

# РАСКРЫТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ: ОТРЕГУЛИРОВАТЬ ТРАНСКРИПТОМ

Г. ЛАПТЕВ, Е. ЙЫЛДЫРЫМ, Н. НОВИКОВА, Д. ТЮРИНА, Л. ИЛЬИНА, А. ДУБРОВИН, В. ФИЛИПОВА, К. КАЛИТКИНА, Е. ПОНОМАРЕВА, В. МЕЛИКИДИ, Е. ГОРФУНКЕЛЬ, В. МОЛОТКОВ, Д. АХМАТЧИН, ООО «БИОТРОФ»



Высокие темпы мирового производства продукции животноводства и птицеводства во многом связаны с колоссальными достижениями в области генетики и селекции.

## ЗАЧЕМ ИЗУЧАТЬ ТРАНСКРИПТОМ?

Рассуждая о работе генетических компаний в области совершенствования генетики и воспроизводства животных и птицы, невозможно не упомянуть об экспрессии генов. Безусловно, последовательность ДНК — это матрица, которая определяет все функции и биохимические процессы организма. Однако не только ДНК обуславливает признаки организма. Важным механизмом, определяющим, насколько будут активны те или иные гены, является экспрессия генов. Это фактическая работа генов в процессе развития организма, которая не только имеет связь с последовательностью ДНК, но и включает в себя этап синтеза РНК. Транскриптом — это совокупность всех экспрессирующихся генов организма. Естественно, что большинство сельскохозяйственных предприятий стремится повысить продуктивный потенциал поголовья животных за счет использования лучших ресурсов мирового генофонда, от которых ждут высокой продуктивности. Однако следует помнить, что большинство генов могут не активироваться никогда, то есть генетический потенциал у двух особей животных или птицы может быть абсолютно одинаковым. Но разница в транскриптоме, на который влияют условия кормления, содержания, стрессы, токсины в кормах, приводит к тому, что состояние здоровья и продуктивность, а также уровень воспроизводительной способности могут сильно отличаться. Таким образом, залог успешной реализации генетического потенциала кроется в научно обоснованной активации экспрессии «правильных» генов в процессе развития организма.

## ГЛИФОСАТ: НАРУШЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ

Достижения последних лет в области генетики и селекции позволили существенно увеличить продуктивность животных и птицы. Это выдвинуло ряд новых проблем. Оказалось, что высокая продуктивность связана с низким

адаптационным потенциалом и повышенной чувствительностью к стрессам, в частности к токсинам в кормах.

Повсеместное использование гербицидов с начала их применения увеличилось в геометрической прогрессии. Глифосат — наиболее распространенный гербицид широкого спектра действия, входящий в состав препарата Roundup, разработанного в 1970-е американской компанией Monsanto для борьбы с сорняками. В 1990-е производитель создал устойчивые к нему генетически модифицированные сельскохозяйственные культуры — сою, кукурузу, хлопок. С тех пор гербицид является самым распространенным в мире. Устойчивые к глифосату культуры содержат его и/или метаболиты в широком диапазоне концентраций (Хи и соавт., 2019). Тем не менее он считался малотоксичным для животных и растений. Разрушение мифа о его безопасности началось, когда ученые Международного агентства по исследованию рака (IARC) в результате собственного исследования классифицировали это действующее вещество как «вероятно канцерогенное».

В 2022 г. при поддержке проекта Российского научного фонда №22-16-00128 (руководитель — доктор биологических наук Г.Ю. Лаптев) впервые в России были получены уникальные результаты анализа дифференциальной экспрессии всех генов, присутствующих в геноме и тканях кишечника бройлеров, с помощью метода высокопроизводительного секвенирования RNA-seq на фоне различных дозировок глифосата. Анализ мы выполняли с использованием наборов TruSeq Stranded mRNA и MiSeq Reagent Kit v3 (50 cycle). В результате биоинформатической обработки данных при помощи программного обеспечения Salmon удалось получить исчерпывающую информацию об изменениях транскриптома в ответ на влияние гербицида — экспрессии 33 тысяч генов. Результаты наших исследований оказались достаточно тревожными: глифосат, содержащийся в кормах для птицы, даже в

минимальных концентрациях, которые в несколько раз ниже уровней ПДК для кормов, при хроническом воздействии негативно влиял на экспрессию целых 11 тысяч (!) генов у птицы. В частности, глифосат вызывал активацию от десятков до тысяч раз и более генов апоптоза, или клеточной гибели (*Casp1, Casp2, Casp6, Casp8, Casp9*), провоспалительных интерлейкинов (*IL1 $\beta$ , IL4, IL7, IL8, IL10, IL15, IL18, IL22*), онкогенов (*RAB11A, RAB11B, RAB10, RAB27A, RAB9A, CRK, ETS1*) и других (рис. 1). Воспаление и апоптоз приводят к изменениям в проницаемости мембран эпителиальных клеток кишечника, некрозу слизистой, диарее. Через поврежденный эпителий кишечника могут проникать в кровоток патогены, продукты их жизнедеятельности и токсины. Одновременно глифосат резко ингибировал экспрессию генов, связанных с продуктивностью: кальцийсвязывающих белков; генов, отвечающих за функционирование электрон-транспортной цепи в митохондриях клеток; инсулинподобных факторов роста; рибосомального белка S6 протеинкиназы и др. Это выражалось в ухудшении показателей иммунитета, изменении биохимических параметров крови и активности пищеварительных ферментов, снижении продуктивности птицы.

