

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ПРОСТАГЛАНДИНАМИ, У БРОЙЛЕРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛИФОСАТА И ПРОБИОТИКА

Д.Г. ТЮРИНА¹, Г.Ю. ЛАПТЕВ², Е.А. ЙЫЛДЫРЫМ^{2,3}, Л.А. ИЛЬИНА^{1,2,3},
В.А. ФИЛИППОВА^{2,3}, К.А. КАЛИТКИНА^{1,3}, В.В. МОЛОТКОВ¹

¹ООО «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург

²ООО «БИОТРОФ+», г. Санкт-Петербург

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный
аграрный университет

Аннотация. Присутствие остаточных количеств гербицида глифосата в кормах для промышленной птицы – это достаточно распространенная проблема. Наши эксперименты мы проводили в виварии ООО «БИОТРОФ+» на бройлерах кросса «Росс 308». Для проведения эксперимента птиц разделили на 3 группы: 1 контрольная, получавшая рацион без введения добавок, 2 опытная – получавшая рацион с добавлением глифосата, 3 опытная - получавшая рацион с добавлением глифосата и штамма микроорганизма *Bacillus* sp. ГЛ-8. Анализ экспрессии генов слепых отростков кишечника бройлеров проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией. Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для следующих исследованных генов простагландинов: *PTGER3*, *PTGER4*, *PTGR1*, *PTGDS* и *PTGES*. Реакции амплификации проводили с использованием *SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix* (Bio-Rad). Впервые в нашем исследовании показано, что воздействие глифосатов на сельскохозяйственную птицу происходит, в том числе, через изменение активности ключевых генов, связанных с метаболизмом простагландинов. Глифосат, введенный в корма птиц в количестве, соответствующем одному ПДК, выступал в роли индуктора экспрессии генов рецепторов простагландинов (*PTGER3* и *PTGER4*), катаболизма простагландинов (*PTGR1*) и синтеза простагландинов (*PTGDS* и *PTGES*) в

слепых отростках кишечника бройлеров. Так, уровни экспрессии мРНК гена *PTGER3* и гена *PTGER4* при воздействии глифосата (группа 2) активировались в 1,87 и 1,91 раза по сравнению с контрольной группой 1, генов *PTGDS* и *PTGES* - в 1,35 раза, гена *PTGR1* - в 1,87 раз ($P \leq 0,05$). В дальнейшем гены *PTGER3*, *PTGER4*, *PTGDS* и *PTGR1* могут быть использованы в качестве возможных терапевтических мишеней при токсикозах, вызванных, в частности, глифосатами кормов. Пробиотический штамм *Bacillus sp.* ГЛ-8, вероятно, восстанавливал микробиоту, тем самым, усиливая ее протекторное действие в отношении токсикантов, в частности, ее метаболические функции биодеструкции. Это выражалось в «сглаживании» уровня активности гена *PTGR1* до уровня контрольной группы, а также снижении активности *PTGDS*, *PTGES* и *PTGER3*. Позитивные сдвиги в изменении транскрипции генов простагландинов под влиянием штамма пробиотического микроорганизма свидетельствуют о перспективе использования пробиотиков как инструмента выравнивания физиологического дисбаланса на фоне загрязнения корма токсическими веществами.

Ключевые слова: глифосат, бройлеры, экспрессия генов, простагландины, пробиотик

Введение

Одной из основных целей птицеводства, как и любой другой производственной системы, всегда будет предотвращение риска и последствий заболеваний. Инфекционные агенты, токсины, дисбаланс в кормлении, скученность поголовья или другие внешние стрессоры могут индуцировать активность иммунных реакций, которые с одной стороны, контролируют негативное воздействие и обеспечивают защитные реакции, а с другой - приводят к повреждению тканей хозяина и вызывает пролиферацию клеток, воспаление и апоптоз. Будучи связующим звеном между внешним миром и внутренней средой организма, пищеварительная система является защитным

барьером от воздействия веществ, способных нарушать течение биологических процессов, например, остаточных количеств пестицидов. С другой стороны, кишечник особенно чувствителен к повреждениям, в частности, опосредованным его собственными иммунными реакциями, и, как правило, гиперпродукция некоторых генов иммунитета становится основной причиной патогенеза. Хорошо изучено, что высвобождение провоспалительных цитокинов вызывает у птиц пирексию, анорексию, потерю веса и апатию. Появляются и отдельные сообщения, касающиеся связи заболеваний кишечника и активности генов простагландинов (Murcia, Diaz, 2021), однако, этот вопрос изучен слабо и в этой области остаётся больше вопросов, чем ответов. Интересно, что ряд исследователей видят ключевую роль экспрессии генов простагландинов и в возникновении аномалий скелета у птиц, прежде всего, дисхондроплазии большеберцовой кости (Rath et al., 2007), приводящая к хромоте, снижающей валовую прибыль подотрасли примерно на 10-40%. При этом точная этиология заболевания до сих пор неизвестна. Из этого следует, что изучение функционирования простагландинов у птиц представляет фундаментальный и практический интерес.

