

Верная стратегия защиты от стрессов

Йылдырым Е.А., Лаптев Г.Ю., Тюрина Д.Г., Новикова Н.И., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Дубровин А.В., Дубровина А.С., Калиткина К.А., Пономарева Е.С., Полищук А.А., Ключникова И.А., Ахматчин Д.А.

ООО «БИТРОФ+», Санкт-Петербург



Высокая продуктивность животных и птиц имеет связь с низким адаптационным потенциалом и повышенной чувствительностью к стрессам, в частности, тепловым и кормовым. Негативные эффекты могут быть смягчены применением метапробиотика Пробиоцид-Ультра с иммуностимулирующими, противовоспалительными и другими полезными свойствами. Применение биопрепарата позволяет регулировать транскриптом организма, что позитивно сказывается на состоянии здоровья и продуктивности животных и птиц. Так, введение в рацион птиц метапробиотика на фоне теплового стресса приводило к снижению в тканях слепых отростках кишечника птиц экспрессии провоспалительных генов, таких, как PTGS2, и гена апоптоза Casp6.

Большинство птицефабрик стремятся повысить продуктивный потенциал своего поголовья за счет использования лучших ресурсов мирового генофонда, от которых ждут высокой продуктивности. Однако следует помнить, что не только ДНК обуславливает признаки организма. Важным механизмом, определяющим, насколько будут активны те или иные гены, является их экспрессия. Это фактическая работа генов в процессе развития организмов, которая имеет связь не только с последовательностью ДНК, а включает в себя еще и этап синтеза РНК. Большинство генов могут не активироваться никогда. То есть генетический потенциал у двух животных или птиц может быть абсолютно одинаковым, но из-за различий в экспрессии определенных генов он будет по-разному проявляться фенотипически. В условиях интенсивного животноводства и птицеводства многочисленные производственные стрессы – средовые, кормовые, технологические – изменяют экспрессию генов в негативную сторону, поэтому во многих хозяйствах реализовать генети-

ческий потенциал своих животных в полной мере не удается.

Последствия теплового стресса. Нормальная температура тела бройлеров колеблется в диапазоне 41-42°C, в то время как зона их теплового комфорта находится в пределах 20-36°C, в зависимости от периода выращивания. Летом в производственных цехах птицефабрик система охлаждения нередко не справляется с поддержанием комфортного для птиц температурного режима. Когда температура окружающей среды отклоняется от термонейтральной зоны, это вынуждает организм птицы привлекать имеющиеся ресурсы для рассеивания тепла. Среди других организмов птица подвергается самому высокому риску для здоровья при повышении температуры окружающей среды, поскольку она не имеет функциональных потовых желез, в то же время температура ее тела и скорость метаболизма достаточно высоки. Было высказано предположение, что современные генотипы домашней птицы выделяют еще больше тепла из-за повышенной метаболической активности.

Последствия теплового стресса для птиц многогранны и включают изменения в поведении (например, вялость, снижение потребления корма, затрудненное дыхание), метаболизме (накопление жира, уменьшение скорости роста скелетных мышц), общем гомеостазе (иммунодефицит, алкалоз, гормональный дисбаланс, воспаление и окислительный стресс), функциях желудочно-кишечного тракта (расстройства пищеварения и всасывания, энтерит, нарушение кишечного барьера и дисбактериоз). Итогом выхода из зоны комфорта является снижение потребления корма, резистентных, продуктивных и репродуктивных качеств птиц и даже летальный исход, что приводит к серьезным экономическим потерям. Так, например, неудовлетворительный микроклимат на птицеводческих предприятиях наносит ущерб в виде снижения среднесуточного прироста у бройлеров в среднем на 10%. Тепловой стресс также связан с появлением дефектов качества мяса птицы, он может ускорить посмертную деградацию мышечного гликогена до молочной

