

УДК 611.08:57.08:612.216.2:612.13

РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ БОЛЕЗНЕЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ В УСЛОВИЯХ COVID-19: ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ЗДОРОВЫХ И СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЛЕГКИХ

Хамчиев К.М., Исаева З.К., Сулейменова Ф.М., Сагимова Г.К., Адайбаев К.Т.

Медицинский университет Астана, Нур-Султан, e-mail: kureysh2562@gmail.com

Тяжелый острый респираторный синдром коронавируса 2 (SARS-CoV-2), вызывающий коронавирусную болезнь 2019 г. (COVID-19), достиг пандемического уровня. В настоящее время имеются многочисленные свидетельства того, что коронавирус COVID-19 может серьезно поражать сердце, кровеносные сосуды, нервы, мозг, почки и кожу. Конечно, легкие и дыхательные пути находятся в центре внимания при респираторном заболевании COVID-19. В данной статье с использованием реографической методики изучены характерные показатели кровообращения в малом круге и морфологическая картина легочной ткани при спонтанном дыхании у интактных животных, а также описана гистологическая картина легочной ткани интактных крыс. Легочное кровообращение и паттерны дыхания изучались с использованием метода регистрации репульмографии у крыс. С учетом того, что стрессорные факторы, как правило, действуют на организм не изолированно, а в совокупности, в работе было исследовано комбинированное влияние двух стресс-факторов: гипокинезии и пониженной температуры на перечисленные выше показатели. Вскрытие крыс после стресс-индуцированной альтерации легких позволило выявить серьезные морфологические и гемодинамические изменения в данном органе. Основные нарушения при этом были связаны с нарушением легочной гемодинамики на уровне пре- и посткапиллярного русла и определялись степенью выраженности признаков кровенаполнения сосудов, повышения давления в них, уровня застойных явлений и проницаемости сосудистых стенок, в особенности на венозном участке.

Ключевые слова: COVID-19, дыхание, морфология легких, отек легких, легкие, стресс-факторы, иммобилизация, гипотермия, легочное кровообращение, кардиореспираторная система, реограмма

ROLE OF BIOLOGICAL MODELING OF RESPIRATORY DISEASES IN COVID-19 CONDITIONS: HISTOLOGICAL PICTURE OF HEALTHY AND STRESS-INDUCED LUNGS

Khamchiev K.M., Isaeva Z.K., Suleymenova F.M., Sagimova G.K., Adaybaev K.T.

Astana Medical University, Nur-Sultan, e-mail: kureysh2562@gmail.com

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), which causes the 2019 coronavirus disease (COVID-19), has reached a pandemic level. Currently, there is abundant evidence that COVID-19 coronavirus can seriously affect the heart, blood vessels, nerves, brain, kidneys, and skin. Of course, the lungs and respiratory tract are the focus of attention for COVID-19 respiratory disease. This article assesses the parameters of pulmonary circulation in the dynamics of the respiratory cycle phases during spontaneous respiration in intact animals, and describes the histological picture of the lung tissue of intact rats. Pulmonary circulation and respiratory patterns were studied using the method of recording reopulmonography in rats. Taking into account the fact that stress factors usually act on the body in combination, in experiments on rats with hematoxylin and eosin staining of lung tissue, functional changes in pulmonary circulation and the histological picture of the lungs under the combined effects of immobilization and hypothermia were studied. It was found that disorders occurring at the level of microcirculatory vessels of the lung tissue are accompanied by a decrease in blood filling, the development of signs of arteriolar spasm, an increase in blood filling of capillaries and postcapillary venules with a steady increase in the permeability of the vascular wall.

Keywords: COVID-19, respiration, lung morphology, pulmonary edema, lungs, stress factors, immobilization, hypothermia, pulmonary circulation, cardiorespiratory system, rheogram

В настоящее время в связи с пандемией COVID-19 внимание многих исследователей направлено на изучение динамики дыхательных и кровеносных изменений в органах и тканях, а также на изучение путей профилактики этого заболевания [1–3]. Осложнения COVID-19 могут включать дыхательную недостаточность и внезапный респираторный дистресс-синдром, сердечную недостаточность и нарушения сердечного ритма, почечную недостаточность, полиорганную недостаточность и смерть. COVID-19 в первую очередь известен как респираторное заболевание [2, 3].