Получается, что воздействие глифосата — это важный, но неучтенный фактор риска возникновения воспалительных заболеваний и снижения продуктивности, действующий через «поломку» генетической программы. Вызывает озабоченность и активация онкогенов, которая свидетельствует о том, что фактор, связанный с присутствием глифосата в кормах, может играть определенную роль в увеличении заболеваемости раком у человека.

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

Получается, что воздействие глифосата — это важный, но неучтенный фактор риска возникновения воспалительных заболеваний и снижения продуктивности, действующий через «поломку» генетической программы. Вызывает озабоченность и активация онкогенов, которая свидетельствует о том, что фактор, связанный с присутствием глифосата в кормах, может играть определенную роль в увеличении заболеваемости раком у человека.

### ОТРЕГУЛИРОВАТЬ «НУЖНЫЕ» ГЕНЫ

Исследования ученых НПК «БИОТРОФ» показали, что вклад токсичных кормов в нарушение экспрессии генов и состава микробиома можно снизить с помощью изменения стратегий кормления. Были разработаны методы противостояния токсическому действию глифосата и других ксенобиотиков на сельскохозяйственных животных и птицу. Так, метапробиотик **Пробиоцид-Ультра** объединяет комбинацию естественных бактериальных метаболитов (фумаровой и лимонной кислот) и двух штаммов *Vacillus sp.*, действующих в синергизме. С одной стороны, Пробиоцид-Ультра эффективно стимулирует рост нор-



Рис. 1. Влияние кормов, содержащих глифосат, на транскриптом у бройлеров (установлено с помощью метода секвенирования RNA-seq)

мофлоры кишечника и повышает способность подавлять развитие патогенных бактерий благодаря подкисляющему свойству органических кислот. С другой стороны, штаммы бактерий в составе препарата осуществляют биодеградацию глифосата с помощью присущих им особых ферментных систем, не представленных у большинства других штаммов тех же видов.

Кроме того, биопрепарат Пробиоцид-Ультра позитивно действует непосредственно на организм хозяина. Его ввод в корма с содержанием глифосата нормализует экспрессию провоспалительных генов, генов апоптоза, иммунной защиты и генов продуктивности (рис. 2). Таким образом, он повышает уровень резистентности, нарушенной токсинами; активизирует работу ферментов; стимулирует обновление клеток эпителия, что позитивно сказывается на регуляции пищеварительных процессов; профилактирует диарею; способствует росту продуктивности птицы.

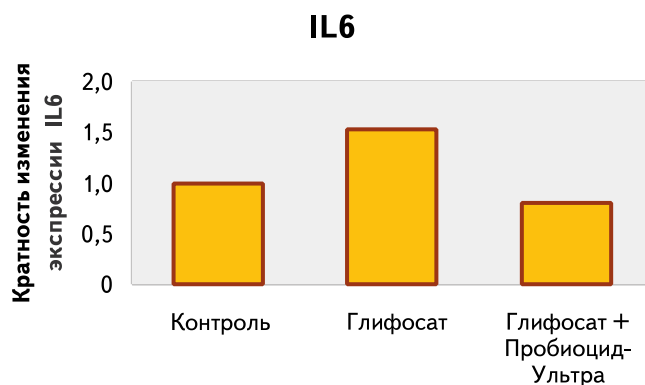


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *IL6* в слепых отростках кишечника бройлеров

## НАЛАДИТЬ ПРОГРАММУ ДЕТОКСИКАЦИИ

В процессе эволюции у живых организмов сформировалась система, которая отвечает за процесс преобразования и удаления вредных продуктов, тем самым обеспечивается химическая резистентность и постоянство внутренней среды организма. Ферменты реакций биотрансформации встречаются во многих тканях тела, но в большем количестве в печени, основном детоксицирующем органе. Однако кишечник как первая линия защиты также играет важную роль в метаболизме ксенобиотиков. Этот процесс делится на три фазы и происходит с участием различных генов и ферментов. Активность генов, участвующих в детоксикации, либо индуцируется (активируется), либо ингибируется (угнетается) рядом факторов, которые включают рацион и лекарственные препараты, при этом немаловажную роль играет состав микрофлоры и, значит, правильно подобранные пробиотики.