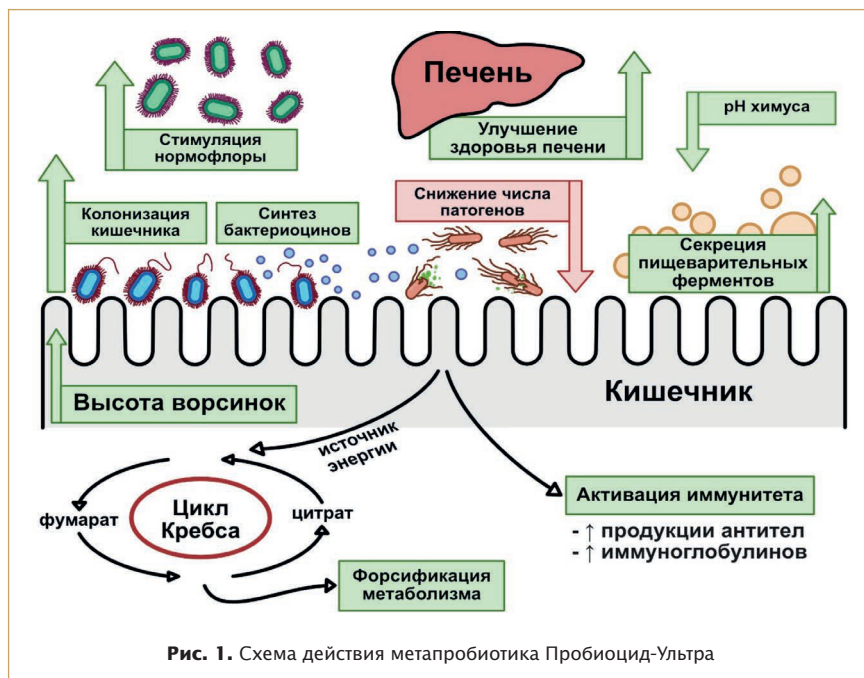


Рис. 1. Схема действия метапробиотика Пробиоцид-Ультра

кислоты, что приводит к быстрому снижению рН мышц после убоя. Это денатурирует мышечные белки, в результате чего мясо имеет низкую водоудерживающую способность и бледный цвет.

Механизм развития теплового стресса заключается в инициации оттока крови от внутренних органов к поверхности тела, что ускоряет отведение тепла, но провоцирует гипоксию. В результате сокращается площадь всасывания в кишечнике, повреждаются ворсинки и увеличивается проницаемость кишечного барьера для патогенов и эндотоксинов. Баланс микробиома при этом нарушается. Параллельно происходит снижение иммунитета: иммунные органы, такие, как бурса, тимус и селезенка, регрессируют и уменьшаются в размерах, а также отмечается падение уровня антител, лейкоцитов и лимфоцитов. По названным причинам птица становится значительно более восприимчивой к инфекционным заболеваниям.

Как избежать теплового стресса? Для снижения стрессов принято использовать добавки с селеном и ряд витаминов, одна-

ко биодоступность таких веществ, в основном, низкая. Что касается селена, то его токсическая доза крайне мала и сопоставима с минимальным терапевтическим эффектом. То есть даже незначительная передозировка, которая может возникнуть при его высоком содержании в кормах и в организме, вызывает побочные эффекты. Чаще недостаток селена наблюдается у цыплят, цесарят, индюшат, гусят и утят в возрасте 2 недель, иногда 6-10 дней. Селенодефицит в более старшем возрасте, особенно у высокопродуктивной птицы, наблюдается значительно реже.

Поэтому в настоящее время главным принципом борьбы с тепловыми стрессами считается естественная активация собственных резервов организма, прежде всего, восстановление иммунитета и улучшение здоровья кишечника и его микробиома. Эффективной антистрессовой защитой является метапробиотик нового поколения Пробиоцид-Ультра (НПК «БИОТРОФ»), объединяющий комбинацию естественных бактериальных метаболитов (фумаровой

и лимонной кислот) и двух штаммов *Bacillus spp.*, действующих в синергизме. Пробиоцид-Ультра не только эффективно стимулирует рост нормофлоры кишечника, выполняя функции классического пробиотика, но и в разы повышает способность подавлять рост патогенных бактерий благодаря подкисляющей способности органических кислот (рис. 1). Кроме того, биопрепарат позитивно действует непосредственно на организм хозяина, прежде всего, повышая уровень резистентности за счет регуляции экспрессии генов иммунитета, активирует работу пищеварительных ферментов, стимулирует восстановление клеток эпителия.

