

На правах рукописи

ХАРЛАП СВЕТЛАНА ЮРЬЕВНА

**СТРЕСС-РЕАКЦИЯ КАК ИНДИКАТОР АДАПТАЦИОННОГО
ПОТЕНЦИАЛА ГИБРИДНЫХ ЦЫПЛЯТ КРОССА ЛОМАН-БЕЛЫЙ**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Казань - 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южно-Уральский государственный аграрный университет», Институт ветеринарной медицины

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор

Дерхо Марина Аркадьевна

Официальные оппоненты:

Топурия Гоча Мирианович - доктор биологических наук, профессор кафедры технологии производства и переработки продукции животноводства ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»

Лебедева Ирина Анатольевна – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела промышленного птицеводства ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский институт»

Ведущая организация

ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

Защита состоится «___» _____ 2016 г. В 16⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана».

Автореферат разослан « .. »2017 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://ww.ksavm.senet.ru>

Ученый секретарь
диссертационного совета

Гильмутдинов Рустам Якубович

Общая характеристика работы

Актуальность исследований. Изучение закономерностей адаптации организма животных к действию различных стресс-факторов является одной из актуальных проблем в современной биологии.

Наиболее важной защитно-приспособительной реакцией, сложившейся в процессе эволюции организмов как средство сохранения жизни к постоянно меняющимся условиям среды обитания, является стресс-реакция (Сотникова, Е.Д. Гематологические показатели в условиях стресса [Электронный ресурс]. - Е.Д. Сотникова. – Режим доступа: www/vetportal.ru/post/939/html/2009 (дата обращения 14.03.2016)). Независимо от природы стресс-индуцирующего воздействия, она обладает универсальностью. Животный организм реагирует на стресс стереотипным набором биохимических и физиологических процессов, протекание которых обеспечивает неспецифическую или срочную адаптацию (Дерхо, М.А. Динамика биохимических показателей в ходе остеогенеза после травмы различных костей скелета у собак: автореф. дис. ... докт. биол. наук, 03.00.04 / М.А. Дерхо. – Москва : МГАВМиБ, 2004. – 32 с.; Бусловская, Л.К. Лейкоцитарные индексы и биохимические параметры крови кур при вибрационном воздействии разной частоты / Л.К. Бусловская, А.Ю. Ковтуненко // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. – 2009. – №7. – С. 8-14; Цветков, И.Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации автореф. дис. ... докт. биол. наук, 03.00.16 / И.Л. Цветков. – Мытищи: МГОУ, 2009. – 46 с.).

Стресс-реакция (срочная адаптация) не является для организма окончательной. Она представляет собой первую фазу индивидуальной адаптации, из которой развивается следующая фаза – устойчивая или долгосрочная адаптация (Цветков, И.Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации автореф. дис. ... докт. биол. наук, 03.00.16 / И.Л. Цветков. – Мытищи: МГОУ, 2009. – 46 с.). Однако длительность стресс-реакции и степень компенсации нарушений физиологических функций определяет «цену адаптации», и поэтому, в наибольшей степени, характеризует адаптационный потенциал организма, обусловленный генетически запасом пластических и энергетических резервов.

В последние годы в птицеводстве России активно используются импортные кроссы птиц, что позволяет сокращать сроки получения высокопродуктивных гибридов и экономить денежные средства. В то же время адаптационный потенциал организма птиц разной формы гибридности практически не изучен, хотя имеется достаточное количество научных работ, в которых охарактеризованы вопросы адаптивности импортных пород крупного рогатого скота и свиней (Мухамедьярова, Л. Г. Характеристика адаптационного потенциала импортных коров симментальской породы австрийской селекции в условиях агроэкосистемы Южного Урала: автореф. дис. ... канд. биол. наук, 03.03.01 / Л.Г. Мухамедьярова. – Троицк: УГАВМ, 2010. – 24 с.; Размазина, Н.Б. Адаптационные и биологические особенности отечественных и импортных пород

свиней, разводимых в условиях Среднего Поволжья: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук, 06.02.07 / Н.Б. Размазина. – Кинель: Самарская ГСХА, 2010. – 25 с.; Коваленко, Н.А. Комплексная система оценки адаптационного потенциала свиней при породно-линейном разведении: автореф. дис. докт. биол. наук, 06.02.07 / Н.А. Коваленко. – Ставрополь: СНИИЖиК, 2012. – 32 с.; Сутолкин А.А. Оценка адаптационной способности животных голштинской породы немецкой селекции по интерьерным и хозяйственно-полезным признакам: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук, 06.02.1 / А.А. Сутолкин. – Дубровицы: ГНУ ВНИИЖРАСХН, 2013. – 24 с.)

В основе адаптационных процессов живых организмов лежат разнообразные биохимические реакции (Ковалев, Н.Н. Холинэстеразы – биохимические механизмы адаптации гидробионтов: автореф. дис. ... докт. биол. наук, 03.00.16, 03.00.04 / Н.Н. Ковалев. – Владивосток: Тихоокеанский НИРХЦ, 2003. – 36 с.; Мамылина, Н.В. Ферментемия как показатель повреждения организма при длительном эмоциональном стрессе и гипокинезии / Н.В. Мамылина, Н.А. Белоусова // Вестник Челябинского государственного педагогического университета. Серия 4. Естественные науки. – 2003. – № 5. – С. 120-123.; Агаджанян, Н.А. Стресс и теория адаптации: монография / Н.А. Агаджанян. – Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ, 2005. – 190 с.; Цветков, И.Л. Биохимические параметры стресс-редуцирующей реакции гидробионтов при интоксикации автореф. дис. ... докт. биол. наук, 03.00.16 / И.Л. Цветков. – Мытищи: МГОУ, 2009. – 46 с.; Карагайчева, Ю.В. Биохимические исследования крови животных, подвергнутых комбинированному воздействию ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц / Ю.В. Карагайчева, С.М. Рогачева, С.И. Баулин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12. - № 1(8). – С. 1973-1975.; Дерхо М.А. Особенности стресс-реакции организма мышей при комбинированном воздействии сульфата кадмия и вибрации / М.А. Дерхо, Т.И. Середя, О.А. Хижнева // Современные концепции научных исследований. – 2014. – №6. – Ч. 4. – С. 101-103.)

Поэтому биохимические показатели можно использовать для диагностики стресса и оценки адаптационных возможностей организма. Установлено, что на действие любого стрессора очень быстро реагируют ферменты, активность которых отражает скорость обмена веществ и энергии в ходе формирования приспособительных реакций (Рапиев, Р.А. Биохимический статус организма животных как компенсаторно-регуляторная реакция на фоне действия стресса / Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 10. – С. 2263-2669.; Helal, G.E. Effect of noise stress and/or sulphur dioxide treatment on some physiological and histological parameters in female albino rats / G.E. Helal, F. Eid, M.T. Neama // The Egypt J. hospital med. – 2011. – Vol. 44. – P. 295-310).

В частности, по концентрации аминотрансфераз и щелочной фосфатазы можно судить об общей направленности обменных и энергетических процессов в животном организме и, как следствие, мобильности адаптационных резервов.

