

УДК 61(075.8)

РАЗРАБОТКА СПОСОБА И УСТРОЙСТВА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТРЕССЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И ИХ ПОТОМСТВА

Ахмадиев Г.М.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», филиал, Елабуга,
e-mail: ahmadievgm@mail.ru*

Для оценки индивидуальной стресс-чувствительности плацентарных жвачных животных и их потомства к неблагоприятным факторам можно использовать адреналиновую пробу. Адреналиновая проба проводится с периферической кровью, далее смешивают ее с 0,1% раствором адреналина гидрохлорида и в ходе работы доводят до изотонической концентрации в аппарате Панченкова нашей модификации, и с учетом скорости оседания эритроцитов в течение суток в опытной и контрольной пробах, и при учете разницы в 10мм и выше констатирует повышенную стресс-чувствительность плацентарных жвачных животных в послеродовой период к различным неблагоприятным факторам.

Ключевые слова: стрессустойчивость, стрессчувствительность, физиология, стресс-реакция, жвачные плацентарные животные, устройство, ягнята, кровь, белки и их фракции, розеткообразование, бляшкообразование, фагоцитоз, гетерофильные (нормальные) антитела

EVALUATION AND STRESSUSTOYCHIVOSTI STRESSCHUVSTVITELNOSTI RUMINANTS AND THEIR OFFSPRING

Akhmadiev G.M.

Kazan (Volga) Federal University, branch in Elabuga, Elabuga, e-mail: ahmadievgm@mail.ru

To assess individual stress sensitivity placental ruminant animals and their offspring to the unfavorable factors, you can use a sample of adrenaline. Adrenaline is conducted with a sample of peripheral blood, then mix it with a 0.1% solution of epinephrine hydrochloride and the input operation is brought to an isotonic concentration apparatus Panchenkova our modification, and taking into account erythrocyte sedimentation rate during the day in the experimental and control samples, and accounting differences in 10mm higher and higher states of stress sensitivity of placental ruminant postpartum to various adverse factors.

Keywords: stressustoychivost, stresschuvstvitenost, physiology, stress reaction, placental ruminant animals, device, lambs, blood, proteins and their fractions, rosette, plaque forming, phagocytosis, heterophil (normal) antibodies, lysozyme activity, the sensitivity, the method, the diagnosis

Многолетними комплексными исследованиями Ф.И. Фурдья, которые постоянно поддерживал академик Олег Георгиевич Газенко, было установлено, что несмотря на успехи современной медицины, большая часть современного общества общебиологически преждевременно деградирует, люди современного социума в большинстве своем болыны и умирают не от старости, а от болезней, основными факторами чего являются отсутствие действия в человеческом обществе движущей силы эволюции – борьба за существование и естественный отбор, стрессогенная хронизация и симпатотонизация образа жизни современного человека, его психоэмоциональные перегрузки, несоответствие ритмики адаптации жизненно важных органов и систем организма таковой модификации условий его жизнедеятельности при спонтанном формировании его здоровья и жизненного потенциала. Многолетними поисками было показано, что единственным путем решения проблемы здоровья человека и животных является разработка теории и методов целенаправленного формирования и поддержания структурно-функционального и психиче-

ского статуса человека на всем протяжении развития и жизнедеятельности – от образования гамет и внутриутробного развития до его глубокой старости, в соответствии с экологическими условиями и его образом жизни, являющихся задачами санокреатологии.

Снижение заболеваемости и гибели млекопитающих: различных видов животных и человека в значительной степени зависят от своевременной диагностики и профилактики стресс-реакции. Среди способов, дающих возможность применить объективную оценку стрессового состояния организма, наиболее важны исследования гормонов эндокринной системы. Определяют содержание в периферической крови АКТГ, 11-оксикортикостероидов и кортизона, креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы. Подсчитывают количество эозинофилов в 1 мм³ крови, устанавливают лейкоцитарную формулу. При убое животных исследуют внутренние органы, прежде всего надпочечники, тимус, селезенку и желудочно-кишечный тракт.

