

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ КЛЕТОК ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЙОДА

В. КОТОМЦЕВ,

доктор биологических наук, профессор,

Е.В. ШАЦКИХ (фото),

кандидат биологических наук, доцент,

Уральская ГСХА, г. Екатеринбург

Ключевые слова: *неорганическая и органическая формы йода, предстартовый период, генетический аппарат клеток, антимуtagenный эффект, спленоциты, степень фрагментации.*

Роль йода в организме связана с синтезом и обменом тиреоидных гормонов, осуществляющих гуморальную регуляцию многих физиологических функций. Эти гормоны контролируют функционирование всех систем организма, рост и дифференцировку тканей, поглощение кислорода, состояние центральной и периферической нервной системы, влияют на скорость метаболизма, теплообразование, жировой, углеводный и белковый обмен, обмен витаминов, воды и многих электролитов [1]. К настоящему времени накоплен значительный объем данных, свидетельствующий о том, что дефицит йода в организме вследствие экзогенных и/или эндогенных причин обуславливает не только патологию щитовидной железы (эндемический зоб – при недостатке, аутоиммунный тиреоидит – при избытке йода), но и соматическую патологию органов и систем на различных этапах индивидуального развития [2, 3].

Сейчас не возникает сомнений в необходимости дополнительного источника йода, вносимого в рацион животных в зонах с йодистым дефицитом, к которым относится и Свердловская область. Однако форма внесения йода до сих пор окончательно не определена. Последнее обусловлено

чрезвычайной активностью минерального йода как химического элемента, его способностью легко проникать в кровь и вступать в химические реакции с органическими веществами, разрушая или качественно изменяя их структуру.

Органический йод в отличие от минерального находится в связанном состоянии и в большинстве химических реакций с органическими веществами организма не вступает. При этом связанный йод, поступающий через пищеварительный тракт в печень, под действием ферментов отщепляется от аминокислот (тирозин, гистидин) и используется для синтеза гормонов щитовидной железы. Метаболизм органического йода, поступающего извне, контролируется через систему гомеостаза, а расщепление органического йода осуществляется в зависимости от потребности организма в этом микроэлементе. Излишний органический йод (не востребованный щитовидной железой) естественным образом выводится из организма, поэтому не наблюдается накопления йода и соответствующих негативных последствий [4]. В настоящее время требуются дальнейшие исследования вопроса о форме йода, используемого для насыщения организма живот-



ных, а также о последствиях такого насыщения. Последнее может находить проявление в изменении качественных и количественных характеристик выпускаемой продукции и тем самым сказываться на экономических показателях предприятий агропромышленного комплекса.

Цель и методика исследований

Целью наших исследований является изучение влияния органической и неорганической форм йода, а также их комбинации на генетический аппарат клеток цыплят-бройлеров.

Экспериментальная часть работы выполнялась в условиях Среднеуральской птицефабрики Свердловской области по методике ВНИТИП (2004 год) в 2007 году. Объектом исследований являлись цыплята-бройлеры мясного кросса "Смена-7". Продолжительность выращивания птицы составляла 40 дней.

В ходе опыта условия содержания цыплят-бройлеров подопытных групп были одинаковыми с соблюдением оптимальных зооигиенических параметров микроклимата. Птицу по принципу аналогов (кросс, возраст, живая масса) комплектовали в четыре группы (контрольная и три опытные) по 80 голов курочек и петушков в каждой. Ис-

Inorganic and organic forms of iodine, the prestarting period, the genetic device of cells, antimutagen effect, cells of a spleen, a degree of a fragmentation.