Однако в настоящее время для характеристики адаптивных реакций и адаптационных возможностей животного организма, в основном, используют морфологические показатели крови (Гаркави, Л.Х. Адаптационные реакции и

резистентность организма / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. // - Ростов н/Д., 1979. - 119 с. Изд.третье, доп.- 1990.- 223 с; Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови. / П.Д.Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова // Москва : Медицина, 1983. – С. 239.; Дерхо, М.А. Особенности реакции красной крови при травмах трубчатых костей // Ветеринарная клиника. – 2004. – Т. 1. – С. 18.; Л.К. Бусловская, Л.К. Лейкоцитарные индексы и биохимические параметры крови кур при вибрационном воздействии разной частоты / Л.К. Бусловская, А.Ю. Ковтуненко // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. – 2009. – №7. – С. 8-14; Терман, А.А. Антистрессовая активность и токсичность цитрата лития для кур с различной стрессовой чувствительностью: автореф. дис. ... канд. вет. наук, 06.02.03. / А.А. Терман. – Троицк: УГАВМ, 2013. – 20 с.; Фисинин, В.И. Тепловой стресс у птиц. Сообщение I. Опасность, физиологические изменения в организме, признаки и проявления (обзор) / В.И. Фисинин, А.Ш. Кавтарашвили // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50. – № 2. – С. 162-171).

В то же время реакция клеток органов и тканей на воздействие различных стресс-факторов, оцениваемая по активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ), практически не изучена. Поэтому изучение стресс-индуцированных изменений ферментов в клетках печени, сердца, почек, скелетных мышц позволит определить их участие в процессах «срочной адаптации» птиц при воздействии экстремальных факторов, что расширит представление о механизмах стресс-реакции.

Степень разработанности проблемы. Проблема стресса привлекает внимание у широкого круга исследователей. В настоящее время разработана классификация стресс-факторов и определено их влияние на здоровье и продуктивность птиц; сформулирована концепция формирования стрессовых реакций и развития общего адаптационного синдрома; открыты различные уровни адаптационных реакций; разработаны методы определения стрессустойчивости животных и птиц, а также профилактики стрессовых состояний и повышения адаптационного потенциала (Кичеепл, Т.Г. Прогнозирование стресс устойчивости кур родительского стада в раннем возрасте: автореф. дис. ... канд. вет. наук, 16.00.02 / Т.Г. Кичеепл. – Иваново: Ивановская ГСХА, 2000. – 22 с.; Забудский, Ю.И. Проблемы адаптации в птицеводстве / Ю.И. Забудский // С.-х. биология. – 2002. – № 6. – С. 80-85.; Лукичева, В.А. Влияние глицината натрия на адаптационные процессы при моделированном стрессе у сельскохозяйственных птиц / В.А. Лукичева // Аграрный вестник Урала . – 2009. – № 5 (59). – С. 72-74.; Бусловская, Л.К. Адаптация кур к факторам промышленного содержания / Л.К. Бусловская, А.Ю. Ковтуненко, Е.Ю. Беляева // Научные ведомости. – 2010. – № 21(92). – Вып. 13. – С. 96-102.; Мифтахутдинов, А.В. Взаимосвязь стрессовой чувствительности кур и развития адаптационных реакций в условиях промышленного содержания / А.В. Мифтахутдинов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. – № 9(83). – С. 65-68.; Мифтахутдинов, А.В. Особенности проявления лейкоцитарной реакции на транспортировку у цыплят с неодинаковой чувствительностью к стрессу / А.В. Мифтахутдинов, А.И.

Кузнецов // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 4. – С. 62-68.; Терман, А.А. Антистрессовая активность и токсичность цитрата лития для кур с различной стрессовой чувствительностью: автореф. дис. ... канд. вет. наук, 06.02.03. / А.А. Терман. – Троицк: УГАВМ, 2013. – 20 с.; Колесник, Е.А. Оценка адаптационных ресурсов организма бройлерных цыплят / Е.А. Колесник, М.А. Дерхо // // Достижения науки и техники АПК. – 2016. – Т. 30. – № 1. – С. 59-61.; The effects of environmental enrichment and transport stress on the weights of lymphoid organs, cell-mediated immune response, heterophil functions and antibody production in laying hens / E. [Matur](#), İ. [Akyazi](#), E. [Eraslan](#) [et.al.] // Japanese Society of Animal Science. □ 2015. – № 2. – p.284-292.; Effects of acute and chronic heat stress on plasma metabolites, hormones and oxidant status in restrictedly fed broiler breeders. / Xie J, Tang L, Lu L [et. al.] // Poultry Science Association Inc. □ 2015. □ Vol. 94(7). □ P.1635-1644.; The gut-brain axis interactions during heat stress and avian necrotic enteritis. / AS. Calefi , JG. da Silva Fonseca , DW .Cohn , Honda BT [et.al.] // Poultry Science Association. □ São Paulo, Brazil. □ 2016. □ №21; Oxidative Stress and Histological Alterations of Chicken Brain Induced by Oral Administration of Chromium(III) / J. Cheng , W. Fan , X. Zhao [et.al.] // [Biol Trace Elem Res](#). China □ 2016).

В то же время исследований, посвященные оценке роли ферментов печени, сердца, почек и скелетных мышц в развитии стресс-реакции, как «срочных» стресс-редуцирующих факторов общей реакции организма на стресс не проводилось.

Цель и задачи исследования. Целью нашей работы явилось изучение закономерностей формирования стресс-реакции у гибридных цыплят кросса Ломан-белый при экспериментальном вибрационном стрессе и оценка адаптационных резервов организма по динамике показателей крови, органов (печень, почки, сердце) и тканей (бедренные мышцы).

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Определить стрессовое воздействие вибрации на организм гибридных цыплят (♀СД; ♀АВСД) на основе анализа морфологических показателей крови; установить по их динамике и соотношению в виде лейкоцитарных индексов напряженность стресс-реакции.

2. Охарактеризовать активность и направленность белкового обмена у цыплят в ответ на стрессовое воздействие вибрации.

3. Установить физиологические параметры активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ) в сердце, печени, почках и бедренных мышцах цыплят (♀СД; ♀АВСД), выявить закономерности их изменений в ходе развития стресс-реакции.

4. Оценить адаптационный потенциал цыплят двухлинейного кросса, завезенных на птицефабрику из Германии, и четырехлинейного кросса, полученного в условиях птицефабрики, на основе изменений массы внутренних органов, морфологических и биохимических показателей крови, а также активности ферментов в печени, почках, сердце и бедренных мышцах.

Предмет и объект исследования. Предмет исследований – закономерности развития стресс-реакции в организме птиц кросса Ломан-белый в модели

вибрационного стресса. Объект исследования – двух- и четырехлинейные 40-суточные курочки кросса Ломан-белый; материал исследований – кровь, плазма крови, внутренние органы и ткани (печень, почки, сердце, бедренные мышцы).

