

Всемирная научная ассоциация по птицеводству (ВНАП)
Российское отделение
НП «Научный центр по птицеводству»



*Материалы
XVIII Международной конференции*
**ИННОВАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ
ЯИЧНОГО И МЯСНОГО
ПТИЦЕВОДСТВА РОССИИ**



Сергиев Посад 2015

МАТЕРИНСКИЙ ЭФФЕКТ В ПТИЦЕВОДСТВЕ – ОТ НУТРИГЕНОМИКИ К ВИТАГЕНАМ И КАЧЕСТВУ ЦЫПЛЯТ

Питер Сурай, д-р биол. наук, профессор

Университет Святого Иштвана, Годолло, Венгрия и Тракийский
Университет, Стара Загора, Болгария

Фисинин В.И., академик РАН, д-р с.-х. наук

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический
институт птицеводства

За последние 20 лет в науке о питании произошли по истине революционные изменения и термин «мы – то, что мы едим» постепенно трансформировался в «Мы – то, что наши бабушки с дедушками ели». В это трудно поверить, но, действительно, 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 поистине прорывом в науке. При этом, как часто это бывает в науке, ожидания ученых и общественности не оправдались. Когда данный проект расшифровки генома начинался, все средства массовой информации дружно описывали совершенно невероятные возможности результатов данной работы, от лечения множества генетически обусловленных болезней до создания новых видов животных. Однако, как оказалось, биология человека и животных значительно сложнее и расшифровка последовательности ДНК явилась лишь небольшим шагом в направлении понимания молекулярных основ жизни. Оказалось, что расшифровав генетический код, ученые столкнулись с другой проблемой – как определить какой ген включен и какой выключен и, что еще более важно, что является пусковым звеном в данном процессе. В этом отношении нутригеномика, изучающая влияние питания на экспрессию генов (Фисинин и др., 2006) явилась своеобразным трамплином для дальнейшего расширения и углубления исследований. Таким образом, родилось новое направление в науке, с названием «эпигенетика», то есть отрасль науки, рассматривающая молекулярные механизмы включения-выключения генов. Именно эпигенетика призвана объяснить, каким образом внешняя среда способна влиять на проявление внешних признаков (на формирование фенотипа) и, более того, найти объяснение тому, каким образом некоторые фенотипические признаки передаются будущим поколениям без изменения последовательности ДНК.

Механизмы включения-выключения генов. Ученые выяснили, что в организме существует по крайней мере три основных процесса/уровня, определяющие включение-выключения генов (Crews et al., 2012, 2014; Rissman and Adli 2014; Berghof et al., 2013).

Во-первых, это метилирование ДНК в области цитозина, которое по сути является выключателем активности гена. То есть, как только произошло метилирование цитозина в соответственном участке ДНК, возможность списывания информации с гена прекратилась, то есть, ген выключается. После того, как определенные ферменты производят деметилирование данного участка ДНК, ген снова включится – с него будет списываться информация и синтезироваться соответствующий белок. Таким образом процесс метилирования-деметилирования является своеобразным «включателем» активности генов.

Во-вторых, процесс ацетилирования лизиновых остатков гистонов в нуклеосоме тоже является вторым «включателем» генов. То есть, при ацетилировании гистонов изменяется упаковка ДНК в нуклеосоме и появляется возможность списывания информации, то есть активации гена. 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 и соответственно блокировать работу рибосом и, соответственно, предупреждать синтез белков уже на посттрансляционном уровне.

Таким образом, стало понятно, что многие пищевые вещества, включая бетаин, витамин В₁₂ 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-выключателей многих генов. В частности, был описан фактор транскрипции Nrf2, который отвечает за включение генов, ответственных за синтез основных антиоксидантных ферментов и ряда других антиоксидантных молекул (Ma, 2012). Данный фактор находится в цитоплазме в неактивном, связанном со специальным белком-репрессором (Keap1) состоянии. При этом период полураспада данного комплекса составляет всего лишь 20 минут, 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 промотерной части