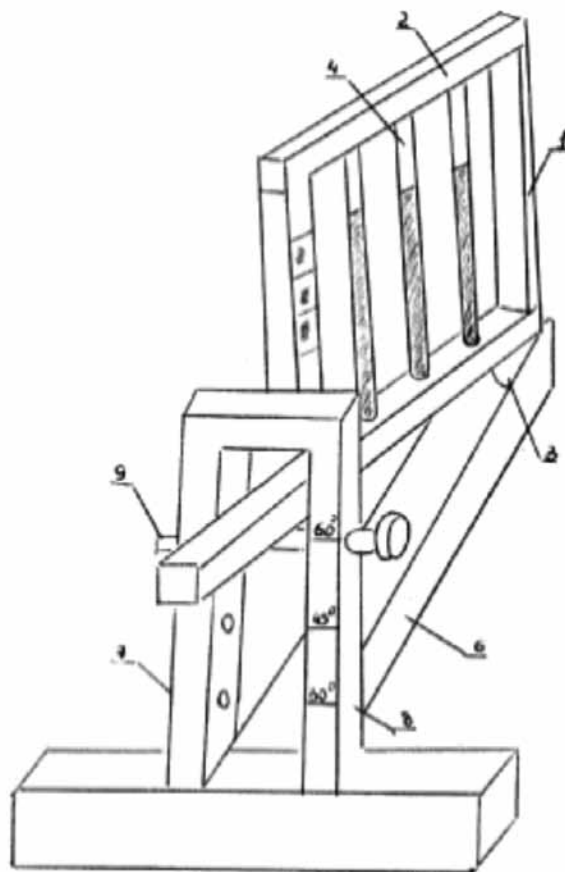
Однако для ветеринарной, медицинской теории и практики в области физиологии животных и человека, в том числе

в животноводстве еще не разработаны способ и устройство для оценки и прогнозирования стресс-чувствительности животных, с использованием приемов и средств, пригодных к производственным условиям, с целью выявления стрессового состояния жвачных плацентарных животных [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

Целью настоящей работы является оценка стрессчувствительности жвачных животных и их потомства. Для этого нами были разработаны способ и устройство для определения послеродового стресса.

Сущность устройства, осуществляющего способ поясняется, чертежом, где на рисунке – прибор в сборе.

к крестовине 6, на которой укреплена стойка 7 с выполненными отверстиями 8 для фиксации штитом 9. Против каждого отверстия 8 нанесены риски с ценой деления 30°, 45°, 60° и выше. Устройство работает следующим образом: пипетки устройства прополаскивают гепарином до метки «Р», затем отбирают 0,1% раствор адреналина гидрохлорида доведенный, до изотонической концентрации хлористым натрием до метки «Р» и выливают на часовое стекло. Потом той же пипеткой набирают у животного кровь до метки «К» и выливают на стекло в раствор адреналина гидрохлорида. Кровь и раствор адреналина гидрохлорида перемешивают концом пипетки. Пипетку наполняют сме-



Прибор в сборе

Прибор содержит боковую стойку 1, сверху 2 и нижним 3 основаниями, образующими рамку между которыми установлены пипетки 4 с пробами крови. В свою очередь на стойке 1 нанесены деления для визуального фиксирования протекания реакции. Нижнее основание 3 при помощи шарнирсоединения 5 прикреплено одним концом

к крестовине 6, на которой укреплена стойка 7 с выполненными отверстиями 8 для фиксации штитом 9. Против каждого отверстия 8 нанесены риски с ценой деления 30°, 45°, 60° и выше. Устройство работает следующим образом: пипетки устройства прополаскивают гепарином до метки «Р», затем отбирают 0,1% раствор адреналина гидрохлорида доведенный, до изотонической концентрации хлористым натрием до метки «Р» и выливают на часовое стекло. Потом той же пипеткой набирают у животного кровь до метки «К» и выливают на стекло в раствор адреналина гидрохлорида. Кровь и раствор адреналина гидрохлорида перемешивают концом пипетки. Пипетку наполняют сме-

Результаты индивидуальной стрессчувствительности организма, в опыте и кон-

троле определяют по скорости оседания эритроцитов через 30 минут. Учет осуществляется визуально. Повышенную индивидуальную чувствительность констатируют в том случае, когда разница скорости оседания эритроцитов в опытной и контрольной пробах составляет 10 мм и выше.