В условиях вивария был проведен опыт по скармливанию метапробиотика Пробиоцид-Ультра цыплятам-бройлерам кросса Росс-308. Было сформировано 2 группы: контрольная, получавшая основной рацион (ОР) и опытная, получавшая в дополнение к ОР метапробиотик Пробиоцид-Ультра. Птица контрольной и опытной групп на протяжении выращивания подвергалась воздействию повышенных температур, не соответствующих рекомендациям компаниям Aviagen (выше верхней границы нормы от 1 до 12°C в зависимости от периода содержания).

Измерение различных физиологических и зоотехнических параметров может дать представление о степени стресса, испытываемого птицей. Темпы роста коммерческих цыплят-бройлеров обычно высоки, однако оптимальный рост птицы возможен только тогда, когда она выращивается в благоприятных условиях микроклимата. Как видно из рис. 2, применение метапробиотика Пробиоцид-Ультра позволило снизить негативные последствия те-



Рис. 2. Влияние метапробиотика на продуктивность бройлеров в условиях теплового стресса

плового стресса, что выражалось в улучшении зоотехнических показателей: сохранности поголовья, живой массы и конверсии корма. Так, например, при применении метапробиотика удалось избежать 9,3% дополнительных потерь поголовья.

Иммунная система птиц на фоне теплового стресса заслуживает особого внимания, поскольку она проявляет наибольшую чувствительность к данному негативному фактору: резистентность к патогенам падает, а вакцинации становятся неэффективными. Наиболее разрушительные последствия стресса проявляются в кишечнике, который является самой обширной областью тела, подвергающейся воздействию окружающей среды, и местом нахождения большинства иммунных клеток.

Как видно из рис. 3, введение в рацион птиц метапробиотика приводило к снижению в тканях слепых отростках кишечника экспрессии провоспалительных генов, таких, как *PTGS2*, и гена апоптоза (клеточной гибели) *Casp6*. Параллельно отмечено значительное стимулирующее влияние биопрепарата на гены β-дефензинов 9 и 10. Так, уровень экспрессии *Gal9* в опытной группе повышался в 181 раз по сравнению с контролем, *Gal10* – в 130,1 раза. Это важный вывод, поскольку тепловой стресс