многих антиоксидантных генов. Это приводит к активации генов и начинается синтез дополнительных антиоксидантных молекул, включая антиоксидантные ферменты, ферменты синтеза глутатиона, ферменты детоксикации чужеродных веществ и др. Следует подчеркнуть, что недавно описаны и другие механизмы активации Nrf2, но суть осталась прежней – в результате такой активации 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- κ B (Buelna-Chontal and Zazueta, 2013; Pedruzzi et al., 2012). Интересно отметить, что так же, как и Nrf2, он тоже находится в плазме в связанном с белком-репрессором (I κ B) виде и также как и 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 в противоположность Nrf2, то есть, во многих случаях для восстановления редокс-потенциала клетки необходима активация Nrf2 и ингибирование NF- κ B.

Активация витагенов – основа повышения резистентности к стрессу. Еще одним механизмом регуляции защиты от стрессовых ситуаций является активация витагенов, о которых мы упоминали ранее в наших публикациях (Фисинин и Сурай, 2011, 2012, 2013; Сурай и Фисинин, 2012). При этом, эти гены отвечают за синтез не только белков теплового шока, обеспечивающих поддержание конформационно структуры и соответственно активности многих белков в стресс-условиях, но также отвечают за 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 и Е, и др.) способны поддерживать активность витагенов на оптимальном уровне, снижая отрицательные последствия различных стрессов.

Каким же образом можно связать с первого взгляда разрозненные данные, приведенные выше о экспрессии генов, эпигенетике, факторах транскрипции и витагенах?

Связующим звеном является стресс. По сути дела, во многих случаях в стресс-условиях задействованы все вышеуказанные механизмы и во многих случаях именно стресс, ответственный за запуск целого каскада событий, направленных на адаптацию организма и его выживание в условиях стресса. После рассмотрения вышеука-

занных моментов, значительно легче понять механизмы материнского программирования.

Материнское программирование. Материнское программирование – это, пожалуй, одно из наиболее быстроразвивающихся направлений современной биологии. Именно это направление призвано ответить на вопрос о механизмах передачи некоторых фенотипических признаков будущим поколениям без изменения генов/ДНК. Краеугольным камнем данного направления в науке являются многочисленные наблюдения связи между условиями жизни и питания людей в различных местах обитания и здоровьем их потомства. Так, были проведены детальные обследования потомков многих голландцев, переживших голод в годы ВОВ. Благодаря детальным медицинским записям удалось выяснить, что вышеупомянутый голод у родителей и прауродителей сказался на их детях и внуках, способствуя развитию различных заболеваний. Описаны и другие наблюдения, совершенно точно подтверждающие, что неблагоприятные условия внешней среды сказываются на потомстве без изменения структуры ДНК. Дальнейшие исследования на лабораторных животных позволили экспериментально подтвердить, что, например, различные токсические вещества (гербициды и др.), потребляемые крысами, способны вызывать существенные метаболические изменения у их потомства во втором-третьем поколениях.

Многочисленны наблюдения на животных и по влиянию алкоголя, потребленного материнским организмом на изменения в потомстве второго-третьего поколений. Интересны также наблюдения на насекомых, например, пчелах, свидетельствующие о том, что питание определяет, что получится из личинок пчел – простая пчела или матка.

Сегодня ученые все чаще сходятся во мнении в том, что поголовное ожирение людей в таких странах как США, связано не только и не столько с неправильным питанием людей, а, вероятно, является следствием неправильного питания их дедушек и бабушек. Есть основания полагать, что значительное увеличение случаев диабета также связано с неправильным питанием в предыдущих поколениях. 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 его дней жизни, то есть до 80–90 лет. В это пока трудно поверить, но последние достижения в области эпигенетики позволяют частично объяснить механизмы таких возможных последствий. Более того, можно с уверенностью сказать, что различные стрессы, перенесенные беременной женщиной, сказываются не только на ее будущем ребенке, но могут вызвать определенные изменения в следующих поколениях ее потомства (Babenko and Kovalchuck 2015; Estampador and Franks 2014; Lane 2014).