Конечно, легкие и дыхательные пути находятся в центре внимания при респираторных заболеваниях COVID-19. Поскольку новый патоген SARS-CoV-2 в основном поражает нижние дыхательные пути, инфицированные люди, которые испытывают умеренное или тяжелое заболевание, имеют сухой кашель, одышку и / или пневмонию [3, 4].

Сегодня на фоне серьезной пандемии COVID-19 особенно остро встает вопрос необходимости биологического моделирования болезней на мелких лабораторных животных. Важным фактором является соз-

дание таких экспериментальных моделей, которые бы наиболее адекватно отражали и помогали объяснить механизмы возникновения заболеваний дыхательной системы и пути их профилактики и лечения. Проведение таких экспериментов невозможно без детального изучения морфологических и физиологических характеристик легочной ткани, включающих ее гистологическое строение и кровоснабжение. Однако до настоящего времени структурно-функциональные особенности легких лабораторных животных изучены недостаточно. Анализ доступных литературных источников демонстрирует фрагментарность подобных исследований [5].

В литературе имеются данные о нормальных значениях основных показателей динамики крови в большом и малом кругах кровообращения, таких как тонус сосудов, кровенаполнение, степень оводнения легочной ткани, в зависимости от степени выраженности венозного застоя крови [6, 7]. Однако нам не удалось найти работ, которые позволили бы оценить эти показатели у здоровых животных в разные фазы дыхания: во время спонтанного вдоха и выдоха.

Поэтому на первом этапе исследования перед нами стояла задача изучить анатомо-физиологические и гистологические особенности легких здоровых животных на фоне спонтанного дыхания.

Как показывает опыт многолетнего изучения стресса, он представляет собой стандартную адаптационную реакцию в ответ на действие большого числа различных по природе факторов (интоксикация, кровопотеря, травма, инфекционный процесс, длительная физическая или психическая нагрузка и т.д.), потенциально угрожающих существованию организма. Вне зависимости от причины, ее вызвавшей, в основе стресс-реакции лежит повышенная выработка адренортикогормона (АКТГ) и индуцированная ею гиперпродукция надпочечниками стероидных гормонов. Картина стресса была впервые описана Г. Селье в 1936 г. как «синдром, вызываемый различными вредными агентами», впоследствии получивший известность как общий адаптационный синдром, или синдром биологического стресса [8, 9].

В литературе также имеется большое число работ, посвященных изучению системной и легочной гемодинамики при сосудистых заболеваниях респираторной системы методом реопульмографии.

Однако клиническое значение реографических данных у больных с нарушениями кровообращения в малом круге, а также функциональных и морфологических осо-

бенностей ткани легких остаются недостаточно изученными, а трактовка полученных результатов в практической работе представляет значительные трудности.

Сведения о реографических показателях в норме и при нарушении легочного кровотока весьма скудны и противоречивы. Так, разнонаправленные изменения системной и регионарной гемодинамики на один и тот же стресс у различных видов животных отмечались рядом исследователей [2, 3, 10].

Вышеизложенное свидетельствует о необходимости более детального изучения и уточнения, а именно, динамики реографических показателей в норме и при нарушении легочного кровотока [10–12].

В доступной литературе мы не обнаружили данных о комплексном влиянии иммобилизации и гипотермии на морфофункциональные изменения легких.

Цель исследования: изучение морфофункциональных особенностей легочной ткани у здоровых животных при спонтанном дыхании, а также их изменений на фоне моделирования стресс-индуцированной альтерации под влиянием комплексного воздействия гипотермии и иммобилизации.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 30 белых беспородных крысах обоего пола массой от 170 до 250 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария и брались в эксперимент натощак.

Экспериментальные животные распределялись по следующим группам:

1 группа – интактные животные (8 крыс). Кроме легкого наркоза и записи реограммы, эти животные не подвергались экспериментальным воздействиям.

2 группа – 8 крыс, здоровые животные, у которых после вскрытия грудной клетки изучались гистологические характеристики легочной ткани.