Научная новизна. Охарактеризован адаптационный потенциал курочек (♀СД; ♀АВСД) кросса Ломан-белый, реализуемый в ходе срочной адаптации организма; определена напряженность стресс-реакции на основе анализа морфологических и биохимических параметров крови, активности ферментов в супернатанте печени, почек, сердца и бедренных мышц, а также массы органов; установлена информативность лейкоцитарных индексов в оценке стрессового воздействия вибрации и адаптационного потенциала организма птиц. Впервые охарактеризован механизм адаптации клеток печени, сердца, почек и бедренных мышц в ходе стресс-реакции, опосредованный действием ферментов (АсАТ, АлАТ, ЩФ) при стрессовом воздействии вибрации. Установлено, что компенсация стресс - индуцированных изменений в активности ферментов органов и тканей соответствует трем фазам: а) латентная фаза с критическим минимумом (фаза гипометаболизма); б) фаза реабилитации, в) фаза мобилизации (фаза гиперметаболизма). Длительность латентной фазы определяет адаптационный потенциал организма птиц.

Теоретическая и практическая значимость исследований. Получены новые данные, расширяющие представления о механизмах развития стресс - реакции в организме гибридных курочек, адаптационных изменениях активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ) в печени, сердце, почках и бедренных мышцах после воздействия вибрации как стресс-фактора. Установлено и экспериментально доказано, что двух- и четырехлинейная птица кросса Ломан-белый обладает разными адаптационными резервами организма, определяющими напряженность стресс-реакции.

Полученный комплекс характеристик ферментного состава супернатанта печени, сердца, почек, мышц рекомендуется использовать как базовый, отражающий норму у курочек кросса Ломан-белый при оценке физиологического состояния их организма.

Материалы исследований используются в при изучении курсов физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных в высших учебных заведениях.

Научные результаты, выносимые на защиту:

1. Динамика морфологических параметров крови, лейкоцитарных индексов подтверждает стрессовое воздействие вибрации на организм цыплят, а также характеризует напряженность стресс-реакции.

2. В организме гибридных птиц кросса Ломан-белый адаптация печени, почек, сердца и бедренных мышц на действие стресс-фактора формируется с участием ферментов (АсАТ, АлАТ, ЩФ), определяющих интенсивность и направленность обмена белков и энергии, как на уровне органов, так и организма в целом.

3. Четырехлинейная птица кросса Ломан-белый обладает высоким адаптационным потенциалом, определяющим продолжительность латентной фазы стресс-реакции не более 4 часов; двухлинейная птица характеризуется

низкой адаптационной способностью, что снижает напряженность стресс-реакции и увеличивает её длительность до 24 часов.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности. Представленная диссертационная работа соответствует Паспорту специальности 03.03.01 – физиология. Работа посвящена изучению адаптационного потенциала цыплят, реализуемого в ходе развития стресс-реакции в модели производственного стресса перегруппировки и транспортировки. Результаты научного исследования соответствуют следующим пунктам Паспорта специальности: п. 1. Изучение закономерностей и механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма; п. 3. Исследование закономерностей функционирования основных систем организма; п. 8. Изучение физиологических механизмов адаптации к различным географическим, экологическим, трудовым и социальным условиям.

Апробация и реализация результатов исследований. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на международных научно-практических конференциях: «Молодые ученые в решение актуальных проблем науки» (г. Троицк, 2014, 2015); «Результаты научных исследований» (г. Тюмень, 2016); «Инструменты и механизмы современного инновационного развития» (г. Томск, 2016).

Материалы научной работы используются в учебном процессе сельскохозяйственных ВУЗов Российской Федерации.

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов кандидатской диссертации.

Объем и структура диссертации. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, результаты исследования и их обсуждение, заключение, выводы, практические предложения, список использованной литературы. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 10 рисунками. Список литературы включает 228 источников, в том числе 35 зарубежных авторов.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертация «Стресс-реакция как индикатор адаптационного потенциала гибридных цыплят кросса ломан-белый» выполнена в ФГБОУ ВО «Южно - Уральский государственный аграрный университет» Институт ветеринарной медицины» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации на кафедре «Органической, биологической и физколлоидной химии».

Материалы, представленные в работе, являются результатом собственных исследований, получены в период 2014-2015 г.г. на базе вивария и кафедры органической, биологической и физколлоидной химии Южно-Уральского ГАУ.

Объектом исследования служили 40-суточные цыплята (♀) кросса Ломан-белый, принадлежащие ОАО «Челябинская птицефабрика». Птицу подбирали в группы по принципу аналогов с учетом происхождения, живой массы, пола и клинического состояния; до начала эксперимента выдерживали в условиях

вивария в течение 2-х недель, поддерживая условия содержания в соответствии с технологией выращивания кросса. В ходе работы было выполнено 2 серии экспериментов (рис. 1). В I серии объектом исследований служили двухлинейные 40-суточные цыплята (♀СД), ввезенные на птицефабрику в суточном возрасте из Германии; во II - четырехлинейные 40-суточные курочки (♀АВСД) финального гибрида, полученные на птицефабрике.

Развитие стресс-реакции инициировали вибрационным воздействием на виброаппарате с частотой механических движений 160 в минуту в течение 2 часов (Ковтуненко, А.Ю. Адаптационные реакции у кур при транспортировке и шумовом воздействии: автореф. дис. ... канд. биол. наук, 03.00.13 / А.Ю. Ковтуненко. – Белгород: БГСХА, 2009. – 22 с.). Эксперимент проводился в утренние часы (с 9 до 11 часов).

Материалом исследований служили кровь, органы (печень, почки, сердце) и ткани (бедренные мышцы), которые получали после декапитации цыплят, выполненной под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности. Материал получали до (фон), после воздействия вибрации, а также через 1, 4 и 24 часа после стрессирования.