Материнское программирование в птицеводстве. Все вышеописанное относилось к людям и лабораторным животным и на первый взгляд вряд ли применимо в птицеводстве. Дальше мы попытаемся убедить читателей в том, что материнское программирование в птицеводстве – это новое направление исследований, обещающее помочь промышленному птицеводству.

Птица в промышленных условиях отличается от млекопитающих тем, что как только яйцо снесено, оно уже не имеет связи с родителями и все, что может материнский организм сделать – это перенести в яйцо все необходимое для питания эмбриона и вылупления здорового птенца. В этом отношении, понятно, что в первые две недели эмбрионального развития птиц основным источником питания является белок и в последнюю неделю эмбрион практически исключительно питается за счет желтка (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 обнаруживаются 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 сразу отметить, что количество стрессов, с которыми сталкивается птица в процессе жизни, весьма значительно. Это могут быть как кормовые стрессы (микотоксины, окисленные жиры, дисбаланс питательных и биологически-активных веществ), так и средовые (повышенная или пониженная температура, загазованность и т.д.), социальные (взаимоотношения кур и петухов, иерархия в стаде, подсадка петухов, ограниченное кормление и т.д.) или же внутренние (вакцинация, вирусные или бактериальные инфекции) стрессы. Таким образом, стрессы способны, с одной стороны, привести к снижению потребления корма (например, микотоксины или высокая температура) и нарушению структуры кишечника, что приведет к дисбалансу питательных и биологически-активных веществ, снизит яйценоскость, приведет к ухудшению качества скорлупы и т.д. Результатом этого могут быть также изменения в составе яиц, включая жирные кислоты, жирорастворимые витамины и селен. Потенциально, вышеупомянутые изменения могут повлиять на развитие эмбриона и в результате оказать влияние на продуктивные и воспроизводительные качества птицы, полученной из этих яиц. Могут ли эти изменения оказать определенное влияние на следующее поколение, если это, например, прародительское стадо? Принимая во внимание последние достижения в области эпигенетики, можно ответить на данный вопрос утвердительно.

С другой стороны, в настоящее время 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. Нам представляется, что именно этот механизм, наиболее вероятно, способен оказывать существенное влияние на эпигеном и способен изменять продуктивные и воспроизводительные характеристики будущего потомства. Таким образом, по нашему глубокому убеждению, разработка приемов снижения отрицательного влияния стрессов на птицу родительского стада является одной из основополагающих задач для птицеводов.

В этом отношении, использование антистрессового препарата Меджик Антистресс Микс, разработанного нами ранее на основании концепции витагенов, показало положительные результаты (Сурай и Фисинин, 2012). При этом выпаивание антистрессового препарата оказывает положительный эффект, как при посадке птицы и ее развитии в первые дни жизни (Фисинин и Сурай, 2012), так и при контаминации корма микотоксинами, включая ДОН (Фисинин и Сурай, 2012), охратоксин (Фисинин и Сурай, 2012) и Т-2 токсин (Фисинин и Сурай, 2012), а также при иммуносупрессии (Фисинин и Сурай, 2013).

Так, в препарат включены бетаин, метионин и витамин В₁₂ в качестве доноров метильных групп, необходимых для метилирования ДНК и регулирования активности генов через эпигенетические механизмы. С другой стороны, включение в препарат карнитина, аскорбиновой кислоты, витаминов А и Е и ряда других веществ способствуют поддержанию высокой активности витагенов и снижению отрицательного влияния стрессов. Кроме того, комплекс антиоксидантов, включая эффективную рециклизацию витамина Е, позволяет, с одной стороны, поддерживать высокую активность фактора транскрипции Nrf2 и, соответственного синтеза антиоксидантных ферментов и других защитных веществ, а с другой стороны, предупреждает преждевременную активацию фактора транскрипции NF-κB и, соответственно, снижает развитие воспалительных процессов в организме, включая возможные воспаления в яйцеводе и в скорлупном отделе кишечника.