3 группа – экспериментальная (14 белых крыс), у которых изучали реопульмографические показатели, морфологические и физиологические изменения в легких при комбинированной стрессовой альтерации легких форсированным снижением двигательной активности и снижением температуры окружающей среды. Сочетанный эффект гипотермии и иммобилизации вызывался фиксацией животных в тесной камере, объем которой составлял 80 см³, в течение 10 дней на протяжении 6 ч. Камера, за счет мелких отверстий, имела сообщение с окружающей средой, где поддерживалась температура + 3 + 4 °С [10, 12].

Системная и легочная гемодинамика изучалась на аппарате Реан-Поли с запи-

сю реопульмонограммы, реограммы (РГ), дифференциальной кривой и электрокардиограммы во втором стандартном отведении. Описанный способ регистрации кровообращения и наложения токовых и потенциальных электродов был разработан на кафедре нормальной физиологии Медицинского университета «Астана» [12, 13].

После эвтаназии легкие крыс извлекались из грудной клетки и взвешивались. У половины животных (7 крыс) изучалось оводнение легких путем высушивания в сухожаровом шкафу, расчета весового коэффициента (ВК) и сухого остатка (СО). У семи животных ткань легких забиралась на гистологическое исследование. После окраски срезов гематоксилином и эозином проводилось микроскопическое описание препаратов. При обработке полученных результатов использовали общепринятый метод статистики с использованием компьютерной прикладной программы Statistica 6,0 и Microsoft Exsell Professional. Достоверность полученных результатов оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

РГ проводилась при частоте переменного тока в среднем, силе тока и напряжении на электродах 4В.

Сущность реографического метода заключается в регистрации кривой, которая отражала изменения электрического сопротивления тканей и органов, находящихся между электродами при ритмичной деятельности сердца.

Через исследуемый участок тела пропускался ток высокой частоты (50 кГц) и малой силы (2–3 мА). Исследуемая область тела для пропускаемого тока представляла определенное сопротивление. Высокочастотный ток, проникая глубоко в ткани изучаемого участка, распределялся по пути наименьшего сопротивления, то есть по кровеносным сосудам, в которых электрическое сопротивление закономерно изменялось при каждой пульсовой волне. Изменения электрического сопротивления в зависимости от систолы и диастолы вызвали колебание напряжения в цепи, которое улавливалось реографом, передавалось на самописец, усиливалось и регистрировалось в виде реографической кривой. В качестве самописца использовался электрокардиограф ЭК4Т-02.

Контурный анализ реографической кривой сводился к ее качественной и количественной оценке. При визуальной оценке изучали ритмичность, регулярность и форму реографических волн, устойчивость их

элементов, характер вершины, крутизну анакротической и катакротической фаз, количество и выраженность пресистолических венозных волн.

Качественная оценка реограммы сводилась к измерению амплитудных и временных отрезков кривой, которые отражали состояние тонуса сосудов, их эластичность, величину ударного объема.

К амплитудным показателям относились:

– Ас – амплитуда систолической волны в мм, основная амплитуда реограммы, измеряется от основания систолической волны до высшей точки реограммы, данный показатель отражает уровень максимального пульсового колебания кровенаполнения и степень раскрытия сосудистого русла;

– Ад – амплитуда диастолической волны в мм, или диастолический индекс, измеряется от основания диастолической волны до высшей ее точки, отражает степень периферического сопротивления оттоку крови из артерий в область мелких вен.

Расчет амплитуды в омах производится путем деления амплитуды кривой в миллиметрах на высоту калибровочного импульса в миллиметрах и умножения полученной величины на постоянную величину калибровочного сигнала реоплетизмографа в Омах (0,1 или 0,5).