По показателям морфологического состава крови (эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и лейкоцитарной формулы) существенных различий между опытной и контрольной группами (стрессустойчивых и стрессчувствительных) овцематок не имеется. У овцематок контрольной группы больше скорость оседания эритроцитов (3.60 ± 0.10), меньше фагоцитарная активность нейтрофилов (65.10 ± 7.30) и количество общего белка (6.70 ± 0.18), чем у животных опытной группы (8.20 ± 0.14 ; 86.50 ± 7.50 ; 7.40 ± 0.24). По остальным показателям фагоцитарной реакции различия между группами животных статистически недостоверны ($P > 0.05$).

Различия между группами овцематок и их ягнят по гематологическому составу (эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и скорости оседания эритроцитов) недостоверные ($P > 0.05$).

По количеству палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в крови овцематок содержание сегментоядерных нейтрофилов было выше на 27% по сравнению с ягнятами. Содержание лимфоцитов в крови овцематок на 17% было ниже, чем у ягнят.

По остальным показателям лейкоцитарной формулы различия недостоверные ($P > 0.05$).

Различия по фагоцитарной емкости между группами овцематок и их ягнят достоверны ($P < 0.05$). У овцематок их количество составляло $16511, 44 \pm 11,83$, а у ягнят соответственно $13806,62 \pm 25,63$ микробных клеток.

Показатели иммунобиологической реактивности (фагоцитарная активность нейтрофилов, содержание общего белка в сыворотке крови) у стрессчувствительных овцематок достоверно ниже, чем у стрессустойчивых ($P < 0.05$). По уровню естественной резистентности овцематки отличаются от своих ягнят в значительных пределах.

У ягнят, полученных от стрессустойчивых овцематок (контрольная группа) температура тела составляла $39.7 \pm 0.07^\circ\text{C}$, частота пульса $140,6 \pm 0.96$ и частота дыхания 92.3 ± 1.19 в минуту, а у ягнят, полученных от стрессчувствительных (опытная группа) – соответственно 39.1 ± 0.08 ; 123.4 ± 1.81 ; 80.5 ± 1.03 .

По содержанию общего белка и длине тела существенных различий между груп-

пами новорожденных не установлено. Однако, масса тела ягнят опытной группы при рождении несколько выше, по сравнению с ягнятами контрольной группы.

Показатели иммунобиологической реактивности (скорость оседания эритроцитов, спонтанное розеткообразование, титр нормальных антител). У ягнят контрольной группы скорость оседания эритроцитов составила 5.30 ± 0.48 , у опытной группы 4.0 ± 0.59 ($P > 0.05$).

По количеству розеткообразующих клеток ягнята опытной группы $*8.30 \pm 0.50$ превосходили своих сверстников контрольной группы ($4.400.45$). Разница по этому показателю статистически достоверна ($P < 0.001$).

Титр нормальных антител в крови у ягнят опытной группы достоверно выше, чем у контрольных ($P < 0.01$).

По гематологическим показателям эритроциты, гемоглобин, лейкоциты и скорость оседания эритроцитов между опытной и контрольной группами ягнят в месячном, 2-месячном и 3-месячном возрасте установлены достоверные различия ($P < 0.05$). Количество лейкоцитов у ягнят опытной группы в месячном возрасте достоверно больше, чем у ягнят контрольной группы ($P < 0.05$).

Установлены значительные различия между группами ягнят в абсолютном соотношении палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов. Так, количество эозинофилов у ягнят контрольной группы в месячном возрасте на 59%, в 2-месячном на 13% и 3-месячном возрасте на 12% было больше, чем у сверстников опытной группы. По относительному количеству отдельных видов лейкоцитов достоверных различий не установлено ($P > 0.05$).

Содержание общего белка в сыворотке крови у ягнят опытной группы в месячном возрасте на 9%, 2-месячном на 5% и в 3-месячном на 5% больше, чем у контрольных. Эти различия между группами ягнят статистически недостоверны ($P > 0.05$).