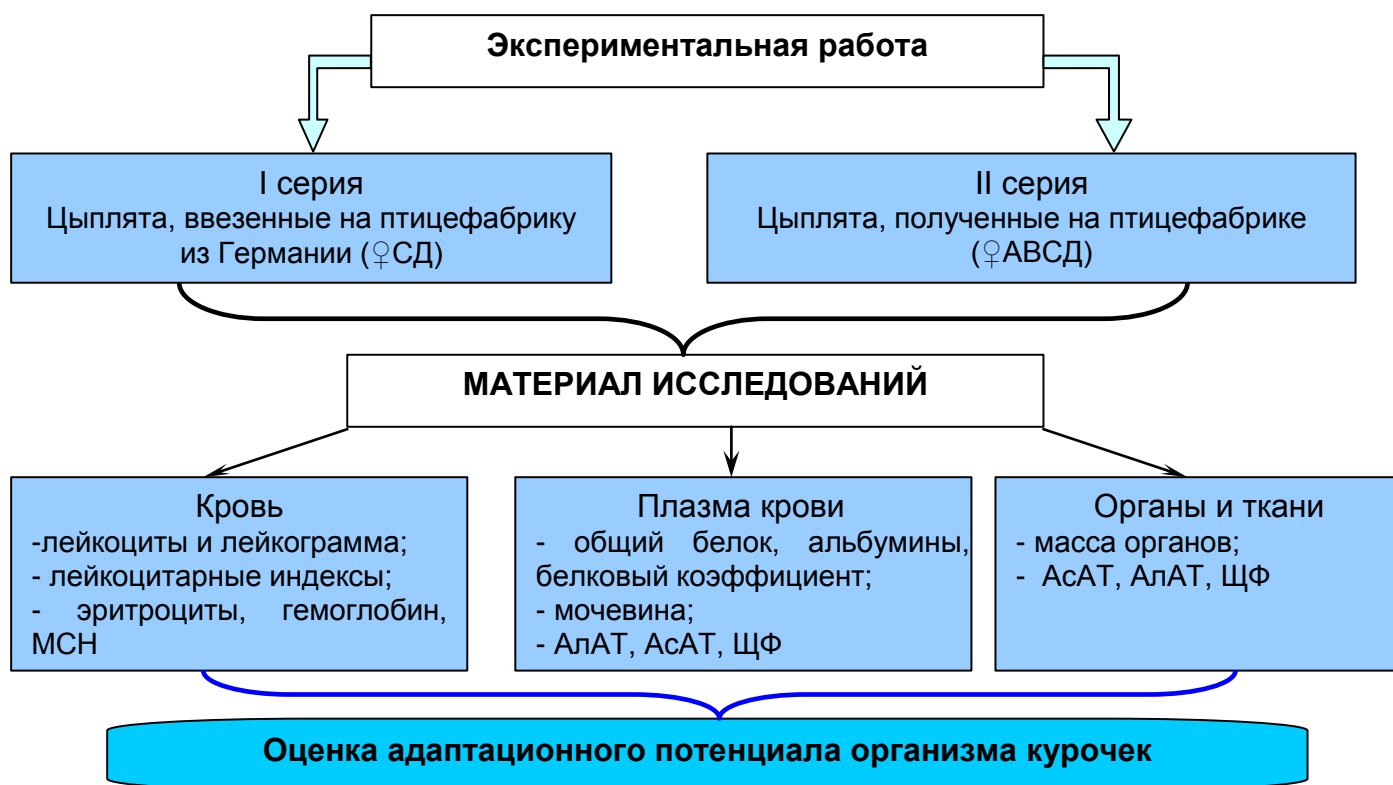


Рисунок 1 – Схема эксперимента

Для морфологических исследований использовали гепаринизированную кровь, биохимических – плазму крови и супернатанты органов и тканей. Морфологические показатели (эритроциты, лейкоциты) определяли в мазках крови, окрашенных по методу Романовского-Гимзы, в камере Горяева; концентрацию гемоглобина – с помощью набора реактивов «Клини Тест»; среднее содержание гемоглобина в эритроците (МСН, Пг) по формуле: $МСН = \frac{Hb}{\mathcal{E}}$, где Hb - количество гемоглобина, г/л; Э - количество эритроцитов в $10^{12}/л$.

Биохимические показатели крови: общий белок (ОБ), альбумины (Alb), мочевины определяли с помощью наборов реактивов «Абрис» и «Витал Диагностикс Спб»; количество глобулинов, белковый коэффициент (Alb/Gl), соотношение общего белка и мочевины (ОБ/мочевина) - расчетным методом. Активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме крови и супернатанте органов определяли с помощью наборов реактивов «Абрис» и «Эко-сервис». Уровень ферментов в супернатанте рассчитывали на 1 г влажной ткани с учетом разведения гомогената. Массу внутренних органов птиц определяли с помощью электронных весов марки ВК. Для оценки проницаемости мембран клеток печени, сердца, почек и бедренных мышц находили соотношение между уровнем ферментов в крови и супернатанте по формуле: $K_{ПМ} = \frac{\Phi_k}{\Phi_{co}} \cdot НК$, где КПМ –

коэффициент проницаемости мембран, усл. ед.; Φ_k – активность ферментов крови, мкмоль/ч·мл; Φ_{co} – активность ферментов органа (АлАТ, АсАТ – мкмоль/ч·мл и ЩФ – Е/л на 1 г влажной ткани); НК – нормализующий коэффициент (в печени – для АлАТ, АсАТ – 1000; ЩФ – 1; в почках – 1000; в сердце – 100; в мышцах для АлАТ, АсАТ – 100, ЩФ – 1).

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики на ПК с помощью табличного процессора «Microsoft Excel – 2003» и пакета прикладной программы «Биометрия». Достоверность различий между группами оценивали с учетом непараметрического критерия Манна-Уитни.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Лейкограмма гибридных цыплят

До начала эксперимента ♀СД- и ♀АВСД-курочки имели разный уровень лейкоцитов в крови. Хотя лейкограмма птиц соответствовала границам нормы, но у ♀СД-курочек число лейкоцитов составляло $23,10 \pm 1,02 \cdot 10^9/\text{л}$, эозинофилов $4,00 \pm 0,71\%$, сегментоядерных псевдоэозинофилов $27,40 \pm 0,97\%$, лимфоцитов $56,80 \pm 1,07\%$ и моноцитов $9,20 \pm 0,38\%$. У четырехлинейных птиц количество лейкоцитов было равно $27,10 \pm 0,93 \cdot 10^9/\text{л}$, а процентная доля базофилов, эозинофилов, сегментоядерных псевдоэозинофилов, лимфоцитов и моноцитов, соответственно, $1,20 \pm 0,37$; $7,20 \pm 0,37$; $30,40 \pm 0,93$; $54,80 \pm 0,97$ и $6,40 \pm 0,68\%$ (табл. 1).

Таблица 1 - Лейкограмма цыплят (n=5), $\bar{X} \pm S_x$

Показатель	Сери я	Фон (до стресса)	Время взятия крови после вибрационного воздействия			
			5 мин	1 час	4 часа	24 часа
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	I	$23,10 \pm 1,02$	$26,86 \pm 0,83^*$	$27,20 \pm 0,73^*$	$28,20 \pm 0,73^{***}$	$29,20 \pm 0,86^{***}$
	II	$27,10 \pm 0,93$	$30,72 \pm 0,88^*$	$32,56 \pm 0,58^*$	$29,70 \pm 0,61$	$28,84 \pm 0,65$
Базофилы, %	I	$2,60 \pm 0,24$	$2,20 \pm 0,37$	$1,80 \pm 0,20$	$1,20 \pm 0,37^*$	$1,20 \pm 0,20^{**}$
	II	$1,20 \pm 0,37$	$2,00 \pm 0,32$	$1,40 \pm 0,30$	$0,80 \pm 0,20$	$1,00 \pm 0,32$
Эозинофилы, %	I	$4,00 \pm 0,71$	$5,60 \pm 0,60$	$4,00 \pm 0,45$	$3,40 \pm 0,24$	$3,20 \pm 0,37$
	II	$7,20 \pm 0,37$	$4,40 \pm 0,40^{***}$	$5,00 \pm 0,32^{***}$	$5,80 \pm 0,48$	$6,20 \pm 0,37$