Временные показатели РГ представляют собой промежутки времени между зубцом Q на ЭКГ и началом РГ волны (t) и между другими характерными точками на РГ-волне. Систолическая волна на зарегистрированных нами реограммах интактных (здоровых) крыс характеризовалась вначале крутым подъемом, а затем приобретала более пологий характер и переходила в закругленную вершину. Соответственно, этим отрезком анакроты мы определяли фазы быстрого (Еб, с) и медленного систолического кровенаполнения (Ем, с), длительность всей анакроты обозначали как период максимального кровенаполнения (Е макс, с). Интервалу от зубца Q ЭКГ до начала подъема реографической кривой, отражающему время распространения пульсовой волны на участке сердце – исследуемая ткань соответствовал период напряжения (Т, с) при фазовом анализе систолы желудочков сердца. Точка перехода от крутой к более пологой части восходящего колена указывала на максимальную скорость наполнения сосудов в фазе быстрого систолического кровенаполнения. Дифференциация этой точки на реографической кривой (объемной реограмме) затруднительна, но четко обнаружилась на первой производной, отражающей скорость изменения регистрируемого процесса во времени (дифферен-

циальной реограмме), являясь вершиной основного зубца. Следующий период, который мы определяли по реограмме – время общего кровенаполнения мозговых сосудов (E_0, c) – отрезок кривой от начала до точки максимального углубления инцизуры, расположенной на катакроте, и отражает колебания сопротивления в момент захлопывания полулунных клапанов сердца.

Исходя из полученных амплитудных и временных данных реограммы, рассчитывались следующие основные показатели:

– Реографический индекс – (РИ) отношение амплитуды систолической волны в миллиметрах к величине калибровочного импульса в миллиметрах. Вместе с амплитудной систолической волны РИ характеризовал величину пульсового кровенаполнения легких (выражается в относительных единицах).

– Коэффициент систоло-диастолического отношения (A_c/A_d) – отношение амплитуды систолической волны к амплитуде диастолической, отражающее степень преобладания артериального притока во время систолы над венозным оттоком во время диастолы.

– Амплитудно-частотный показатель (АЧП) – отношение реографического индекса (РИ) к длительности сердечного цикла (RR). АЧП характеризует величину объемного кровотока в исследуемой области в единицу времени.

Частота дыхания у здоровых животных равнялась $76 \pm 3,03 \text{ мин}^{-1}$. При этом $0,33 \pm 0,01 \text{ с}$ приходилось на фазу вдоха, а $0,32 \pm 0,01 \text{ с}$ на фазу выдоха; дыхательная пауза была очень короткой и измерить ее продолжительность не представлялось возможным.

Реографическая кривая здоровых животных напоминала обычную сфигмограмму, состоящую из восходящего систолического участка, отражавшего приток крови к легочным сосудам и пологого диастолического отрезка, который, в зависимости от наличия и высоты дикротической волны, свидетельствует о характере венозного оттока крови к сердцу.

Нами было обнаружено, что продолжительность фаз изгнания крови из сердца и период напряжения его миокарда остается неизменным вне зависимости от фаз дыхательного цикла. Однако амплитудные показатели реопульмонограммы существенно разнятся на вдохе и выдохе. У здоровых животных амплитуда систолической волны равнялась $1,12 \pm 0,04 \text{ Ом}$, в то время как амплитуда диастолы была $0,68 \pm 0,03 \text{ Ом}$. Реографический индекс при этом был равен $0,5 \text{ Ом}$. Систолю-диастолическое отношение

составляло $1,65 \pm 0,09$. На выдохе A_c и A_d снижались до $0,42 \pm 0,07 \text{ Ом}$ и $0,59 \pm 0,08 \text{ Ом}$ соответственно. РИ при этом изменялся незначительно и равнялся $0,47 \pm 0,02 \text{ Ом}$, однако систоло-диастолическое отношение понизилось значительно – до $0,71 \pm 0,08 \text{ Ом}$, что свидетельствовало о затруднении венозного возврата крови к сердцу через систему легочных вен.

При гистологическом исследовании ткани легких здоровых интактных крыс было обнаружено, что большая часть паренхимы легких – легочные альвеолы, которые выстланы уплощенным альвеолярным эпителием. Между альвеолами располагаются тонкие перегородки, в которых прослеживаются капилляры без признаков эритростаза, в просвете посткапиллярной венулы не обнаруживается диапедезных кровоизлияний, также не наблюдались признаки отека межальвеолярных перегородок. Лимфатические фолликулы в составе бронхов обнаруживались редко (рис. 1).