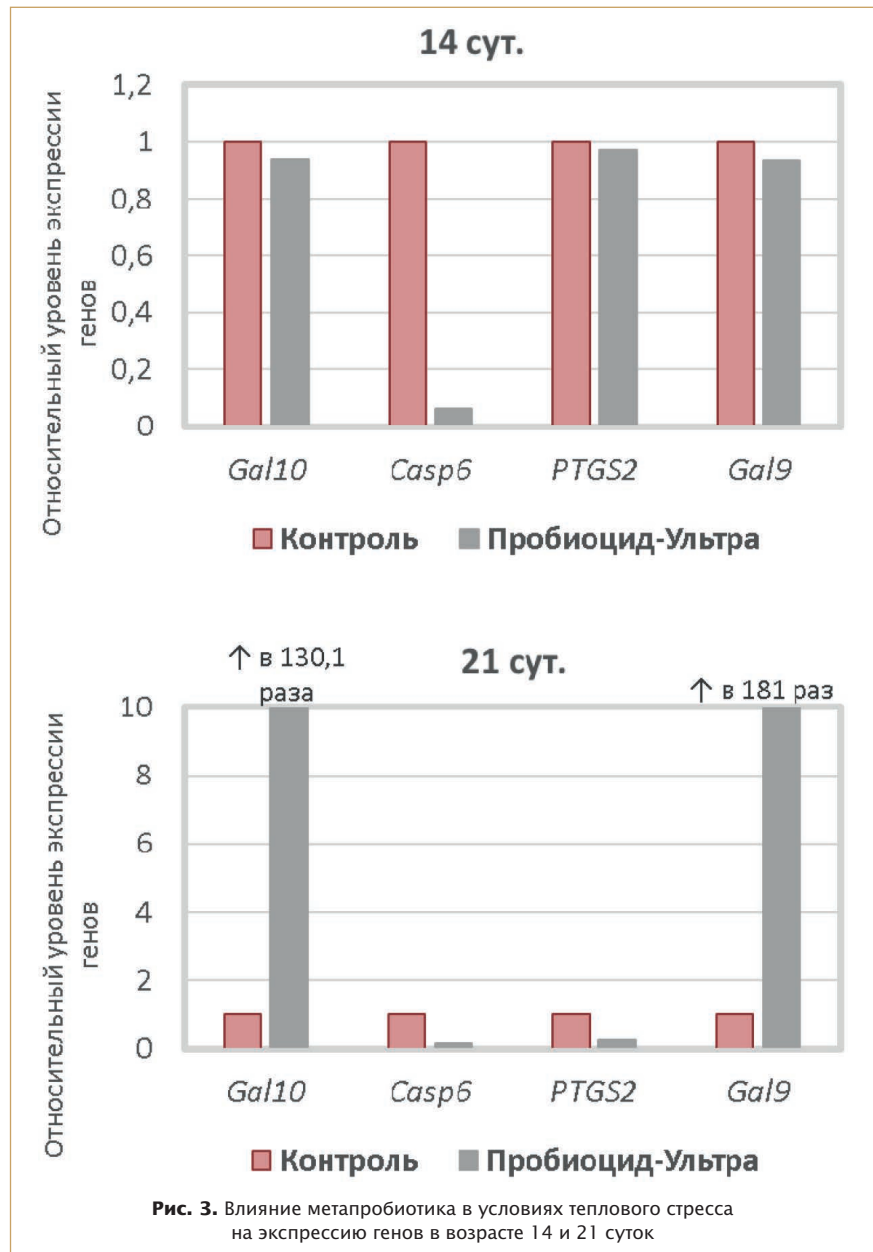
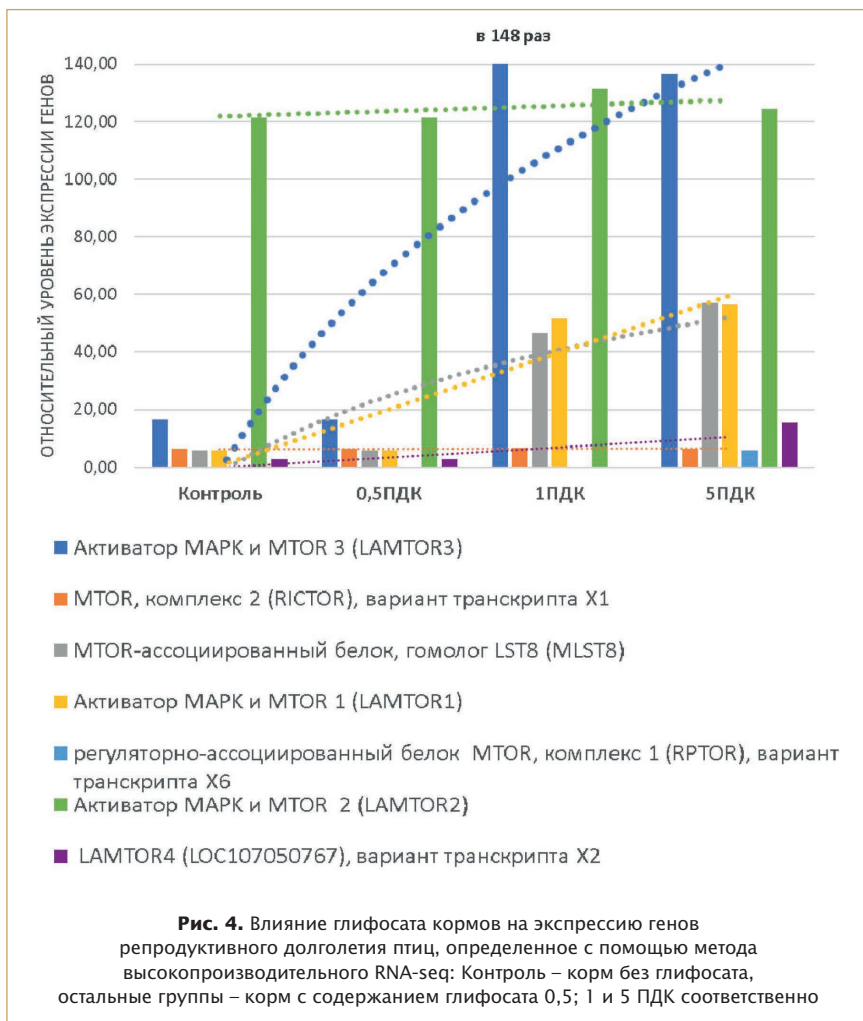