Сег. псевдоэозинофилы, %	I	27,40±0,97	28,60±0,51	29,80±0,58	34,20±0,73***	38,20±1,24***
	II	30,40±0,93	38,80±0,86***	38,80±0,73***	36,60±0,75***	33,80±0,73*
Лимфоциты, %	I	56,80±1,07	56,00±0,84	55,80±1,35	50,80±0,96***	47,20±1,36***
	II	54,80±0,97	47,40±1,29***	47,60±1,32***	50,80±0,86*	52,80±0,97
Моноциты, %	I	9,20±0,38	7,60±0,40*	8,60±0,568	10,40±0,51	10,20±0,58
	II	6,40±0,68	7,40±0,75	7,20±0,58	6,00±1,14	6,60±0,81

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с величиной «фон» (p для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

Воздействие вибрации инициировало развитие в организме курочек стресс-реакции. У цыплят (♀АВСД) через 5 минут и 1 час после стрессирования (табл. 1) повышалось, по сравнению с фоном, количество лейкоцитов на 13,35-20,14% ($p < 0,05$), в лейкограмме уменьшалось число эозинофилов и лимфоцитов, соответственно, на 30,55-38,88% ($p < 0,001$) и на 13,14-13,58% ($p < 0,001$) на фоне увеличения базофилов (16,66-66,66%), моноцитов (12,50-15,60%) и сегментоядерных псевдоэозинофилов (на 27,63%). Максимум изменений наблюдался через 1 час после действия стресс-фактора. Через 4 часа после вибровоздействия направленность сдвигов в лейкограмме курочек изменялась, обеспечивая восстановление числа лейкоцитарных клеток в крови до фонового уровня.

У двухлинейной птицы (♀СД) вибростресс тоже инициировал появление сдвигов в составе крови (табл.1), но они прогрессировали постепенно и наиболее сильно проявлялись через 24 часа эксперимента увеличением числа лейкоцитов, моноцитов и сегментоядерных псевдоэозинофилов, по сравнению фоном, соответственно, на 26,41 ($p < 0,001$), 10,87 и 39,42% ($p < 0,001$) и уменьшением базофилов в 2,16 раза ($p < 0,01$), эозинофилов и лимфоцитов на 20,00 и 16,90% ($p < 0,001$).

Таким образом, воздействие вибрации инициировало в организме гибридных цыплят развитие стресс-реакции, сопровождающейся появлением в лейкограмме сдвигов, выявляющихся при действии любого стрессора. Лейкоцитарный состав крови ♀АВСД-курочек максимально изменялся через 1 час эксперимента, свидетельствуя о высоком адаптационном потенциале их организма. У ♀СД-курочек сдвиги в лейкограмме нарастали постепенно, достигая максимума через 24 часа после действия стресс-фактора, отражая их низкие адаптационные возможности.

3.2 Лейкоцитарные индексы как индикатор напряженности стресс-реакции

Изучение информативности лейкоцитарных индексов в оценке активности срочной адаптации у птиц позволило выявить следующие особенности.

Стрессовое воздействие вибрации и напряженность стресс-реакции характеризовала величина общепринятых лейкоцитарных индексов: 1) соотношение сегментоядерных псевдоэозинофилов (гетерофилов) и лимфоцитов (Г/Л); 2) показатель состояния (ПС). Во-первых, резкое изменение значений Г/Л и ПС, по сравнению с фоном, через 5 минут после стрессирования доказывало чрезмерную силу раздражителя и развитие в организме птиц стресс-реакции. Во-вторых, динамика индексов характеризовала напряженность адаптационных

процессов. Уровень Г/Л у ♀АВСД-птиц предельно увеличивался через 1 час после действия вибрации (в 1,46 раза, $p<0,05$), а ПС, наоборот, уменьшался в 1,78 раза ($p<0,001$), характеризуя максимум активности стресс-реакции. У ♀СД-курочек срочная адаптация протекала «вяло», значения индексов изменялись постепенно и достигали наибольшей/наименьшей величины только через 24 часа эксперимента.

Кроме индексов ГЛ и ПС напряженность стресс-реакции в организме птиц можно охарактеризовать с помощью других индексов лейкоцитов. У ♀АВСД-курочек действие стрессора выявлялось по увеличению, по сравнению с фоном, значения индекса Кребса (ИК) на 46,43% ($p<0,001$), лейкоцитарного индекса интоксикации по Каль-Калифу (ЛИИ) на 43,18% ($p<0,001$), кровно-клеточного показателя (ККП) на 31,74% ($p<0,001$) и уменьшению величины лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ) на 24,58-25,27% ($p<0,001$), лейкоцитарного индекса (ЛИ) на 32,04-32,59% ($p<0,001$) и индекса соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) на 22,78-25,11% ($p<0,05$) через 5 минут и 1 час эксперимента. Данные индексы через 4 часа после стрессирования меняли направленность своих изменений, практически достигая к концу эксперимента исходного уровня.

У ♀СД-курочек максимальное или минимальное значение индексы имели через 24 часа после вибровоздействия. Наибольшей информативностью в оценке напряженности стресс-реакции и мобилизации адаптационных ресурсов организма обладали ЛИИ по Кальф-Калифу, ИК, ККП и ЛИ.

Таким образом, динамика лейкоцитарных индексов позволяет установить стрессовое воздействие вибрации, характеризует скорость развития типовых компенсаторно-приспособительных реакций у птиц, отражая их адаптационные возможности. У ♀АВСД-курочек значения индексов достигают максимума сдвигов через 1 час после действия стрессора, а у ♀СД-цыплят только через 24 часа после стрессирования.

3.3 Характеристика дыхательной функции крови

Влияние стрессоров на состав крови не ограничивается только лейкоцитами, но и отражается на уровне эритроцитов. До стресса в крови ♀СД-курочек количество эритроцитов, Hb и МСН было на 11,09-19,42% меньше, чем у ♀АВСД-птиц, определяя различия в интенсивности дыхательной функции крови.

Через 5 минут после вибровоздействия, по сравнению с фоном, снижался уровень эритроцитов (на 12,36; $p<0,01$) и Hb (на 15,52%; $p<0,001$) в крови ♀АВСД-цыплят, а ♀СД – на 15,38 и 17,51% ($p<0,001$) на фоне сохранения объёма клеток (МСН). Значит, стрессор повышал скорость элиминации эритроцитов из кровеносного русла, не влияя на пролиферативную активность органов кроветворения. Через 1 час после вибровоздействия, по сравнению с величиной «через 5 минут», в крови ♀АВСД-птиц повышался уровень эритроцитов, Hb и МСН, соответственно, до $3,73\pm 0,08 \cdot 10^{12}/л$, $101,45\pm 2,83$ г/л ($p<0,001$) и $27,19\pm 2,83$ Пг ($p<0,01$), как результат появления в крови эритроцитомacrocytosis. Аналогичные сдвиги выявлялись и через 4 часа эксперимента, однако к его концу уровень изучаемых показателей уже достоверно не отличался от фоновых значений (табл. 2).