Прирост альбуминов и глобулинов в сыворотке крови ягнят опытной и контрольной групп был неодинаков в различные возрастные периоды, поэтому альбумино-глобулиновый коэффициент был различен. Характерно, что у ягнят контрольной группы (0.86; 0.14; 0.73) альбумино-глобулиновый коэффициент был более высоким во все возрастные периоды по сравнению с ягнятами опытной группы (0.05; 1.05; 0.71). У ягнят опытной группы за период исследований содержание глобулинов было больше, по сравнению с ягнятами контрольной группы (полученных от стрессчувствительных овцематок), чем у опытных (полученных от

стрессустойчивых). За период исследований у ягнят опытной группы получен более высокий среднесуточный прирост массы (139.33±6.33 г), чем у ягнят контрольной группы (114.10±7.03 г).

Таким образом, результаты исследований показывают, что ягнята опытной группы в месячном, 2 и 3 месячном возрасте по гематологическому составу не отличались от своих сверстников контрольной группы. Уровень общего белка и соотношение белковых фракций в сыворотке крови у опытных несколько выше, чем у контрольных, хотя это различие статистически недостоверно ($P>0.05$). Развитие ягнят, полученных от стрессустойчивых овцематок, происходило более интенсивно, чем у аналогов, рожденных стрессчувствительными овцематками (контрольная группа).

Анализ результатов исследования лейкоцитарного фагоцитоза показывает, что у ягнят опытной группы они сравнительно выше, чем у животных контрольной группы. Так, фагоцитарная активность у ягнят опытной группы составила 36.91±4.07%, у ягнят контрольной группы 21.04±2.60 ($P<0.05$). В 2-х и 3-х месячном возрасте у ягнят опытной группы фагоцитарная активность была на 10% выше. По фагоцитарному числу статистически достоверных различий между опытной и контрольной группами ягнят не установлено ($P>0.05$). У ягнят опытной группы в месячном возрасте оно составляло 0.63±0.09, 2-х месячном 0.45±0.10 и 3-х месячном -0.48±0.09 микробных клеток, а у ягнят контрольной группы, соответственно 0.41±0.06; 0.36±0.10 и 0.46±0.10. Фагоцитарная интенсивность у ягнят контрольной группы составила в месячном возрасте 1.93±0.17, 2-х месячном 2.30±0.52 и 3-месячном 2.59±0.36 микробных клеток, у ягнят опытной группы соответственно 1.75±0.22; 2.50±0.31 и 3.0±0.45. Различия между группами животных статистически недостоверны ($P>0.05$). Фагоцитарная емкость крови достоверно снижалась у ягнят контрольной (с 995.1±0.12 до 711.7±0.17) и опытной групп (с 1586.7±0.35 до 416.9±0.20 микробных клеток в 1 мм³ крови).

Количество розеткообразующих клеток у животных контрольной группы в месяч-

ном возрасте (28.9±4.12) несколько превышало, чем у опытных (20.7±4.97), хотя общее количество лейкоцитов у них было примерно одинаково (8.45 тыс., 6.60 тыс.). В 2-месячном возрасте различие между группами статистически недостоверно. Установлено значительное различие ($P>0.05$) по проценту розеткообразующих клеток между контрольной (13.13±3.63) и опытной (25.4±5.16) группами ягнят в 3-х месячном возрасте.

Изучение динамики лимфоидных клеток, продуцирующих аутогемолизины (бляшкообразующих клеток или БОК), свидетельствует, что увеличение количества БОК с различной степенью выраженности отмечали у ягнят опытной группы. С возрастом у ягнят опытной группы этот показатель снижается, а у контрольной группы, наоборот, повышается ($P<0.05$). Максимальное содержание БОК в крови животных контрольной группы отмечали в 3-х месячном возрасте. У ягнят контрольной группы их количество составило 21.66±3.6%, у опытной группы 8.13±2.22%

Существенное различие между группами ягнят в месячном возрасте установлено по лизоцимной активности сыворотки крови, причем этот показатель у опытных ягнят был несколько ниже 2.23±0.46%, чем у контрольных 3.73±0.56%. В 2 и 3 месячном возрасте по этому показателю существенных различий между группами животных не наблюдается.

По титру гетерофильных антител между опытной и контрольной группами ягнят в месячном, 2 и 3-месячном возрасте существенных различий не установлено.