Простагландины, такие, как E_2 , D_2 , I_2 , $F_{2\alpha}$, тромбоксан A_2 и другие, - представляют собой липиды, производные 20-углеродных жирных кислот. Они встречаются во всех тканях и органах и опосредуют различные физиологические и патологические реакции. Простагландины синтезируются в клетках животных, птиц и человека из различных предшественников незаменимых жирных кислот, включая арахидоновую кислоту, действуя аутокринным / паракринным образом через рецепторы (подтипов DP_1 , DP_2 , EP_1 , EP_2 , EP_3 , EP_4), связанные с G-белком. Простагландины вырабатываются в ответ на многие факторы, в основном в результате индукции циклооксигеназы-2.

До настоящего времени попытки выяснить точную функцию и механизм действия простагландинов пока не увенчались успехом, поскольку они индуцируются множеством факторов, которые оказывают различное действие на организм, в то же время, для них характерно временное действие, а регуляция

происходит на нескольких уровнях. Самым примечательным фактом является то, что они могут оказывать совершенно противоположные эффекты на организм. Так, например, они являются многофункциональными регуляторами костного метаболизма, стимулируя, с одной стороны, резорбцию, связанную с воспалением и потерей костной ткани, с другой стороны – участвуя в процессах формирования кости, связанного с заживлением переломов и гетеротопическим окостенением. Регулируя многие физиологические функции кишечника, включая защиту слизистой оболочки, желудочно-кишечную секрецию и моторику, при определенных условиях простагландины вызывают воспалительные заболевания пищеварительной системы и рост раковых опухолей.

На наш взгляд, наблюдение за экспрессией генов простагландинов может помочь пролить свет на их физиологические функции.

Есть указания на то, что воздействие некоторых пестицидов изменяют экспрессию ключевых генов в кишечнике, прежде всего, провоспалительных, приводящих к дисфункции пищеварительной системы. Опубликованы отдельные работы (Rath et al., 2007), указывающие на то, что некоторые пестициды, такие как, например, тетраметилтиурамдисульфид (тирам), провоцируют возникновение дисхондроплазии большеберцовой кости у птиц через регуляцию экспрессии простагландинов. Имеются сведения о том, что при воздействии ряда ксенобиотиков некоторые простагландины могут быть ассоциированы с усилением токсичности ксенобиотиков (Smith et al., 1991). Как не парадоксально, но, ряд простагландинов связывают также и с процессами восстановления физиологического баланса на фоне воздействия токсикантов на организм, в том числе, со стимуляцией клеточной антиоксидантной программы, которая способствует детоксикации ксенобиотиков. Однако на птице ранее подобные эксперименты не проводились.

Важно, что присутствие ксенобиотиков, в том числе, остаточных количеств гербицида глифосата, в кормах для промышленной птицы – это достаточно распространенная проблема (Тюрина, и др., 2021). Появляются

доказательства, что глифосаты могут оказывать негативное влияние на здоровье животных, птиц и человека (Szekacs, Darvas, 2018). Однако, в литературе полностью отсутствуют данные о влиянии глифосата на экспрессию генов простагландинов, которые могут внести вклад в усиление их токсичности, и, наоборот, участвовать в процессах детоксикации.

В то же время, важно разработать методы улучшения состояния здоровья птиц на фоне присутствия токсикантов в кормах. Пробиотические штаммы микроорганизмов могут принимать участие в детоксикации ксенобиотиков и оказывать влияние на экспрессию генов, а значит, активность ферментов. Это позволяет рассматривать полезные бактерии в качестве механизма обеспечения резистентности организма к действию токсикантов.

Целью нашего исследования было оценить изменение экспрессии спектра генов простагландинов у бройлеров на фоне загрязнения кормов глифосатом и введения в рацион пробиотического штамма *Vacillus* sp. ГЛ-8. Для этого была проведена количественная ПЦР с обратной транскрипцией с использованием специфических праймеров на гены.