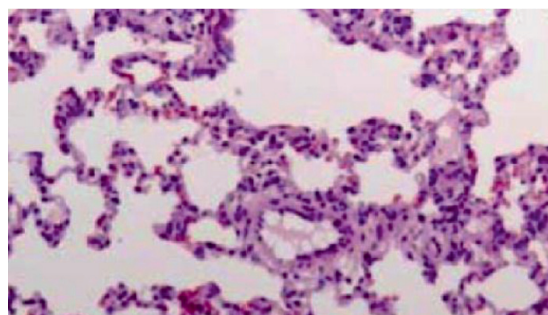


Рис. 1. Ткань легких здоровой крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Изменения РГ при стресс-индуцированной альтерации показали, что в первый день, до 1 часа опыта, отмечается стойкая тенденция к снижению уровня наполнения кровью легочных сосудов (весовой коэффициент снижался от 1,3 до 0,6). На это указывало изменение временных параметров РГ: укорочение отрезков времени, отражающих периоды полного изгнания крови из сердца и напряжения миокарда, снижение АЧП). Амплитудные показатели также свидетельствовали об увеличении тонуса сосудов на уровне микроциркуляторного русла (снижение A_c , повышение A_d , уменьшение систоло-диастолического отношения A_c/A_d ниже единицы).

В дальнейшем, через 1 час после начала стрессорного воздействия, вероятно вследствие адаптации животных к экстремальным условиям и включению механизмов противодействия стрессу, перечислен-

ные изменения стремились к нормализации (к уровню контрольных животных). В это время амплитудные и временные показатели у всех крыс контрольной группы, за исключением двух не отличались от таковых у здоровых животных. Однако после второго часа эксперимента вновь наступали изменения, аналогичные отмечавшимся в первый час опыта, и более того, они усугублялись.

Перечисленные нарушения сохранялись до последнего дня экспериментальной серии.

Гистологическое описание легочной ткани проводили у семи крыс (группа 3а) на пятые, а у остальных (группа 3б) – на десятые сутки от начала эксперимента.

Характерные морфологические признаки легочной ткани были однонаправленными у всех контрольных животных.

Гистологическая картина легочной ткани животных группы 3а (окраска гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$) свидетельствовала о значительных сдвигах микроциркуляторного кровообращения, что проявлялось на срезах признаками стаза эритроцитов на уровне посткапиллярных

сосудов, диапедезными кровоизлияниями из капилляров, отеком межальвеолярных перегородок.

В ткани легких подопытных крыс отмечали развитие острого полнокровия капилляров и посткапиллярных венул со стазом эритроцитов. Отмечались отек межальвеолярных перегородок и диапедезные кровоизлияния из сосудов капиллярного типа (рис. 2). Также отличительными особенностями в это время были фибриноидное набухание стенок артериол, которые были фрагментарно спазмированными и в их просветах обнаруживалось небольшое количество красных кровяных клеток. Отмечалось полнокровие и парез расширенных капилляров, что свидетельствовало о прогрессирующей тканевой гипоксии (рис. 3).

На фоне полнокровия венозного участка микроциркуляторного русла отмечали частичный спазм и малокровие артериол, а в сосудистых стенках – фибриноидное набухание (рис. 4).

Расстройство микрогемодикуляции сопровождалось паретическим расширением капилляров.

