотношения кур и петухов, иерархия в стаде), технологические (подсадка петухов, ограниченное кормление и т.д.) и внутренние стрессы (вакцинации, инфекции). Таким образом, кор-

мовые и средовые стрессы могут способствовать снижению потребления корма и нарушению структуры кишечника, что приведет к дисбалансу питательных и биологически-активных веществ, снижению яйценоскости, ухудшению качества скорлупы и т.д. [46]. Кроме того, могут быть изменения в составе яиц, включая содержание жирных кислот, жирорастворимых витаминов и селена. Данные изменения могут отразиться на развитии эмбриона и в результате оказать влияние на продуктивные и воспроизводительные качества птицы, полученной из этих яиц. Могут ли эти изменения повлиять на следующее поколение, если это, например, прародительское стадо?

Принимая во внимание последние достижения в области эпигенетики, можно ответить на данный вопрос утвердительно [26, 30]. С другой стороны, сейчас все больше внимания получают исследования, свидетельствующие о переносе гормонов в яйцо и о том, что в стресс-условиях количество гормонов в яйце может существенно меняться [45]. Нам представляется наиболее вероятным, что именно этот механизм способен оказывать существенное влияние на эпигеном и изменять продуктивные и воспроизводительные характеристики будущего потомства. Таким образом, по нашему глубокому убеждению, разработка методов снижения отрицательного влияния стрессов на птицу родительского стада является одной из основополагающих задач птицеводов.

При этом, создавая эффективный антистрессовый препарат, необходимо принимать во внимание следующие механизмы [50]:

- активацию витагенов и редокс-сигнализацию в клетке (карнитин, бетаин, витамины А, Е, D, С, селен, цинк, марганец и др.);
- поддержание системы рециклизации витамина Е в клетке (витамины С, В₁, В₂ и селен);
- обеспечение элементов синтеза карнитина (лизин, метионин, аскорбиновая кислота, витамины В₃ и В₆);
- поддержание печени, главного органа детоксикации Т-2 токсина, охратоксина, фумонизинов,

афлатоксинов и кишечника, где происходит детоксикация ДОНа (витамины Е, С, D, селен, карнитин, бетаин, органические кислоты, метионин и лизин);

- поддержание иммунокомпетентности (витамины А, Е, D, С, карнитин, бетаин, селен, цинк и марганец).

«Меджик Антистресс Микс» — регулятор материнского программирования

Использование антистрессового препарата Меджик Антистресс Микс, разработанного нами ранее на основании концепции витагенов, показало положительные результаты [1, 7, 46]. Так, в препарат включены бетаин, метионин, фолиевая кислоты и витамин В₁₂ в качестве доноров метильных групп, необходимых для метилирования ДНК и регулирования активности генов через эпигенетические механизмы. Препарат содержит также карнитин, аскорбиновую кислоту, витамины А, Е и ряд других веществ, способствующих поддержанию высокой активности витагенов и снижению отрицательного влияния стрессов. Кроме того, комплекс антиоксидантов, включая эффективную рециклизацию витамина Е, позволяет поддерживать высокую активность фактора транскрипции Nrf2 и соответственно синтез антиоксидантных ферментов и других защитных веществ, предупреждает преждевременную активацию фактора транскрипции NF-κB и снижает развитие воспалительных процессов в организме, таких как воспаления яйцевода и скорлупного отдела кишечника. Выпаивание антистрессового препарата оказывает положительный эффект как при посадке птицы и ее развитии в первые дни жизни [12], так и при контаминации корма микотоксинами, включая ДОН [13, 14], охратоксин [15, 16] и Т-2 токсин [17, 18], а также при иммуносупрессии [8]. В целом, препарат оказался эффективным в технологии выращивания бройлеров [1] и родительского стада кур яичных пород [46].

Подтверждением эффективности концепции витагенов в птицеводстве являются исследования, проведенные Е.Н. Латыповой и Е.В. Шацких (2013–2014) на Боровской птицефабрике на