Материалы и методы

Эксперименты проводили в виварии ООО «БИОТРОФ+» на бройлерах кросса «Росс 308» от 1 до 35-суточного возраста в 2022 году в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986). Условия кормления и содержания соответствовали требованиям для кросса бройлеров. Для кормления с 1 по 28 день выращивания применяли комбикорм ПК 5 для бройлеров, с 29 по 35 день - ПК 6 для бройлеров. В рацион всех групп, согласно традиционным производственным схемам выращивания бройлеров, вводили ветеринарные антибиотики энрофлоксацин и колистин с 1 по 5 день и флорфеникол с 17 по 20 день.

Для проведения эксперимента птиц разделили на 3 группы по 40 голов в каждой: 1 - контрольная, получавшая рацион без введения глифосата и пробиотического штамма микроорганизма, 2 опытная – получавшая рацион с

добавлением глифосата в количестве 20 мг/кг корма, что соответствовало 1 ПДК для продуктов питания (СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания»); 3 опытная - получавшая рацион с добавлением глифосата в количестве 20 мг/кг корма, а также пробиотического штамма микроорганизма *Bacillus* sp. ГЛ-8.

Для проведения производственного эксперимента применяли глифосат в составе препарата «Агрокиллер» (ЗАО фирма «Август», Россия), содержащий 500г/л глифосата кислоты (изопропиламинная соль). Для этого готовили рабочий раствор из препарата «Агрокиллер», рабочий раствор наносили на комбикорм методом распыления в соотношении на 1 кг комбикорма 5 мл рабочего раствора, до конечной концентрации чистого глифосата в комбикорме 20 мг/кг. Смешивание осуществляли механическим способом с соблюдением требований безопасности персонала.

После внесения глифосата, его концентрацию в корме контролировали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Кроме указанного, рацион бройлеров практически не содержал фоновых количеств глифосата, что свидетельствует о чистоте эксперимента. Для анализа содержания глифосатов методом ИФА в кормах и питательных средах использовали оборудование стриповый иммуноферментный анализатор STAT FAX 303+ (Awareness Technology, LLC, США) и тест-систему Glyphosate ELISA Microtiter Plate (Abraxis, США).

Для анализа экспрессии генов у бройлеров в конце эксперимента отбирали ткани слепых отростков кишечника бройлеров. Отобранные образцы немедленно стабилизировали с помощью реагента RNAlater. Все образцы были незамедлительно отправлены в молекулярно-генетическую лабораторию научно-производственной компании ООО «БИОТРОФ+» для выделения РНК.

Анализ экспрессии генов проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией, предварительным этапом которой было выделение РНК. Ткани измельчали путем смешивания с жидким азотом и

гомогенизировали. Тотальную РНК выделяли из образцов тканей с использованием мини-набора Aurum™ Total RNA (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), следуя инструкциям производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили для получения кДНК на матрице РНК с использованием iScript™ Reverse Transcription Supermix (Bio-Rad). Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для следующих исследованных генов протсагландинов: для гена EP₃ - рецептора простагландина E₂ *PTGER3* - F:TCTCGGCAGAAACCCAAAGC, R:CGGAGCAGCAGATAAAACCCAC; для гена подтипа EP₄ - рецептора простагландина E₂*PTGER4* - F:TCAGGAAAGCCATCGAGAAG, R:CTGCGACCATCCACACAATT; для гена простагландинредуктаза 1 *PTGRI*- F:AATAGAGGCTGGAGAACTCA, R:TCCCAAGTGCTAGAGATTTG; для гена простагландин-H2 D-синтазы *PTGDS* - F:GCACCTGCTGAAGATGTGTA, R:CCTCTTCTCGCACTGTTTAC; для гена простагландин-E-синтазы *PTGES* - F:TTCGCCTTCTACAGCACGAT, R:TTCTTCCTGAGCCTCACTTGT. В качестве референсного контроля использовали праймеры на ген «домашнего хозяйства» - белка бета-актина (*ACTB*).

Реакции амплификации проводили с использованием SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad) в соответствии с протоколом производителя с использованием амплификатора детектирующего ДТлайт (ДНК-Технология, Россия). Режим и условия амплификации соответствовали каждому праймеру. Оценка относительного уровня экспрессии проводилась с использованием метода 2⁻ΔΔCT.

Математическую и статистическую обработку результатов осуществляли методом многофакторного дисперсионного анализа (multifactor ANalysis Of VAriance, ANOVA) в программах Microsoft Excel XP/2003, R-Studio (Version 1.1.453) (<https://rstudio.com>). Различия считали значимыми при P≤0,05. Результаты представлены как средние (M) и стандартные ошибки средних (±SEM). Достоверность различий устанавливали по t-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при p≤0,05. Средние значения

сравнивались с использованием теста достоверно значимой разницы Тьюки (HSD) и функции TukeyHSD в пакете R Stats Package.

Результаты

Результаты анализа экспрессии генов рецепторов простагландинов.