Таблица 2 – Гематологические показатели (n=5), X±sx

Показатель	Серия	Фон (до стресса)	Время взятия крови после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
Эритроциты, 10 ¹² /л	I	3,25±0,06	2,75±0,06**	2,75±0,04***	3,20±0,04	3,35±0,06
	II	3,80±0,06	3,33±0,08**	3,73±0,08	3,99±0,07	3,87±0,05
Гемоглобин, г/л	I	67,61±2,49	55,77±1,00**	59,48±2,82***	111,15±3,42***	115,73±0,93*
	II	83,91±1,86	70,88±2,25***	101,45±2,83***	107,25±2,23***	88,22±2,45
МСН, Пг	I	19,56±0,52	20,28±0,18	21,62±1,04	34,73±0,99***	34,55±0,73***
	II	21,73±0,13	21,28±0,56	27,19±0,27**	26,87±0,59**	22,73±0,42

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 по сравнению с величиной «фон» (р для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

У ♀СД-птиц через 1 час эксперимента выявлялись изменения в составе крови, аналогичные тем, что были установлены через 5 минут после действия вибрации (табл. 2). Только через 4 часа после стрессирования появлялись признаки интенсификация процессов эритропоза, за счёт чего восстанавливался в крови уровень эритроцитов, повышался Нб и МСН. Аналогичная картина сохранялась и через 24 часа эксперимента.

Следовательно, действие вибрации инициирует срочную мобилизацию компонентов красной крови, что характеризует напряженность адаптивных реакций организма и, как следствие, его адаптационный потенциал. В организме ♀АВСД-курочек эритроциты и органы эритропоза обладали высокой реакционной способностью, что позволяло быстро компенсировать недостаток кислорода. У ♀СД-курочек реактивность кроветворных органов была снижена, что отражалось на кислородтранспортной функции крови.

3.4 Стресс-индуцированные изменения белкового обмена

Белки крови – основные факторы, определяющие эффективность адаптации птиц к действию стрессоров, так как обладают высокой мобильностью.

В крови ♀АВСД-курочек, по сравнению с фоном, через 5 минут и 1 час после стрессирования повышался уровень общего белка (в 1,48-1,69 раза, p<0,001) за счёт протеолиза тканевых белков, снижалась концентрация альбуминов (в 1,34-2,08 раза, p<0,001), особенно через 1 час после стресса, как результат их активного использования в качестве источника свободных аминокислот. На этом фоне в общем белке крови возрастало содержание глобулинов в 2,01-2,911 раза (p<0,001), обуславливая уменьшение Alb/Gl коэффициента (табл. 3). Диспротеинемия была следствием катаболической направленности белкового обмена в организме птиц, что подтверждалось приростом концентрации мочевины (на 11,59-30,43%, p<0,05) и соотношения ОБ/мочевина в 1,13-1,51 раза (p<0,01). Следовательно, ранний этап (через 5 минут и 1 час) стресс-реакции характеризовался отрицательным азотистым балансом в организме курочек.

Таблица 3 - Белковый спектр крови курочек (n=5), $\bar{X} \pm Sx$

Показатель	Серия	Фон (до стресса)	Время взятия крови после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
Общий белок, г/л	I	30,47±1,35	43,30±0,86***	45,37±0,11***	41,29±0,54***	40,52±0,28**
	II	31,33±0,35	46,36±0,43***	52,82±0,86***	20,93±0,46***	30,17±0,53
Альбумины, г/л	I	17,13±0,56	22,46±0,84*	18,52±0,77	32,21±0,37***	30,91±0,31***
	II	18,24±0,54	20,10±0,61	14,76±0,40***	11,06±0,38***	21,27±0,23**
Альбумины, %	I	56,22±1,92	51,87±1,82	40,82±1,65***	78,01±1,45***	76,28±1,10***
	II	58,22±2,35	43,36±0,99***	27,94±0,87***	52,84±2,38	70,50±0,47***
Глобулины, г/л	I	13,34±1,05	20,84±0,95***	26,85±0,72***	9,08±0,52**	9,61±0,50**
	II	13,09±0,88	26,26±0,29***	38,06±1,02***	9,87±0,68*	8,90±0,29***
Алб/Гл, усл. ед.	I	1,28±0,09	1,11±0,11	0,69±0,05***	3,55±0,32***	3,21±0,19***
	II	1,39±0,14	0,76±0,03***	0,39±0,02***	1,12±0,11	2,39±0,05***
Мочевина, ммоль/л	I	0,75±0,06	3,59±0,07***	4,81±0,04***	3,46±0,03***	2,17±0,07***
	II	1,38±0,03	1,80±0,06***	1,54±0,02*	1,24±0,03	1,35±0,13
ОБ/мочевина, усл. ед.	I	40,62±2,98	12,06±0,33**	9,43±0,06***	11,93±0,16***	18,67±0,52
	II	22,70±0,32	25,76±0,63**	34,30±0,57***	16,87±0,61*	22,34±2,18

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с величиной «фон» (р для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

Через 4 часа после стрессирования белковый состав крови ♀АВСД-птиц отражал появление признаков анаболической направленности реакций в обмене белков: в крови снижалась концентрация общего белка, повышалась процентная доля альбуминов, увеличивая скорость циркуляции крови по сосудам. Формирование положительного азотистого баланса подтверждалось уменьшением, по сравнению с фоном, уровня мочевины в крови до $1,24 \pm 0,03$ ммоль/л и соотношения ОБ/мочевина до $16,87 \pm 0,61$ усл. ед. (табл. 3). Через 24 часа после воздействия вибрации показатели крови достоверно не отличались от фоновых величин.

В крови ♀СД-курочек концентрация общего белка и через 24 часа после стрессирования превышала исходную величину в 1,33 раза ($p < 0,01$), характеризуя прирост скорости протеолиза тканевых белков. Это отражалось на концентрациях альбуминов, глобулинов и мочевины в крови.

Таким образом, изменения белкового состава крови – важный компонент общей гомеостатической системы организма птиц в ходе срочной адаптации. В организме ♀АВСД-курочек белковый обмен отличается высокой напряженностью, благодаря наличию значительных белковых ресурсов в клетках печени в виде альбуминов, мобилизация и направленное использование которых позволяло поддерживать энергетический гомеостаз и в течение 4 часов после стресса купировать признаки стресс-реакции. Курочки ♀СД отличаются низкой способностью к мобилизации белковых резервов, что удлиняет стресс-реакцию по времени и не позволяет быстро купировать признаки катаболической направленности белкового обмена.

3.5 Роль ферментных систем печени в адаптационном статусе цыплят

Печень – основной орган метаболизма, поэтому при воздействии стресс-факторов изменяется функциональная активность гепатоцитов.