Рис. 3. Влияние метапробиотика в условиях теплового стресса на экспрессию генов в возрасте 14 и 21 суток

обладает иммуносупрессивным потенциалом. Одним из основных факторов, влияющих на снижение продуктивности птиц в усло-

виях стресса, является стимуляция воспалительных процессов в кишечнике. Ключевой момент для запуска этих процессов – потеря



целостности кишечного барьера, которая имеет связь с апоптозом. Нарушенный кишечный барьер – это ворота для патогенов просвета кишечника. Увеличение экспрессии β-дефензинов под влиянием метапробиотика Пробиоцид-Ультра играет значительную роль в защите от этих инфекций. Ведь дефензины являются факторами, участвующими во врожденном иммунитете, они обладают антимикробной активностью в отношении различных патогенов, включая Грам-отрицательные и Грам-положительные бактерии, вирусы и грибы.

То есть механизм действия пробиотика заключается в воздействии на определенные гены иммунитета в условиях стресса (снижении воспаления и усилении защиты от ин-

фекций), что увеличивает адаптационный потенциал птицы в экстремальных условиях. При применении метапробиотика в организме более интенсивно протекают метаболические реакции, правильной происходит расход энергии, птице легче стабилизировать тепловое равновесие между внутренней средой организма и климатом в помещении. Происходит более полное усвоение компонентов рациона. Все это способствует улучшению зоотехнических показателей.

Механизм развития кормовых стрессов. Присутствие в большинстве компонентов рациона птиц ксенобиотиков, включая микотоксины и остаточные количества пестицидов – это одна из основных причин кормовых стрессов. Так, повсеместное использование

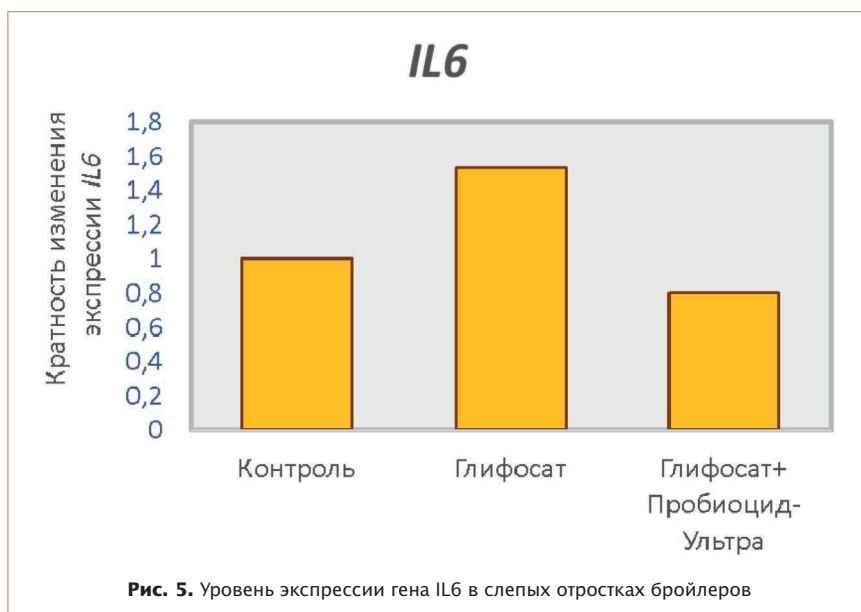
гербицидов с начала их применения увеличилось в геометрической прогрессии. Глифосат – наиболее распространенный гербицид широкого спектра действия, входящий в состав препарата Roundup («Monsanto»). В 1990-е гг. производители создали устойчивые к нему генно-модифицированные сельскохозяйственные культуры – сою, кукурузу, хлопок. С тех пор этот гербицид – самый распространенный в мире. Зерновые, кукуруза и соя – основные компоненты кормов для сельскохозяйственных птиц. Устойчивые к данному гербициду культуры содержат глифосат и/или его метаболиты в широком диапазоне концентраций. Тем не менее, глифосат считался малотоксичным для животных и растений. Процесс обрушения мифа о безопасности начался, когда ученые Международного агентства по исследованиям рака (IARC) в результате собственного исследования классифицировали это действующее вещество как «вероятно канцерогенное».