Данные анализа относительных уровней транскриптов генов рецепторов простагландинов *PTGER3* и *PTGER4* в тканях слепых отростков бройлеров в ответ на введение глифосата и пробиотического штамма *Bacillus* sp. ГЛ-8 показаны на рисунке 1.

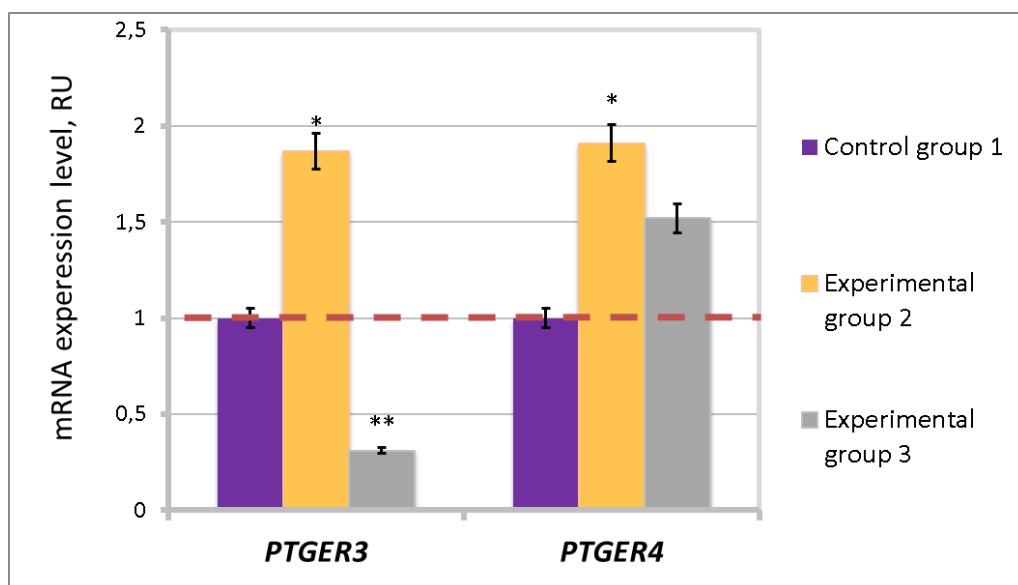


Рис. 1. Уровень экспрессии генов рецепторов простагландинов в слепых отростках кишечника бройлеров, в ответ на скармливание глифосата и пробиотического штамма бактерии (данные получены в конце эксперимента на 35 сутки, виварий ООО «БИОТРОФ+», 2022 г.), RU - кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1, * отличия от контрольной группы 1 при $P \leq 0,05$, ** отличия от опытной группы 2 при $P \leq 0,05$, прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле. Результаты представлены как среднее (\pm SEM) экспрессии мРНК

Уровни экспрессии гена *PTGER3* (рецептора EP_3 простагландина E_2) и гена *PTGER4* (рецептора подтипа EP_4 простагландина E_2) при воздействии

глифосата (группа 2) активировались в 1,87 и 1,91 раза по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). Индукция экспрессии генов рецепторов простагландина E_2 *PTGER3* и *PTGER4* на фоне присутствия глифосата в кормах закономерна. Ранее, на примере животной модели морской свинки показано, что в ответ на токсическое действие этанола в клетках слизистой оболочки желудка происходила активация рецепторов EP_2 и EP_4 , которая имела связь с цитопротекторным действием данных рецепторов против апоптоза, индуцированного этанолом (Hoshino et al., 2003). На мышах также продемонстрировано, что рецепторы EP_2 играли роль в предотвращении индуцированного радиацией апоптоза эпителиальных клеток крипт в тонкой кишке (Houchen et al., 2003).

Тем не менее, на наш взгляд, активация экспрессии генов *PTGER3* и *PTGER4* в варианте с введением в рацион глифосата, вероятнее всего, имела негативные последствия для организма птиц. Дело в том, что рецепторы простагландинов, включая EP_2 и EP_4 и другие, - связаны со стимуляцией передачи сигналов цАМФ/протеинкиназы А (РКА) посредством последовательной активации аденилатциклазы. Показано, что РКА фосфорилирует и активирует Akt-киназу, которая, в свою очередь, ингибирует киназу-3 гликогенсинтазу (GSK-3). Ингибирование GSK-3 уменьшает ингибирующее фосфорилирование цитозольного β -катенина, что способствует транслокации β -катенина в ядро и приводит к клеточной пролиферации (Li et al., 2000). Кроме того, экспрессия рецепторов простагландинов значительно усиливается на фоне воспалительных заболеваний кишечника. Исследования *in vitro*, направленные на изучение ранних реакций рецепторов простагландинов в различных линиях эпителиальных клеток толстой кишки, демонстрируют, что они усиливают экспрессию мРНК *IL-8* и секрецию белка, что указывает на их провоспалительную роль (Yu Y, Chadee K., 1999). Особенный интерес представляет тот факт, что рецепторы EP_1 и EP_3 противодействуют увеличению мРНК гена *BCRP* - белка множественной лекарственной устойчивости, который индуцирует резистентность организма ко многим лекарственным препаратам и