Испытание антистрессового препарата на курах родительского стада кур. Подтверждением эффективности концепции витагенов являются исследования проведенные на Боровской птицефабрике Латыповой и Шацких (2013–2014) на родительском стаде кур кросса Ну Line. В целом, в исследованиях было использовано 53400 голов птицы (Латыпова, 2014). При использовании с выпоек препарата Меджик Антистресс Микс ремонтному молодняку, было отмечено увеличение массы семенников петушков в 15-недельном возрасте (Шатских и Латыпова, 2014), а также в 26- и 56-недельном возрасте (Шатских и Латыпова, 2013), при этом отмечалось повышение концентрации витамина А в печени птицы различных возрастов (Шатских и Латыпова, 2014). Выпаивание антистрессового препарата курам родительского стада повысило 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 было на 6 яиц больше, чем в контрольной группе птицы (Шатских и Латыпова, 2013).

Интересным фактом является улучшение качества скорлупы в экспериментальной группе кур, где было отмечено достоверное увеличение прочности скорлупы (Латыпова и Шатских, 2014). Использование антистрессовой композиции с водой улучшило оплодотворенность на 16-, 40-, 48- и 56-недели жизни на 2,5; 2,7; 2,8 и 3,7%, соответственно. При этом вывод молодняка на 26, 32, 40, 48 и 56 недели возрос на 3,6; 2,1; 3,4; 4,9 и 4,3%, соответственно (Латыпова, 2014). Интересно отметить, что использование препарата позволило увеличить концентрацию незаменимых аминокислот в крови кур-несушек (Фотина, 2011).

Было также отмечено положительное влияние антистрессового препарата выпаиваемого курам родительского стада на потомство в 4-недельном возрасте. Так, цыплята, полученные от родительского стада, получавшего антистрессовый препарат 26-, 32-, 40-, 48- и 56-недельного возраста характеризовались улучшенной однородностью в 28-дневном возрасте, в сравнении с контролем, на 14,0; 8,7; 14,4; 7,5 и 11,7%, соответственно (Латыпова, 2014; Латыпова и Шацких, 2014). Положительное влияние использования антистрессового препарата в рационе кур родительского стада было подтверждено в производственной проверке (Латыпова и др., 2014). Таким образом, в вышеупомянутых исследованиях было убедительно продемонстрировано, что снижение стрессов у ремонтного молодняка и родительского стада кур породы Ну Line, за счет выпаивания антистрессового препарата Междик Антистресс Микс, позволило повысить их воспроизводительные качества и положительно сказалось на потомстве.

Другие подтверждения влияния кормления родительского стада кур на потомство. Исследования, проведенные в Голландии показали, что скармливание 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 (Rebel et al., 2006). При этом активированные гены отвечали за развитие кишечника.

Наши исследования показали, что селен в рационе родительского стада перепелов положительно сказывается на концентрации селена в тканях 2-недельных перепелят (Surai et al., 2006).

Наши исследования на курах родительского стада показали, что селен в их рационе положительно сказывается на его концентрации в печени и мышцах 4-недельного потомства (Pappas et al., 2005).

В исследованиях, проведенных в университете штата Калифорния (Девис) было показано, что цыплята, вылупившиеся из яиц с низким

содержанием каротиноидов страдают нарушением усвоения каротиноидов из рациона в 4-недельном возрасте (Koutsos et al., 2003, 2007)

В исследованиях в Китае было продемонстрировано, что селен в рационе родительского стада кур положительно сказывается на конверсии корма цыплят вплоть до 56-дневного возраста (Wang et al., 2011).

Недавние исследования, проведенные в Канаде и опубликованные в *Poultry Science*, свидетельствуют о том, что рацион родительского стада, особенно в период выращивания ремонтного молодняка, влияет на рост и выход тушек бройлеров, полученных от молодых родителей (Moraes et al., 2014). 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 грудной мышцы также зависел от энерго-протеинового отношения в рационе родительского стада в период перехода от рациона выращивания к рациону периода яйцекладки.

Из анализа современной литературы можно заключить, что в различные 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 суммировать следующим образом:

Снесение яиц и 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; выращивание ремонтного молодняка и ограниченное питание и голодные дни.

Исследования последних лет убедительно доказали, что кормление родительского стада и различные стрессы 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. 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.