Таблица 4 - Ферменты крови и супернатанта печени (n=5), X±Sx

Показатель	Сери я	Фон (до стресса)	Время взятия материала после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
Плазма крови						
АсАТ, мкмоль/ч·мл	I	1,51±0,03	6,36±0,24***	6,95±0,31***	6,08±0,17***	5,26±0,31***
	II	5,91±0,21	4,99±0,13*	2,43±0,14***	7,20±0,22*	9,28±0,22**
АлАТ, мкмоль/ч·мл	I	0,75±0,02	9,75±0,37***	7,10±0,33***	5,88±0,24***	4,38±0,18***
	II	2,45±0,11	0,92±0,03***	0,83±0,05***	5,55±0,33***	7,71±0,09***
Коэф. де Ритиса, усл. ед.	I	1,95±0,02	0,66±0,03***	1,00±0,06***	1,05±0,04***	1,21±0,08***
	II	2,51±0,23	5,55±0,37***	3,03±0,25	1,33±0,09**	1,26±0,01**
ЩФ, Е/л	I	1950,08±9,31	1729,5±27,59***	1015,8±11,19***	575,71±10,41***	558,98±15,72***
	II	2057,05±20,89	1626,0±40,15***	1143,3±57,28***	1383,6±20,06***	1562,1±23,17***
Супернатант печени (на 1 г влажной ткани)						
АсАТ, мкмоль/ч·мл	I	17,67±0,51	4,51±0,12***	10,25±0,21***	11,91±0,69***	13,97±0,39
	II	28,46±0,37	27,98±1,15	23,64±0,51***	44,23±1,95*	58,23±2,83***
АлАТ, мкмоль/ч·мл	I	11,89±0,89	1,51±0,04***	3,08±0,07***	3,11±0,07***	3,13±0,09***
	II	14,09±0,47	7,12±0,14***	6,95±0,27***	45,18±2,41***	63,00±1,93***
Коэф. де Ритиса, усл. ед.	I	1,59±0,17	3,00±0,13***	3,34±0,04***	3,86±0,26***	4,49±0,16***
	II	2,05±0,09	3,91±0,10**	2,41±0,48	0,99±0,04*	0,92±0,04***
ЩФ, Е/л	I	1505,32±76,44	919,51±70,75***	958,64±52,42***	1302,56±27,80	2295,7±58,26***
	II	917,11±10,52	677,09±18,28***	460,30±8,81***	918,05±23,77	1343,3±55,65***
Масса печени, г	I	9,90±0,11	11,75±0,09***	13,25±0,07***	12,85±0,08***	12,50±0,13***
	II	7,22±0,10	8,87±0,04***	9,09±0,09***	11,71±0,11***	9,03±0,083***

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 по сравнению с величиной «фон» (p для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

У ♀СД-курочек активность АлАТ, АсАТ в крови и супернатанте печени (СП) была меньше, чем у ♀АВСД-птиц. Значит, цыплята с разной скоростью использовали свободные аминокислоты в обменных процессах организма (табл. 4). У курочек ♀СД недостаточность биоэффектов трансфераз компенсировалась активностью ЩФ, позволяя поддерживать энергетический гомеостаз.

Ферментный состав крови и печени птиц в ходе стресс-реакции соответствовал трём фазам: 1) латентной фазе с критическим минимумом (стадия гипометаболизма); 2) фазе реабилитации; 3) фазе мобилизации (стадия гиперметаболизма).

У ♀АВСД-курочек длительность I фазы стресс-реакции составила 1 час, характеризовалась минимумом активности АсАТ, АлАТ и ЩФ в СП; из трансфераз в наибольшей степени снижалась концентрация АлАТ, влияя на значение коэффициента де Ритиса (табл. 4). Одним из путей поддержания уровня ферментов в печени служило снижение проницаемости мембран гепатоцитов для каталитических белков. Об этом свидетельствовало уменьшение значений КПМ(АлАТ), КПМ(АсАТ) (рис. 2б) и сохранение величины КПМ(ЩФ) (рис. 3), определяя уровень ферментов в крови.

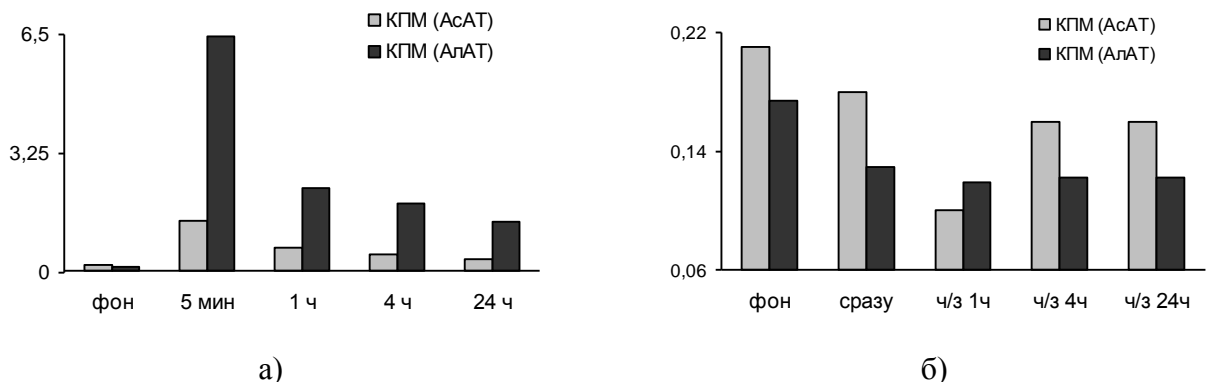


Рисунок 2 – Динамика КПМ (усл. ед) в ходе развития стресс-реакции:
 а) I серия эксперимента; б) II серия эксперимента

Через 4 часа после стресса у ♀АВСД-курочек функциональная активность гепатоцитов соответствовала или фазе реабилитации, или фазе мобилизации стресс-реакции: активность ЩФ достигала фоновой величины, а АсАТ и АлАТ превышала, соответственно, в 1,55 и 3,21 раза ($p < 0,001$). Уровень трансфераз в супернатанте печени был практически одинаковым (коэф. де Ритиса $0,99 \pm 0,04$ усл. ед.), отражая достижение некоего баланса между активностью митохондрий и интенсивностью глюконеогенеза в клетках органа. В данных условиях проницаемость мембран печени планомерно восстанавливалась (рис. 2а, 3), способствуя увеличению (АлАТ, АсАТ) и нормализации (ЩФ) концентрации каталитических белков в гепатоцитах. Через 24 часа эксперимента в СП и плазме крови ♀АВСД-цыплят повышалась активность АсАТ, АлАТ и ЩФ, превышая фоновую величину, как результат не столько корректировки проницаемости гепатоцитов, сколько гиперактивации синтеза ферментов (табл. 4; рис. 2б, 3).

У ♀СД-курочек латентная фаза стресс-реакции выявлялась через 5 минут после стресса по наибольшему уменьшению в СП уровня АсАТ и АлАТ, соответственно в 3,92 и 7,87 раза ($p < 0,001$), ЩФ - в 1,64 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоном (табл. 4). При этом в большей степени, подавлялся синтез АлАТ, инициируя прирост значения коэффициента де Ритиса. Кроме этого, увеличивалась проницаемость мембран гепатоцитов, обуславливая повышение уровня ферментов в крови (рис. 2а, 3). Через 1 и 24 часа эксперимента активность трансфераз в печени ♀СД цыплят соответствовала фазе реабилитации в стресс-реакции, не восстанавливаясь до фонового уровня и характеризуя незначительный запас пластических и энергетических ресурсов.