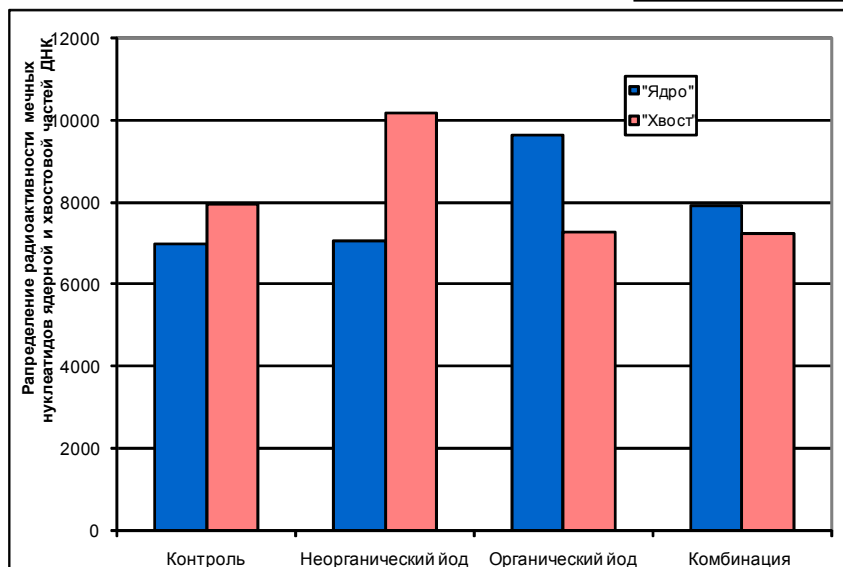


Рисунок. Оценка устойчивости генома цыплят-бройлеров по результатам анализа полиморфизма длин случайно амплифицированных фрагментов от действия препаратов йода

следующие формы препаратов йода включали в предстартовый рацион цыплят-бройлеров (первые 5 дней жизни). Рацион цыплят первой (контрольной) группы не содержал источника йода. Птица второй группы получала рацион с дозировкой 0,7 г/т комбикорма элемента йода в виде неорганической формы - йодистого калия. Цыплята третьей опытной группы получали йод в виде добавки йодказеин (органическая форма) из расчета 0,7 г элемента йода на 1 т комбикорма. Бройлерам четвертой опытной группы в качестве источника йода в рацион включали комбинацию неорганического йода в виде йодистого калия из расчета 0,35 г/т комбикорма и органического йода в виде йодказеина - 0,35 г/т комбикорма. Начиная с 6-дневного возраста, цыплята всех подопытных групп переводились на общий рацион, принятый в хозяйстве, где в качестве источника йода применяли неорганическую форму (йодистый калий) из расчета 0,7 г элемента на 1 т комбикорма.

Для оценки состояния репарационных систем в клетках и возможной генотоксичности применяемых препаратов была использована методика анализа полиморфизма длин случайно амплифицированных фрагментов (RAPD-анализ).

Материалом для исследования служили образцы ткани селезенки от 6-суточных цыплят-бройлеров, которые перед проведением анализа подвергались гомогенизации. Из полученных проб селезенки отделяли клеточную фракцию в фиколен-верографическом градиенте. Выделение ДНК производили по стандартной методике фенольной депротеинизации. Объем отобранных образцов ДНК составил 30 мкл для каждой пробы.

Для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовались спе-

цифические праймеры и нуклеотиды (dCTP, dATP, метил-dTTP), меченые тритием. Полученный амплификат был разделен в процессе горизонтального агарозного гель-электрофореза в ТАЕ-буфере при 100 В в течении 15 мин.

По окончании электрофореза гелевые пластины были разделены на дорожки, каждая из которых была разрезана на участки длиной 5 мм. Полученные фрагменты геля помещали во флаконы, содержащие 3,0 мл абсолютного изопропанола. Флаконы нагревали до 80°C в течении 2 часов. После экстракции из геля амплифицированных фрагментов, содержащих метку, во флаконы добавляли простой толуоловый сцинтиллятор (6,0 мл). Регистрацию результатов производили на автоматическом жидкостном сцинтилляционном счетчике "Бета-2". Результаты выражали в Беккерелях на мкг ДНК.