Таким образом, результаты исследования показывают, что ягнята, полученные от стрессчувствительных овцематок (опытная группа), по уровню естественной резистентности (фагоцитарной активности и емкости, по проценту розеткообразующих и бляшкообразующих клеток крови, а также по лизоцимной активности сыворотки крови) уступали ягням, рожденным стрессустойчивыми овцематками, что по-видимому, явилось причиной большой заболеваемости, падежа овцематок и ягнят в опытной группе. Результаты определения послеродового стресса у овец представлены в табл. 1.

Таблица 1

Послеродовой стресс у овец (n=30)

Группа животных и способы	Количество заболевших овцематок	Количество заболевших ягнят	Отход ягнят	
			Мертворожденных	Павших
Контрольная (известный)	3	2	-	1
Опытная предполагаемый	12	5	1	3

Как видно из табл. 1, послеродовой стресс у овцематок в контрольной и опытной группах имеет ряд особенностей. Количество стрессчувствительных овцематок было больше в опытной группе, чем в контрольной группе. Число заболевших ягнят в опытной группе значительно выше, чем среди сверстников из контрольной группы. Отход молодняка был немного больше в опытной группе по сравнению с контрольной группой.

Для оценки индивидуальной чувствительности кроликов и коров использовали аппарат Панченкова. В качестве стрессора использовали 0,1% раствор адреналина гидрохлорида доведенный до изотонической концентрации хлористым натрием. В зависимости от степени индивидуальной чувствительности системы крови животных к 0,1% раствору адреналина гидрохлорида в аппарате Панченкова с учетом скорости оседания эритроцитов были сформированы 2 группы: высокочувствительная (опытная) и слабочувствительная (контрольная). В опытную группу вошли животные с повышенной скоростью оседания эритроцитов, а в контрольную с устойчивыми показателями скорости оседания эритроцитов крови. В каждой группе по 10 животных.

Сущность адреналиновой пробы заключается в том, что для этого у животного брали кровь и определяли индивидуальную чувствительность к адреналину в аппарате Панченкова, который состоит из штатива и набора пипеток, с диаметром 1 мм.

Результаты исследования показали, что животные опытной группы по клинико-физиологическим показателям (температура тела, частота пульса и дыхания) превосходили животных контрольной группы. Изучение гематологических показателей свидетельствовало, что после воздействия адреналина, количество лейкоцитов и эритроцитов крови проявляло тенденцию к уменьшению. Общее количество ядросодержащих клеток крови в опытной группе во всех случаях уменьшалось. Лейкопения была обусловлена понижением уровня нейтрофилов. Количество эритроцитов крови животных после воздействия адреналина гидрохлорида колебалось в пределах от $5,5 - 6,0 \times 10^{12}$ клеток/л, а до воздействия составило $6,0-6,5 \times 10^{12}$.

Лейкоцитарная формула животных имеет следующие особенности. Количество сегментоядерных нейтрофилов после воздействия адреналином снизилось с 32 до 12%. Содержание лейкоцитов в крови уменьшилось с 53 до 37%. Количество эозинофилов в крови кроликов до воздействия адреналинового фактора составило 2, а по-

сле действия стресс-фактора их содержание стало 7. По остальным формам относительного содержания лейкоцитов в крови животных до и после воздействия 0,1% раствора адреналина гидрохлорида существенных различий не установлено.

Процентное соотношение, аутоиммунных розеткообразующих клеток крови животных до воздействия адреналина было меньше, чем после него. Обращает на себя внимание увеличение их количества после воздействия адреналинового фактора от 11 до 33%. Отмечено количественное увеличение эозинофилов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов крови, участвующих в аутоиммунной реакции – розеткообразовании, после воздействия адреналина гидрохлорида.

Результаты изучения влияния адреналина на некоторые иммунофизиологические показатели крови в послеродовой период показали, что скорость оседания эритроцитов была выше у животных опытной группы. Этот показатель у коров опытной группы составил в среднем 24 мм, а у контрольной группы – 8 мм.