ксенобиотикам (Mason et al., 2014), а значит, могут уменьшать устойчивость организма к глифосату. Ранее было также показано, что глифосат может вносить вклад в нарушение процессов детоксикации ксенобиотиков (Samsel A, Seneff S., 2013). Было выявлено, что глифосат уменьшал активность ферментов цитохром Р450-зависимой монооксигеназы и арилуглеводородгидроксилазы в кишечнике и печени. Данные ферменты участвуют в обезвреживании многих токсикантов.

В нашем эксперименте происходило снижение уровня активности гена *PTGER3* в варианте с применением пробиотического штамма микроорганизма на фоне глифосата (группа 3 по сравнению с группой 2) ($P \leq 0,05$). Это могло внести позитивный вклад в здоровье птиц.

Результаты анализа экспрессии генов, связанных с синтезом простагландинов. Данные анализа относительных уровней транскриптов генов, связанных с синтезом простагландинов, в тканях слепых отростков бройлеров в ответ на введение глифосата и пробиотического штамма показаны на рисунке 2.

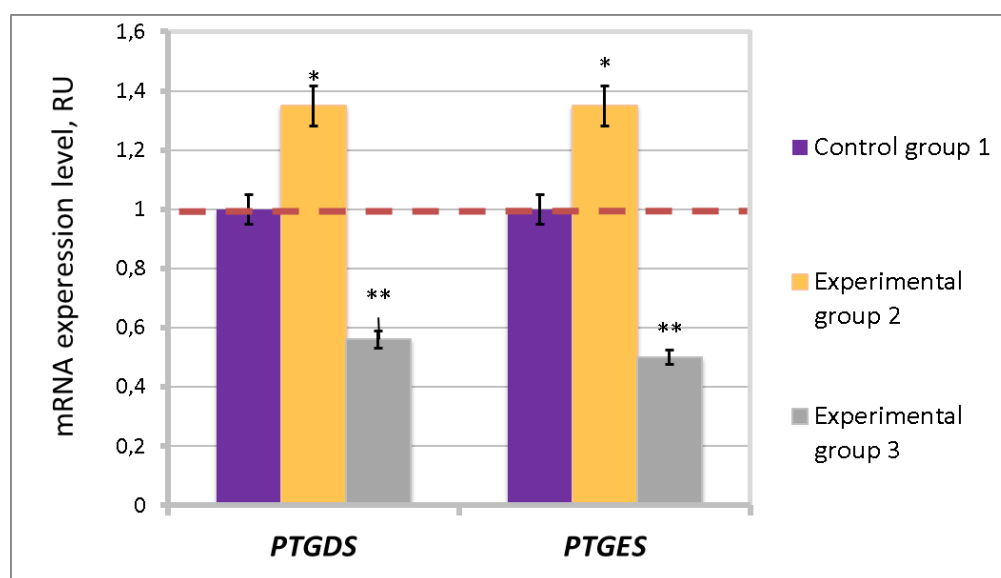


Рис. 2. Уровень экспрессии генов, связанных с синтезом простагландинов, в слепых отростках кишечника бройлеров, в ответ на скормливание глифосата и пробиотического штамма бактерии (данные получены в конце эксперимента на 35 сутки, виварий ООО «БИОТРОФ+», 2022 г.), RU - кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1, *

отличия от контрольной группы 1 при $P \leq 0,05$, ** отличия от опытной группы 2 при $P \leq 0,05$, прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле. Результаты представлены как среднее (\pm SEM) экспрессии мРНК