родительском стаде кур кросса Hy-Line. В целом, в исследованиях было использовано 53400 гол. птицы [2, 3, 4, 5, 6, 21, 22, 23, 24]. При выпаивании ремонтному молодняку препарата Меджик Антистресс Микс было отмечено увеличение массы семенников петушков в 15-недельном возрасте [21], а также в 26- и 56-недельном возрасте [23]. При этом отмечалось повышение концентрации витамина А в печени птицы [21]. Выпаивание антистрессового препарата курам родительского стада увеличило на 2% пик яйценоскости, и птица на пике находилась на 50 дней дольше, чем в контрольной группе. Яйценоскость кур на начальную несушку в экспериментальной группе составила 266,9 яиц, что на 6 шт. больше, чем в контрольной группе [23]. Интересным фактом является улучшение качества и достоверное увеличение прочности скорлупы в экспериментальной группе кур [4]. Использование антистрессовой композиции с водой улучшило оплодотворенность на 16, 40, 48 и 56-й неделе жизни на 2,5; 2,7; 2,8 и 3,7% соответственно. При этом вывод молодняка на 26, 32, 40, 48 и 56-й неделе возрос на 3,6; 2,1; 3,4; 4,9 и 4,3% соответственно [2]. Использование препарата способствовало увеличению концентрации незаменимых аминокислот в крови кур-несушек [20]. Кроме того, было отмечено положительное влияние антистрессового препарата, выпаиваемого курам родительского стада, на потомство в 4-недельном возрасте. Так, цыплята, полученные от родительского стада кур, которым давали антистрессовый препарат в 26-, 32-, 40-, 48- и 56-недельном возрасте, характеризовались повышенной однородностью в 28-дневном возрасте — соответственно на 14,0; 8,7; 14,4; 7,5 и 11,7% в сравнении с контролем [3, 5]. При этом отмечалось улучшение в развитии кроветворных органов опытной птицы [24]. Положительное влияние использования антистрессового препарата в рационе кур родительского стада было подтверждено производственной проверкой [6]. Проведенные исследования убедительно продемонстрировали, что снижение стрессов у ремонтного молодняка и родительского стада кур породы Hy-Line за счет выпаивания антистрессового

препарата «Меджик Антистресс Микс» позволило повысить воспроизводительные качества птицы и положительно сказалось на потомстве.

Другие факты влияния кормления родительского стада кур на потомство

Исследования, проведенные в Голландии, показали, что скормливание курам родительского стада премикса с повышенным уровнем витаминов и минералов положительно сказалось на экспрессии генов в кишечнике у вылупившихся цыплят в 3- и 14-дневном возрасте [43]. При этом активированные гены способствовали развитию кишечника. Наши эксперименты выявили, что наличие селена в рационе родительского стада перепелов положительно сказывается на его концентрации в тканях 2-недельных перепелат [52]. Наши опыты на курах родительского стада показали, что включение селена в их рацион положительно сказывается на его концентрации в печени и мышцах 4-недельного потомства [40]. В экспериментах, проведенных в университете штата Калифорния (Девис), было продемонстрировано, что цыплята, вылупившиеся из яиц с низким содержанием каротиноидов, страдают нарушением усвоения каротиноидов из рациона в 4-недельном возрасте [32, 33]. В исследованиях в Китае было показано, что селен в рационе родительского стада кур положительно сказывается на конверсии корма цыплят вплоть до 56-дневного возраста [54]. Недавние исследования, проведенные в Канаде и опубликованные в *Poultry Science*, свидетельствуют о том, что состав рациона родительского стада, особенно в период выращивания ремонтного молодняка, влияет на рост бройлеров, полученных от молодых родителей [37]. При этом несушки, выращенные на высокоэнергетическом рационе, характеризовались повышенным содержанием жира, и то же самое отмечалось у их потомства. Интересно отметить, что уровень энергии в кладковом рационе мало влиял на эти показатели. Авторы объясняют это эпигенетическими механизмами. К тому же выход грудных мышц цыплят также зависел

от энерго-протеинового соотношения в рационе птицы родительского стада во время перехода от выращивания к периоду яйцекладки.

Видимый эффект эпигенетических механизмов в птице наблюдали Lindqvist et al. [35], Natt et al. [38, 39]. В частности, две группы кур-несушек выращивали с использованием разных световых режимов: регулярно освещения (контроль) и с непредсказуемыми изменениями (опыт). Было установлено, что поведение кур опытной группы существенно отличалось от контроля, и это также отмечалось у их потомства. При этом потомки кур опытной группы были более конкурентоспособными и росли быстрее. Однако они характеризовались пониженной экспрессией генов, ответственных за синтез иммуноглобулинов, что указывает на возможное эпигенетическое влияние на иммунитет птицы, полученной из яиц опытной группы [39].

Следует отметить, что контаминация корма родительского стада микотоксинами отрицательно сказывалась на активности макрофагов и количестве специфических антител у цыплят, полученных от данных родителей [42]. При этом ограниченное кормление кур родительского стада было связано с пониженной скоростью роста цыплят вплоть до убоя, по сравнению с цыплятами, полученными из яиц кур, кормившихся вволю [53].

Заключение

Анализ современной литературы позволяет сделать вывод о том, что в разные периоды онтогенеза птицы возможно влияние стресса на ее потомство. Это часто осуществляется через эпигенетические механизмы и вероятно затрагивает как факторы транскрипции, так и в целом всю сигнальную систему организма, которая часто связана со свободными радикалами. Эти периоды можно представить следующим образом:

- снесение яиц, их хранение, транспортировка и закладка на инкубацию;
- фумигация;
- режимы инкубации;
- окно вывода и задержка в инкубатории;



- посадка цыплят в корпус и питание в первые дни жизни;
- вакцинации и поствакцинальные синдромы;
- другие стрессы при выращивании бройлеров (кормовые, технологические, внутренние);
- стрессы при выращивании ремонтного молодняка;
- ограниченное кормление и голодные дни у ремонтного молодняка;
- различные стрессы при содержании кур родительского стада.