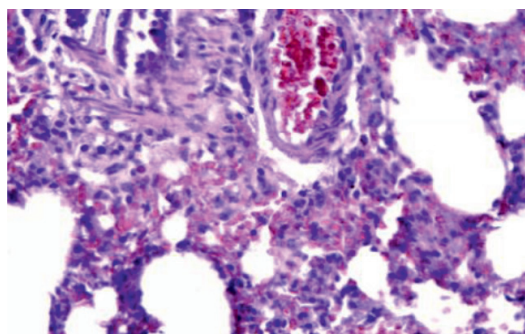


Рис. 2. Острое полнокровие. Стаз эритроцитов

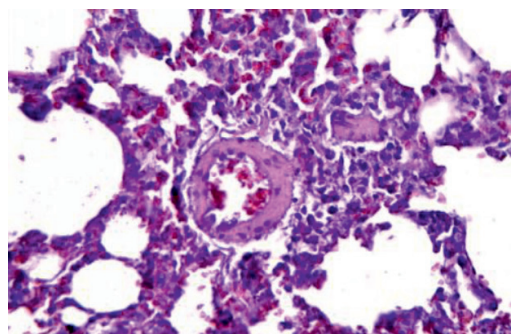


Рис. 3. Отек межальвеолярных перегородок и диапедезные кровоизлияния

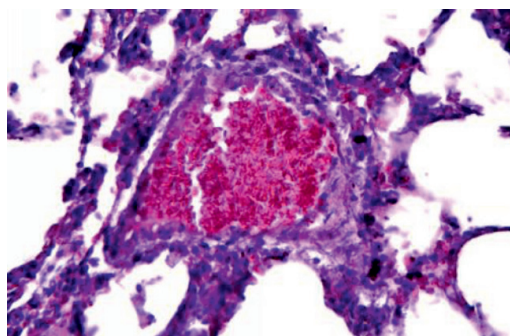


Рис. 4. Парез капилляров. Сладжирование эритроцитов

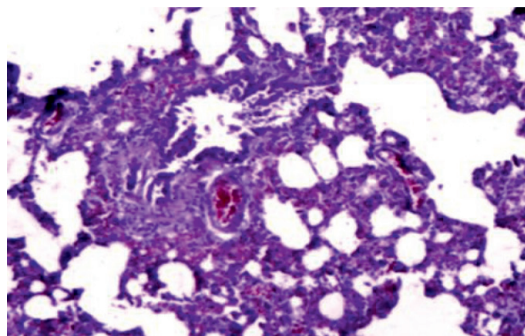


Рис. 5. Бронхоспазм с очаговой пролиферацией и десквамацией эпителиальной ткани слизистой оболочки бронхов

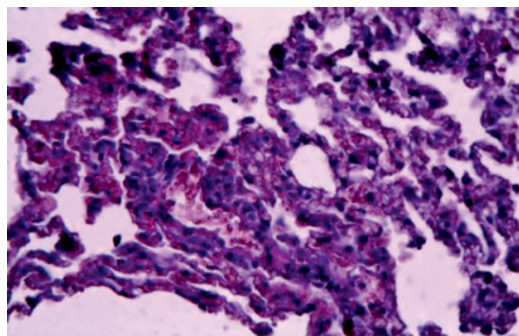


Рис. 6. Дистелектаз паренхимы легких и наличием эритроцитов в просветах щелевидных альвеолярных ходов

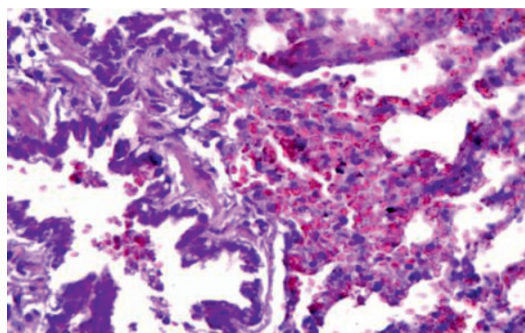


Рис. 7. Диapedез лимфоцитов с лимфоцитарной инфильтрацией стенки бронха

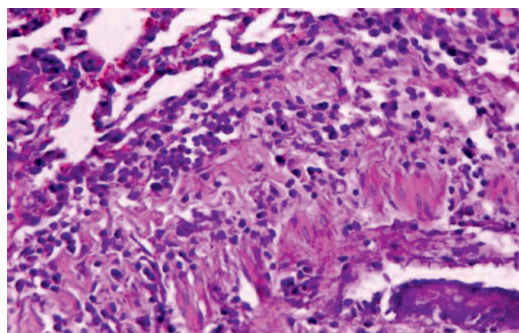


Рис. 8. Диapedез лимфоцитов с лимфоцитарной инфильтрацией стенки бронха

На десятые сутки у крыс группы 3б отмечались еще более серьезные нарушения (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$): наблюдались явления бронхоспазма с очаговой пролиферацией и десквамацией эпителиальной ткани слизистой оболочки бронхов (рис. 5), дистелектаза паренхимы легких и наличием эритроцитов в просветах щелевидных альвеолярных ходов (рис. 6), кровоизлияниями в перибронхиальной ткани с диapedезом эритроцитов в просвет бронха (рис. 7), диapedез лимфоцитов с лимфоцитарной инфильтрацией стенки бронха и межальвеолярных перегородок на фоне повышенного кровенаполнения и очаговой эмфиземы (рис. 8).