По количеству лейкоцитов, животные контрольной группы превосходили своих сверстников из опытной группы. У животных опытной группы их количество составило в среднем $6,5 \times 10^9$ клеток/л крови, а у контрольных соответственно $8,0 \times 10^9$. Количество эритроцитов у животных опытной группы было $4,6 \times 10^{12}$ клеток/л, а у контрольной группы – $5,1 \times 10^{12}$.

Лейкоцитарная формула у животных опытной группы имеет следующую особенность: нейтрофилов – 32, лимфоцитов – 58, моноцитов – 8 и эозинофилов – 2, а у животных контрольной группы: нейтрофилов – 35, лимфоцитов – 60, моноцитов – 3, эозинофилов – 2. Процент аутоиммунных бляшкообразующих клеток в крови коров в послеродовой период составил в среднем 45,1%. Повышено их количество у животных, которые имели высокую индивидуальную чувствительность к 0,1% раствору адреналина гидрохлорида. У некоторых животных их количество составило более 50 процентов.

Содержание бляшкообразующих клеток в крови коров в послеродовой период представлено в табл. 2

Как видно из табл. 2, по проценту аутоиммунных бляшкообразующих клеток в крови животных между группами в послеродовой период установлены достоверные различия.

Таким образом, для оценки индивидуальной чувствительности плацентарных жвачных животных к неблагоприятным факторам (стресс-факторам) можно использовать адреналиновую пробу.

Таблица 2

Количество аутоиммунных бляшкообразующих клеток крови коров ($M \pm m$, $n=10$)

Группа животных	Послеродовой период, в днях			
	50±1.05	58±0.28	49±0.19	48±0.28
Опытная	50±1.05	58±0.28	49±0.19	48±0.28
Контрольная Р	43±1.30 <0.005	37±0.22 <0.001	40±0.17 <0.001	35±1.30 <0.001

Адреналиновая проба проводится с периферической кровью, далее смешивают ее с 0,1% раствором адреналина гидрохлорида и в ходе работы доводят до изотонической концентрации в аппарате Панченкова нашей модификации, и с учетом скорости оседания эритроцитов в течение суток в опытной и контрольной пробах, и при учета разницы в 10 мм и выше констатирует повышенную стресс-чувствительность плацентарных жвачных животных в послеродовой период к различным неблагоприятным факторам.

Список литературы

1. А.с. 1718826, СССР, МКИ А 61 В 10/00. Способ определения стрессчувствительности новорожденных животных / Ахмадиев Г.М.; – № 4762838/15 – 4615 – Заявлено 22. 11. 89 ; Оpubл. Б.И., 1992, № 10.
2. А.с. 1802339, СССР, МКИ G 01 33/74. Способ определения послеродового стресса у овец и устройство для определения скорости оседания эритроцитов / Ахмадиев Г.М., Гатин Г.Г.; – № 4780347/14 – 24881 – Заявлено 09. 01. 90; Оpubл. Б.И., 1993, № 10.

3. Дмитриев А.Ф. Иммунобиологические основы оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных животных. – Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Казань, 1987. – 27 с.
4. Дмитриев А.Ф. Оценка и прогнозирование устойчивости животных к заболеваниям. – Целиноград, 1983. – 54 с.
5. Лабунский В.М. Иммунологические взаимоотношения между плодом и матерью в зависимости от степени проницаемости плаценты у смушковых овец // Науч. тр. Целиноград. с.-х. ин-та, 1979, т. 27. – С. 72-87.
6. Лабунский В.М. Исследования по разработке методов гемотрансфузии у животных и подбора биологически сочетаемых родительских пар в овцеводстве по иммунобиологическим свойствам их крови // Докл. о содерж. выполн. и опублик. работ представл. на соискан. докт. вет. наук. – Харьков, 1973. – 106 с.
7. Чижевский А.Л. Биофизические механизмы реакции оседания эритроцитов. – Новосибирск, 1980. – 177 с.
8. Эверли Дж. С., Розенфельд Р. Стресс природа и лечение: Пер. С англ. – М.: Медицина, 1985. – 224 с.
9. Allen Z.S., Meclure J.E., Goldstein A S et al Estrogen and thymic hormone interactions in the femal mouse. – I. Reprod. Sisvem, 1984, vol 6, p. 25-37