Представленная методика используется для количественной оценки степени фрагментации ДНК, что в сравнительной характеристике групп позволяет оценить степень генотоксичности исследуемых препаратов. Особенностью технологии является то, что в отличие от фрагментированной хвостовой ДНК нефрагментированная ядерная ДНК имеет крайне низкую степень миграции в агарозном геле, причем степень миграции прямо пропорциональна степени ее повреждения. Сравнительно низкое значение ядерного и сравнительно высокое - хвостового показателей свидетельствует о более высокой степени повреждения ДНК. Результаты исследования представлены на рисунке.

Результаты исследований

Анализ распределения радиоактивности меченых нуклеотидов ядерной нефрагментированной и хвостовой фрагментированной частей исследуе-

мой ДНК по группам показал, что по сравнению с контрольной группой, не использующей йодсодержащую подкормку, в спленоцитах (клетках селезенки) группы с применением йодистого калия прирост по ядерному показателю составил 0,73%, а показатель хвостовой низкомолекулярной фракции возрос на 28,26%.

В третьей группе, получавшей йодказеин, увеличение показателя "ядра" по сравнению с таковым в контрольной группе составило 37,9%. Показатель "хвоста" был незначительно снижен - 8,5%.

В четвертой группе, в рацион которой включали комбинацию неорганического и органического йода, показатель "ядра" превысил уровень контрольной группы на 13,4%, а показатель "хвоста" снизился на 8,8%.

Количественно степень фрагментации ДНК можно выразить соотношением поврежденной части ДНК к сумме "ядра" и "хвоста": КФ (коэффициент фрагментации) = "хвост"/("ядро"+"хвост"), что эффективно для сравнения степени повреждения генома различных организмов (групп организмов) друг с другом. Соответственно, коэффициенты фрагментации ДНК в группах: контрольной - 0,53; второй - 0,59; третьей - 0,43; четвертой - 0,48.

Спленоциты цыплят, у которых в качестве добавки применялся йодистый калий, характеризовались наибольшей степенью повреждения ДНК среди остальных (за счет увеличения фрагментированной части ДНК), наименьшей - группа с применением йодказеина. Спленоциты цыплят, у которых использовалась комбинация препаратов йода, и контрольная группа занимают промежуточное положение по степени фрагментации ДНК, однако в контрольной группе повреждение генома менее выражено. В целом применение йодказеина уменьшало степень повреждения ДНК, что свидетельствует о снижении мутагенного действия факторов среды (внешних и внутренних), то есть об антимутагенном эффекте препарата.

Нахождение цыплят в равных условиях в период проведения исследований дает основание считать, что йодистый калий обладает умеренной генотоксичностью (промутагенный эффект). В свою очередь, это находит подтверждение при сочетании препаратов йодистого калия и йодказеина (коэффициент фрагментации ниже контрольного значения на 9,4%) и в достоверном антимутагенном действии йодказеина (коэффициент фрагментации ниже контрольного уровня на 18,7%).

Выводы

В результате проведенного исследования были проанализированы эффекты неорганической, органической и комбинированной форм йода на проявление генотоксичности препаратов.

Ветеринария

На основании выполненного анализа рациональным является применение органической формы йода в виде пре-

парата йодказеин в качестве источника данного микроэлемента для цыплят-бройлеров в начальный период их

жизни, что обусловлено выраженным антимуtagenным действием на лимфоидные клетки.

Литература

1. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / под. ред. проф. А. И. Кубарко и проф. S. Yamashita. Минск ; Нагасаки, 1998. 355 с.
2. Дэйвис П. Дж., Дэйвис Ф. Б. Негеномные эффекты тиреоидных гормонов // Болезни щитовидной железы (пер. с англ.) / под. ред. Л. И. Бравермана. М. : Медицина, 2000. С. 18-37.
3. Дедов И. И., Свириденко Н. Ю. Стратегия ликвидации йоддефицитных заболеваний в Российской Федерации // Проблемы эндокринологии. 2001. Т. 47. № 6. С. 3-12.
4. Применение йодказеина для предупреждения йоддефицитных заболеваний в качестве средства популяционной, групповой и индивидуальной профилактики йодной недостаточности : методические рекомендации. МР 2.3.7.1916-04 (утв. Роспотребнадзором 21.07.04).