Выводы

Таким образом, основные нарушения гемодинамики, вызванные сочетанным влиянием двух стрессорных факторов – длительной иммобилизации и пониженной температуры, проявляются в понижении уровня кровенаполнения легочных сосудов, повышении тонуса прекапилляров и веноз-

ном застое крови в легких. Гистологические и физиологические нарушения легочной ткани свидетельствуют о развивающихся к середине эксперимента реактивном бронхоспазме и тканевой гипоксии, крайними проявлениями которых становятся к концу опыта очаговая эмфизема и дистелектаз легочной паренхимы.

Результаты, полученные в этой работе, помогут теоретикам и врачам глубже понять механизмы изменений, происходящих в органах и тканях под влиянием комбинированного стресса во время пандемии COVID-19. Это также будет полезно для выявления особенностей сердечно-сосудистых осложнений, разработки моделей риска легочных и сердечных осложнений, а также для теоретического обоснования методов лечения.

Список литературы

1. Team TNCPERE. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19). China CDC Weekly. 2020. Vol. 2 (8). P.113–122.
2. Cowan L.T., Lutsey P.L., Pankow J.S., Matsushita K., Ishigami J., Lakshminarayan K. Inpatient and outpatient infec-

tion as a trigger of cardiovascular disease: the ARIC study. *J Am Heart Assoc.* 2018. Vol. 7 (22). P. e009683–e009683.

3. Tell Leonid. The Best Way to Prevent and Treat coronavirus Infections. *Acta Scientific Medical Sciences.* 2020. Vol. 4.8. P. 12–14.

4. Madjid M., Miller C.C., Zarubaev V.V., et al. Influenza epidemics and acute respiratory disease activity are associated with a surge in autopsy-confirmed coronary heart disease death: results from 8 years of autopsies in 34,892 subjects. *Eur Heart J.* 2007. Vol. 28 (10). P. 1205–1210.

5. Серебряков И.С., Романова Л.К. Респираторный отдел лёгких интактных мышей линии BALB // *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.* 1984. Т. 86. № 5. С. 56–63.

6. Chen X., Li L., Hu J, Zhang C., Pan Y., Tian D. Anti-inflammatory effect of dexmedetomidine combined with hypothermia on acute respiratory distress syndrome in rats. *J Surg Res.* 2017. Vol. 216. P. 179–184.

7. Dutta S.M., Mustafi S.B., Raha S, Chakraborty S.K. Bio-monitoring role of some cellular markers during heat stress-induced changes in highly representative freshwater mollusc, *Bellamyia bengalensis*: Implication in climate change and biological adaptation. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018. Vol. 157. P. 482–490.

8. Bartolomucci A., Wookey P.J., et al. Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. *Neuroscience biobehavior review.* 2005. Vol. 29. № 1. P. 67–81.

9. Bernatova I., Csizmadinova Z. Effect of chronic social stress on nitric oxide synthesis and vascular function in rats with family history of hypertension. *Life sciences.* 2006. Vol. 78. № 15. P. 726–732.

10. Khamchiev K.M. Hemodynamics in the lungs of rats with hypothermia on the background of immobilization. *International journal of applied and fundamental research.* 2015. Vol. 6. № 2. P. 252–254.

11. Khamchiev K.M., Absatirova V.K., Ostanin A.A., Shmidt K.V. Influence of hypothermia and immobilization on the main functions of a human body. *Astana of Meditsinalyk journal.* 2014. № 1. P. 7–11.

12. Khamchiev K.M., Shandaulov A.Kh., Ibraeva S.S., Ostanin A.A., Zhiyengalieva A.K. Morphological and functional changes of lungs with the complex effect of immobilization and hypothermia. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation.* 2020. Vol. 24. Issue 08. P. 13915–13921.

13. Ibrayeva S.S., Khamchiyev K.M., Ibrayeva G.S., Rakhimzhanova Zh.A., Shandaulov A.Kh. The general conditions of animals after the dual stress effect. *Science and world.* 2017. Vol. 3. № 4 (44). P. 70–71.