При поддержке гранта Российского научного фонда №22-16-00128 (руководитель – д.б.н. Лаптев Г.Ю.) впервые в России мы получили уникальные результаты анализа дифференциальной экспрессии всех генов, присутствующих в геноме, в тканях кишечника у птиц с помощью высокопроизводительного РНК-секвенирования (RNA-seq) на фоне различных дозировок глифосата. Анализ выполняли при использовании наборов TruSeq Stranded mRNA и MiSeq Reagent Kit v3 - 150 (Illumina, США). В результате биоинформатической обработки данных при помощи программного обеспечения Salmon удалось получить исчерпывающую информацию об изменениях транскриптома (совокупности

всех экспрессирующихся генов организма) в ответ на влияние гербицида: экспрессии 33 тысяч генов. Результаты наших исследований оказались достаточно тревожными: глифосат, содержащийся в кормах для птиц, даже в минимальных концентрациях, которые в несколько раз ниже уровней ПДК для кормов, при хроническом воздействии негативно влиял на экспрессию аж 11 тысяч генов. В частности, глифосат вызывал активацию (от десятков до тысяч раз и более) генов апоптоза (т.е. клеточной гибели) (*Casp1*, *Casp2*, *Casp6*, *Casp8*, *Casp9*), провоспалительных интерлейкинов (*IL1 β* , *IL4*, *IL7*, *IL8*, *IL10*, *IL15*, *IL18*, *IL22*), онкогенов (*RAB11A*, *RAB11B*, *RAB10*, *RAB27A*, *RAB9A*, *CRK*, *ETS1*) и др. Как уже было отмечено, воспаление и апоптоз могут вызывать изменения проницаемости мембран эпителиальных клеток кишечника, некроз слизистой, диарею. Повреждения эпителия кишечника приводят к проникновению патогенов, продуктов их жизнедеятельности и токсинов в кровотоки.

Одновременно глифосат резко ингибировал экспрессию генов, связанных с продуктивностью: кальций-связывающих белков, генов, отвечающих за функционирование электрон-транспортной цепи в митохондриях клеток, инсулиноподобных факторов роста, рибосомального белка S6 протеинкиназы и др. Это выражалось в снижении показателей иммунитета, изменении биохимических параметров крови, активности пищеварительных ферментов, снижении продуктивности птиц.

Кроме того, глифосат увеличивал экспрессию генов, кодирующих различные субъединицы белка mTOR (рис. 4), причем эффект, в основном, был дозозависимым.



Ген *mTOR* (mammalian target of rapamycin) играет важную роль в процессах «старения» организмов. Известно, что «блокировка» активности гена *mTOR* продлевает репродуктивное долголетие домашней птицы. Поэтому полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что присутствие глифосата в кормах – это важный, но неучтенный фактор риска снижения репродуктивного долголетия несушек, действующий через «поломку» генетической программы.

Противостоять кормовым стрессам. Исследования ученых НПК «БИОТРОФ» показали, что влияние токсичных кормов на нарушения экспрессии генов и состава микробиома можно снизить с помощью изменения стратегий кормления. Введение биопрепарата Пробиоцид-Ультра на фоне присутствия глифосата в кормах приводит к нормализации экспрессии провоспалительных генов, генов апоптоза, иммунной защиты и генов продуктивности (рис. 5). Поэтому он повышает уровень резистентности, нарушенный токсинами, активирует работу ферментов, стимулирует обновление клеток

эпителия, что позитивно сказывается на регуляции пищеварительных процессов, профилактирует диарею и приводит к увеличению продуктивности птиц.

Подводя итоги. Достижения последних лет в области генетики и селекции позволили существенно увеличить продуктивность животных и птиц. Это выдвинуло ряд новых проблем. Оказалось, что высокая продуктивность имеет связь с низким адаптационным потенциалом и повышенной чувствительностью к стрессам, в частности, тепловым и кормовым. Негативные эффекты могут быть смягчены применением метапробиотика Пробиоцид-Ультра с иммуностимулирующими, противовоспалительными и другими полезными свойствами. Применение биопрепарата Пробиоцид-Ультра позволяет восстанавливать состояние микробиома и регулировать транскриптом организма, что позитивно сказывается на состоянии здоровья и продуктивности животных и птиц.

Исследования выполнены за счет гранта РНФ №22-16-00128.