Уровни экспрессии гена *PTGDS* (простагландин-Н2 D-синтаза) и гена *PTGES* (простагландин-Е-синтазы) при загрязнении корма глифосатом (группа 2) повышались в одинаковое количество раз (в 1,35 раза) по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). Это могло иметь нежелательные последствия для здоровья птиц и уровня их резистентности к токсикантам. Белок, кодируемый геном *PTGES*, представляет собой глутатионзависимую простагландин-Е синтазу. Было показано, что экспрессия этого гена индуцируется провоспалительным цитокином интерлейкином 1 β (*IL1 β*). Его экспрессия также может быть индуцирована белком-супрессором опухоли TP53 и может быть вовлечена в индуцированный TP53 апоптоз. Простагландин-Н2 D-синтаза катализирует превращение PGH2 в PGD2-простагландин, участвующий в сокращении / расслаблении гладких мышц, являясь мощным ингибитором агрегации тромбоцитов. Интересно, что существуют сведения о том, что простагландин-Н-синтаза обладает гидропероксидазной активностью и в присутствии арахидоновой кислоты может участвовать в процессах биоактивации многих химических ксенобиотиков (полициклических ароматических углеводородов и ароматических аминов), что выражается, в конечном итоге, в усилении их мутагенных, канцерогенных свойств, легочной токсичности, тератогенности, нефротоксичности и миелотоксичности. При этом некоторые канцерогены метаболизируются в формы, которые ковалентно реагируют с клеточными макромолекулами (Smith et al., 1991).

Наблюдалось ингибирование активности генов *PTGDS* и *PTGES* в варианте с применением пробиотического штамма *Bacillus* sp. ГЛ-8 на фоне глифосата (группа 3 по сравнению с группой 2) ($P \leq 0,05$), что свидетельствует о позитивном влиянии штамма микроорганизма на экспрессию генов. Факт влияния пробиотиков на экспрессию генов птиц показан нами и в предыдущих

работах (Laptev et al., 2021). Это может вносить вклад в усиление защитных реакций организма на воздействие токсикантов и поддерживать гомеостаз.

Результаты анализа экспрессии гена *PTGR1*, связанного с катаболизмом простагландинов. Данные анализа относительных уровней транскриптов гена *PTGR1* в тканях слепых отростков бройлеров в ответ на введение глифосата и пробиотического штамма показаны на рисунке 3.

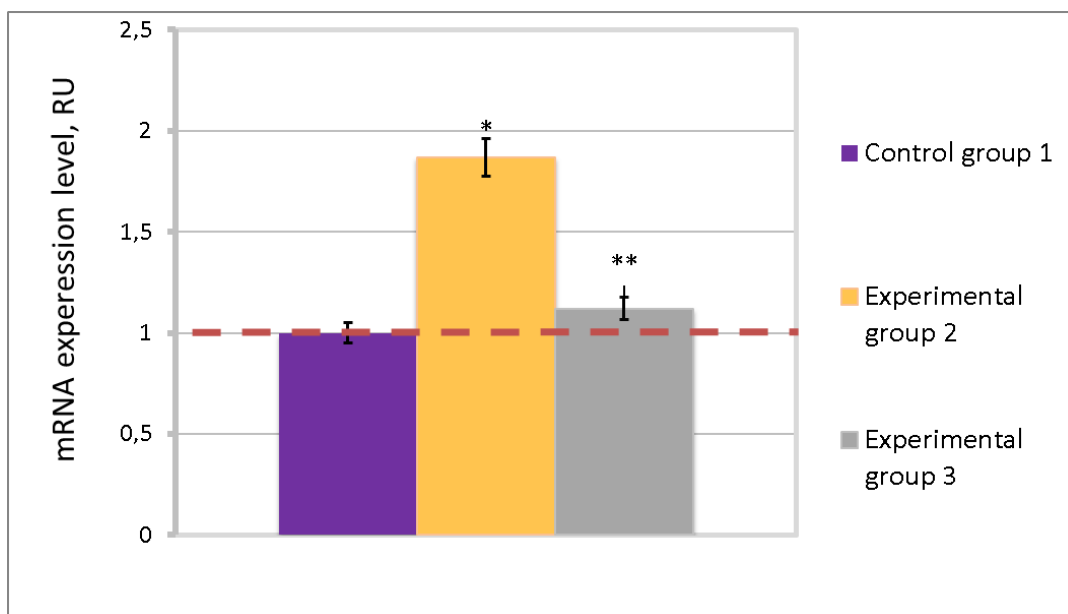


Рис. 3. Уровень экспрессии гена *PTGR1* в слепых отростках кишечника бройлеров, в ответ на скормливание глифосата и пробиотического штамма бактерии (данные получены в конце эксперимента на 35 сутки, виварий ООО «БИОТРОФ+», 2022 г.), RU - кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой 1, принятой за 1, * отличия от контрольной группы 1 при $P \leq 0,05$, ** отличия от опытной группы 2 при $P \leq 0,05$, прерывистая красная линия показывает уровень экспрессии в контроле. Результаты представлены как среднее (\pm SEM) экспрессии мРНК

Уровень транскрипции гена *PTGR1* (связанного с синтезом простагландинредуктазы 1) при воздействии глифосата (группа 2) увеличивался в 1,87 раз по сравнению с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). Это вполне логично,