Особым свойством пробиотика Пробиоцид-Ультра является то, что он позитивно воздействует на регуляцию собственной генетической программы детоксикации организма животных и птицы: например, эффективно регулирует экспрессию генов простагландинов, нарушенную глифосатом (рис. 3).

Как показали наши исследования, глифосат, добавленный в комбикорма для птицы в количестве, соответствующем предельно допустимой концентрации (ПДК) для продуктов питания и в десятки раз ниже для кормов,

выступал в роли индуктора (усилителя) экспрессии генов рецепторов простагландинов — *PTGER3* и *PTGER4*. Эти гены связывают со снижением экспрессии белка множественной лекарственной устойчивости (собственный фермент организма, уменьшающий токсичность ксенобиотиков). Следовательно, повышение их экспрессии в ответ на загрязнение кормов глифосатом может иметь негативные последствия для организма: снижение резистентности к токсикантам, например к микотоксинам и пестицидам. Более того, ряд исследователей видит ключевую роль усиления экспрессии генов простагландинов *PTGER3* и *PTGER4* и в возникновении аномалий скелета у птицы, прежде всего дисхондроплазии большеберцовой кости, приводящей к хромоте. Эта болезнь негативно отражается на валовой прибыли отрасли (падение примерно на 10–40%).

Активация экспрессии гена *PTGDS* (простагландин-H2 D-синтаза) под влиянием глифосата не менее опасна. Фермент обладает гидропероксидазной активностью и участвует в процессах биоактивации многих химических ксенобиотиков (полициклических ароматических углеводов и ароматических аминов), что выражается в усилении их мутагенных и канцерогенных свойств, легочной токсичности, тератогенности, нефротоксичности, миелотоксичности.

Пробиотик Пробиоцид-Ультра оказывает позитивное действие на экспрессию генов *PTGER3*, *PTGER4* и *PTGDS*, то есть регулирует собственный гомеостаз и механизм детоксикации глифосатов организмом птицы.

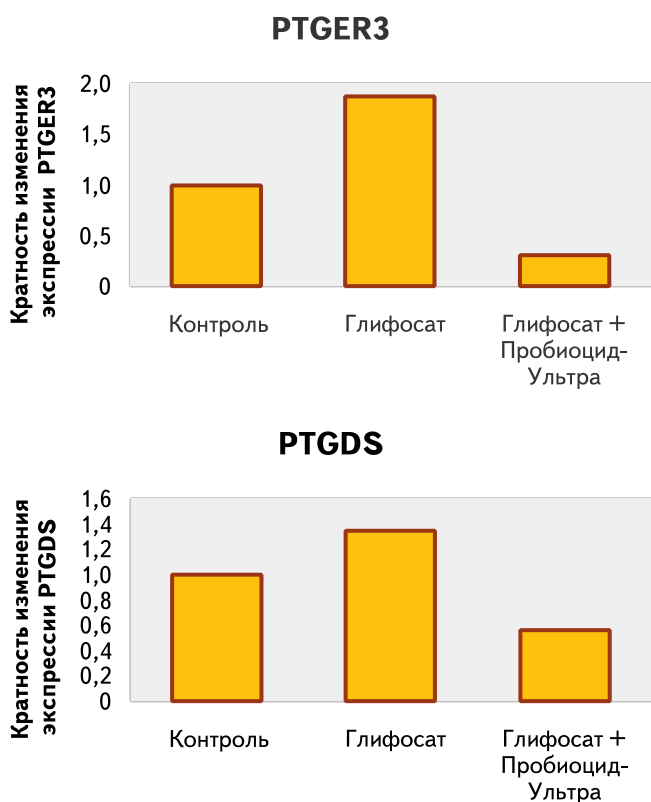


Рис. 3. Уровень экспрессии генов простагландинов в слепых отростках кишечника бройлеров

## ИНСТРУМЕНТ ПРОДУКТИВНОСТИ

Животноводство и птицеводство постоянно развиваются по пути интенсификации процесса получения продукции, и развитие этих отраслей во многом зависит от степени использования генетических возможностей животных. В результате проведенного впервые в России исследования транскриптома бройлеров методом RNA-seq мы получили уникальные данные о важнейших генах, нарушенная экспрессия которых может значительно снизить эффективность селекционной работы и привести к уменьшению степени реализации генетического потенциала. Крайне негативную роль в изменении транскрипционной программы играют ксенобиотики, в частности остаточные количества гербицида глифосата, постоянно присутствующие в кормах и воздействующие на организм хронически. Поэтому изученные гены являются важными терапевтическими мишенями как при погрешностях в кормлении и содержании, так и при токсикозах. Применение биопрепарата Пробиоцид-Ультра позволяет не только восстанавливать состояние микробиома и осуществлять биодеструкцию токсикантов, но и регулировать транскриптом организма, что позитивно сказывается на состоянии здоровья и продуктивности животных и птицы. ■

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