Исследования последних лет убедительно доказали, что кормление родительского стада и различные стрессы, перенесенные как в период выращивания ремонтного молодняка, так и в

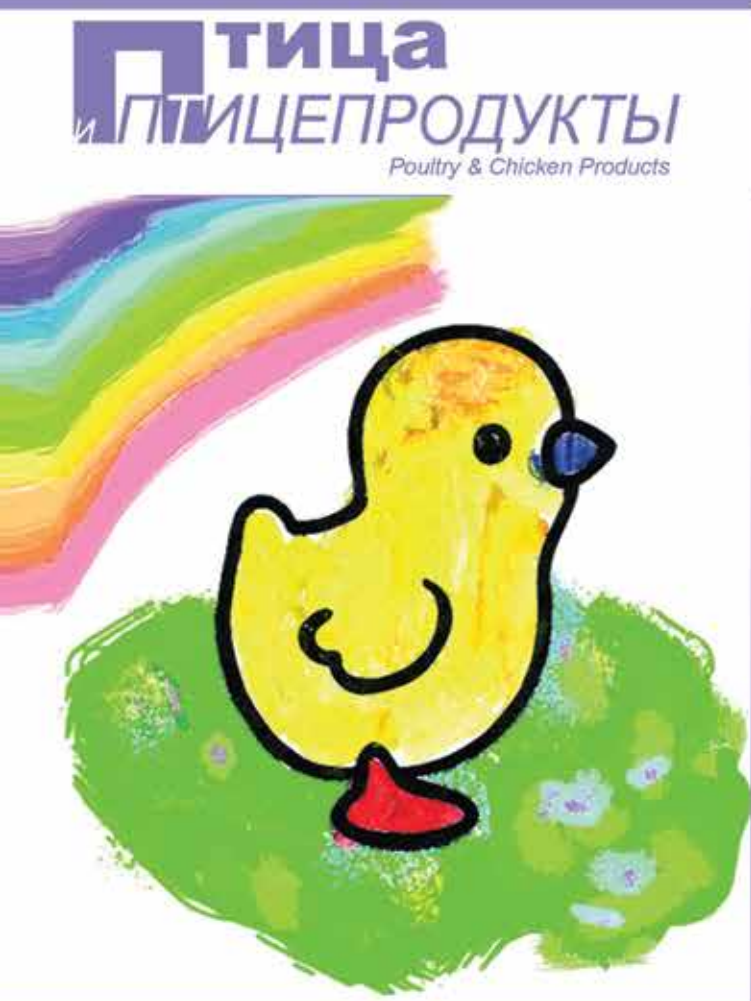
кладковый период, способны влиять на полученное потомство. Последние достижения в области эпигенетики и молекулярной биологии позволяют приблизиться к объяснению механизмов данного явления. Следует особо подчеркнуть, что веществами, участвующими в регуляции витагенов, являются карнитин, бетаин, витамины А, Е и D, селен, марганец, цинк и ряд других нутриентов. При этом бетаин, витамин В₁₂, фолиевая кислота и метионин участвуют в регуляции эпигенетических механизмов в организме сельскохозяйственных животных и птиц.

Однако, без сомнения, нужны дополнительные исследования в данном направлении, чтобы глубже понять материнский эффект в птицеводстве, объяснить его механизмы и научиться использовать на благо современного птицеводства. В этом отношении приведенные выше данные по использованию антистрессового препарата «Меджик Антистресс Микс» являются по сути одним из важных шагов в данном направлении. □

водстве, объяснить его механизмы и научиться использовать на благо современного птицеводства. В этом отношении приведенные выше данные по использованию антистрессового препарата «Меджик Антистресс Микс» являются по сути одним из важных шагов в данном направлении. □

(Список литературы представлен на сайте www.vniipr.ru)

Для контактов с авторами:
Фисинин Владимир Иванович
Шацких Елена Викторовна
Латымова
Екатерина Николаевна
Сурай Петр Федорович
e-mail: psurai@feedfood.co.uk



Подписка 2016

Уважаемые подписчики!

В настоящее время в результате создания Научного центра по птицеводству проходит реорганизация входящих в его состав учреждений и, в частности, ВНИИ птицеперерабатывающей промышленности и редакции журнала «Птица и птицепродукты».

В связи с этим в нашем издании будут меняться банковские реквизиты. По этой причине оформить **годовую подписку на 2016 г.** вы сможете только в марте т.г. (реквизиты будут указаны во втором номере журнала). После поступления оплаты на счет редакции вам сразу же будут высланы первый и второй номера журнала.

Контактные телефоны:

+7(495) 944-56-26;

+7(495) 944-61-58