поскольку простагландинредуктаза 1 является ключевым ферментом, ответственным за биологический катаболизм простагландинов и некоторых эйкозаноидов. При этом белок PTGR1 был охарактеризован, как цитопротекторный фермент, который индуцируется в печени крыс после лечения химиопрепаратами против рака, такими как дитиолетионы (Primiano, et al., 1998). Дитиолетионы - это класс средств химиопрофилактики рака, которые индуцируют ферменты детоксикации канцерогенов, такие как NAD(P)H-дегидрогеназу, хинон 1, глутатион S-трансферазы, эпоксидгидролазу, глутамат-цистеиновую лигазу и UDP-глюкуронозилтрансферазу путем активации пути Keap1-Nrf2. Экспрессия *PTGR1* регулируется фактором транскрипции *Nrf2*, который конститутивно активируется онкогенами, мутациями или другими механизмами, стимулируя клеточную антиоксидантную программу, которая способствует детоксикации побочных продуктов окисления. Данные наблюдения подтверждают представление о том, что PTGR1 действует как цитопротекторный фермент, который обладает как антиоксидантными, так и противовоспалительными функциями, которые могут позволить рассматривать его в качестве защитного вещества, синтез которого индуцируется глифосатами кормов. То есть, усиление экспрессии *PTGR1* на фоне загрязнения глифосатом может рассматриваться, как механизм усиления резистентности к ксенобиотикам для поддержания собственного гомеостаза организма.

Эффект пробиотического штамма на экспрессию гена *PTGR1* оказался «сглаживающим», т.е. уровень экспрессии в опытной группе 3 был на уровне с контрольной группой 1 ($P \leq 0,05$). Это может быть связано с увеличением численности в составе микробиома кишечника таксонов, обладающих свойствами биодеструкции токсинов на фоне пробиотика. Ранее W. Meini с соавт. (Meini et al., 2009) также было показано, что кишечная микробиота может влиять на экспрессию генов ферментов, метаболизирующих ксенобиотики, в том числе, на ген глутатион-S-трансферазы, в толстом кишечнике и в печени. Интересно, что фермент глутатион-S-трансфераза, играющий ключевую роль в

детоксикации и защите от ксенобиотиков, оказывает значительное влияние и на гены простагландинов и их рецепторов (Niu et al., 2019).

Выводы. Впервые в мире нашем исследовании показано, что воздействие глифосатов на сельскохозяйственную птицу происходит, в том числе, через изменение активности ключевых генов, связанных с метаболизмом простагландинов. Глифосат, введенный в корма птиц в количестве, соответствующем одному ПДК, выступал в роли индуктора экспрессии генов рецепторов простагландинов (*PTGER3* и *PTGER4*), катаболизма простагландинов (*PTGRI*) и синтеза простагландинов (*PTGDS* и *PTGES*) в слепых отростках кишечника бройлеров. В связи с тем, что гены *PTGER3* и *PTGER4* связывают со снижением экспрессии белка множественной лекарственной устойчивости, а ген *PTGDS* ассоциирован с усилением токсичности ксенобиотиков, повышение их экспрессии в ответ на введение глифосата может иметь негативные последствия для организма, понижать резистентность к токсикантам, одновременно увеличивая их токсичность. С другой стороны, ген *PTGRI* связывают с процессами детоксикации ксенобиотиков. Поэтому мы полагаем, что повышенная экспрессия гена *PTGRI* в кишечнике на фоне поступления глифосата может быть связана с противостоянием организма поступлению токсиканта, являться механизмом повышения уровня метаболической устойчивости и поддержания собственного гомеостаза. В дальнейшем гены *PTGER3*, *PTGER4*, *PTGDS* и *PTGRI* могут быть использованы в качестве возможных терапевтических мишеней при токсикозах, вызванных, в частности, глифосатами кормов. Полученные данные свидетельствует о необходимости привлечения внимания к проблеме содержания глифосатов в кормах для птиц и уточнению границ предельно допустимых концентраций глифосатов в кормах. Пробиотический штамм *Bacillus* sp. ГЛ-8, вероятно, восстанавливал микробиоту, тем самым, усиливая ее протекторное действие в отношении токсикантов, в частности, ее метаболические функции биодеструкции. Это выразилось в «сглаживании» уровня активности гена *PTGRI* до уровня контрольной группы, а также

снижении активности *PTGDS*, *PTGES* и *PTGER3*. Позитивные сдвиги в изменении транскрипции генов простагландинов под влиянием штамма пробиотического микроорганизма свидетельствуют о перспективе использования пробиотиков как инструмента выравнивания физиологического дисбаланса на фоне загрязнения корма токсическими веществами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-16-00128.

Литература

1. Murcia HW, Diaz GJ. Protective effect of glutathione S-transferase enzyme activity against aflatoxin B1 in poultry species: relationship between glutathione S-transferase enzyme kinetic parameters, and resistance to aflatoxin B1. *Poult Sci.* 2021 Aug;100(8):101235. doi: 10.1016/j.psj.2021.101235. Epub 2021 May 4. PMID: 34214746; PMCID: PMC8258694)
2. Rath NC, Huff WE, Huff GR, Kannan L. Induction of tibial dyschondroplasia by carbamate and thiocarbamate pesticides. *Avian Dis.* 2007 Jun;51(2):590-3. doi: 10.1637/0005-2086(2007)51[590:IOTDBC]2.0.CO;2. PMID: 17626489
3. Smith BJ, Curtis JF, Eling TE. Bioactivation of xenobiotics by prostaglandin H synthase. *Chem Biol Interact.* 1991;79(3):245-64. doi: 10.1016/0009-2797(91)90108-j. PMID: 1913972)
4. Тюрина Д.Г. Глифосат в комбикормах для птицы / Д.Г. Тюрина, В.Х. Меликиди, Т.М. Околелова и др. // *Птицеводство.* — 2021. — № 3. — С. 27–30;
5. Szekacs, B. Darvas Re-registration challenges of glyphosate in the European union *Front Environ. Sci.*, 6 (2018), p. 35
6. Hoshino T, Tsutsumi S, Tomisato W, Hwang HJ, Tsuchiya T, Mizushima T. Prostaglandin E2 protects gastric mucosal cells from apoptosis via EP2 and EP4 receptor activation. *J Biol Chem.* 2003;278:12752–12758.).

7. Houchen CW, Sturmoski MA, Anant S, Breyer RM, Stenson WF. Prosurvival and antiapoptotic effects of PGE₂ in radiation injury are mediated by EP₂ receptor in intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;284:490–498).
8. Li M, Wang X, Meintzer MK, Laessig T, Birnbaum MJ, Heidenreich KA. Cyclic AMP promotes neuronal survival by phosphorylation of glycogen synthase kinase 3 β . *Mol Cell Biol.* 2000;20:9356–9363).
9. Yu Y, Chadee K. Prostaglandin E₂ stimulates IL-8 gene expression in human colonic epithelial cells by a posttranscriptional mechanism. *J Immunol.* 1999;161:3746–3752).
10. Mason, C. W., Lee, G. T., Dong, Y., Zhou, H., He, L., & Weiner, C. P. (2014). Effect of prostaglandin E₂ on multidrug resistance transporters in human placental cells. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 42(12), 2077–2086. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.059477>),
11. Samsel A, Seneff S. Glyphosate, pathways to modern diseases II: Celiac sprue and gluten intolerance. *Interdiscip Toxicol.* 2013 Dec;6(4):159-84. doi: 10.2478/intox-2013-0026. PMID: 24678255; PMCID: PMC3945755
12. Laptev, G.Y.; Yildirim E., Ilina, L.A. Effects of Essential Oils-Based Supplement and Salmonella Infection on Gene Expression, Blood Parameters, Cecal Microbiome, and Egg Production in Laying Hens. *Animals* 2021, 11, 360. Q1 <https://doi.org/10.3390/ani11020360>).
13. Primiano T., Y. Li, T.W. Kensler, M.A. Trush, T.R. Sutter Identification of dithiolethione-inducible gene-1 as a leukotriene B₄ 12-hydroxydehydrogenase: implications for chemoprevention *Carcinogenesis*, 19 (1998), pp. 999-1005
14. Meinel W, Sczesny S, Brigelius-Flohé R, Blaut M, Glatt H. Impact of gut microbiota on intestinal and hepatic levels of phase 2 xenobiotic-metabolizing enzymes in the rat. *Drug Metab Dispos.* 2009 Jun;37(6):1179-86. doi: 10.1124/dmd.108.025916. Epub 2009 Mar 12. PMID: 19282396)
15. Niu S, Wang CX, Jia FJ, Jahejo AR, Li X, Ning GB, Zhang D, Ma HL, Hao WF, Gao WW, Zhao YJ, Gao SM, Li JH, Li GL, Yan F, Gao RK, Huo NR, Tian WX,

Chen HC. The expression of prostaglandins-related genes in erythrocytes of broiler chicken responds to thiram-induced tibial dyschondroplasia and recombinant glutathione-S-transferase A3 protein. *Res Vet Sci.* 2019 Jun;124:112-117. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.03.004. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30878632.