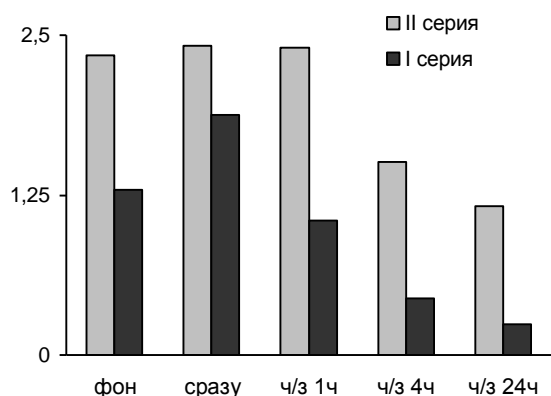


Рисунок 3 – Динамика КПМ(ЩФ) (усл. ед) в ходе развития стресс-реакции

При этом активность АсАТ преобладала над АлАТ, определяя значение коэффициента де Ритиса. Фаза реабилитации протекала на фоне постепенного восстановления проницаемости мембран гепатоцитов, обеспечивая снижение уровня трансфераз в крови птиц. Данный вывод подтверждался направленностью изменений величин КПМ(АлАТ) и КПМ(АсАТ) (рис. 2а).

Активность ЩФ в СП, соответствующая фазе реабилитации, была установлена через 4 часа исследований по

восстановлению концентрации фермента до фоновой величины. Через 24 часа после вибровоздействия активность ЩФ в печени превышала фон в 1,52 раза ($p < 0,001$). Однако уровень фермента в плазме крови птиц не достигал значения «до стресса» (табл. 4). В этих условиях гепатоциты резко ограничивали «вытек» ЩФ в кровь (рис. 3), о чем свидетельствовало снижение величины КПМ(ЩФ).

Динамика активности ферментов в печени в ходе стресс-реакции согласовывались с изменением её массы (табл. 4). До стресса у ♀СД-курочек масса органа была в 1,37 раза больше, чем у ♀АВСД, свидетельствуя о наличии в нём дистрофических изменений, определяющих активность энзимов. В ходе действия стрессора и развития стресс-реакции масса печени у птиц в I и II сериях эксперимента увеличивалась. Прирост показателя сразу после стресса составил 18,68-22,85% ($p < 0,001$) за счёт повышения кровенаполненности органа. Максимум массы печени у ♀АВСД-цыплят отмечался через 4 часа после действия стрессора, превышая фоновую величину в 1,62 раза ($p < 0,001$), у ♀СД-курочек – через 1 час, превосходя исходный уровень в 1,40 раза ($p < 0,001$). Через 24 часа эксперимента масса органа в организме ♀АВСД-цыплят уменьшалась, но не достигала фона, а у ♀СД- курочек - колебалась на уровне величин «через 1 час после стресса» (табл. 4).

Таким образом, изменения активности ферментов в организме цыплят после воздействия стрессора отражали активность обмена свободных аминокислот (АлАТ, АсАТ) и органических монофосфатов (ЩФ). У ♀АВСД-курочек длительность стадии гипометаболизма составила 1 час, характеризовалась снижением уровня ферментов в СП и крови. Через 4 часа эксперимента она переходила в фазу реабилитации (ЩФ) или фазу мобилизации (АлАТ, АсАТ), обеспечивая восстановление и повышение активности каталитических белков в организме птиц и свидетельствуя о высоком адаптационном потенциале цыплят. У ♀СД-курочек динамика массы печени, активности ферментов в СП и крови доказывала нарушение нормального формирования адаптивной реакции организма, отражая их низкие адаптационные возможности.

3.6 Характеристика ферментных систем сердца гибридных курочек

Одной из основных мишеней стрессовой реакции является сердце, о функциональном состоянии которого судили по активности ферментов в супернатанте сердца (СС).

У ♀АВСД-курочек длительность I фазы стресс-реакции, оцениваемая по активности аминотрансфераз СС, составила 1 час и обнаруживалась по минимуму их уровня. В наибольшей степени уменьшалась концентрация АсАТ, влияя на значение коэффициента де Ритиса. В данной серии эксперимента у ферментов сердца невозможно было четко выделить фазу реабилитации. Фаза мобилизации у активности АсАТ и АлАТ обнаруживалась через 4 часа после стресса, а у ЩФ - через 5 минут (табл. 5). Признаки данной фазы стресс-реакции выявлялись и в конце эксперимента. Динамика активности ферментов в СС в ходе развития стресс-реакции была результатом изменения проницаемости мембран кардиомиоцитов. Величина КПМ(АсАТ, АлАТ и ЩФ) снижалась в ходе эксперимента (табл. 5), отражая способность сердца, не зависимо от активности ферментов в его клетках, ограничивать их «вытек» из органа в кровь, что позволяло ему быстро приспособливаться к условиям среды.

Таблица 5 - Ферменты супернатанта сердца (на 1 г влажной ткани) (n=5), X±Sx

Показатель	Сери я	Фон (до стресса)	Время взятия материала после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
АсАТ, мкмоль / ч·мл	I	17,46±0,28	9,27±0,29***	11,65±0,28***	11,01±0,44***	18,75±0,55
	II	37,14±1,44	30,92±0,58**	22,66±0,45***	145,31±6,92***	114,38±11,00***
АлАТ, мкмоль / ч·мл	I	6,26±0,36	1,84±0,26***	1,87±0,30***	1,78±0,19***	3,03±0,09***
	II	16,83±1,01	14,91±0,47	12,36±0,89*	86,84±7,36***	38,78±2,58***
Коеф. де Ритиса, усл. ед.	I	2,79±0,13	5,04±1,08*	6,23±1,56*	6,18±0,74***	6,19±0,38***
	II	2,21±0,21	2,07±0,11	1,88±0,10	1,67±0,19**	2,95±0,50
ЩФ, Е/л	I	487,36±45,21	205,07±6,35***	189,42±21,77***	172,50±4,28***	254,38±12,06***
	II	173,57±8,84	789,09±25,74***	1975,39±38,93***	887,40±9,57***	207,17±7,25
КПМ(АсАТ)	I	8,65±0,26	68,61±3,98***	59,66±1,84***	55,22±3,78***	28,05±2,43***
	II	15,91±0,18	16,13±0,25	10,72±0,48***	4,95±0,22*	8,11±1,01**
КПМ(АлАТ)	I	11,98±0,54	529,89±99,66***	379,67±10,64***	330,33±44,19***	144,55±7,72***
	II	14,56±0,85	6,17±0,55***	6,72±0,41***	6,39±0,81***	17,46±1,95
КПМ(ЩФ)	I	400,13±52,64	843,36±23,44***	536,26±52,64*	333,74±10,49	219,74±14,24***
	II	1185,14±51,2	206,06±5,10***	57,88±2,82***	155,91±2,33**	754,01±39,88**
Масса сердца, г	I	2,45±0,01	3,30±0,01***	3,10±0,01***	2,90±0,02***	2,70±0,01***
	II	2,59±0,04	2,59±0,003	2,79±0,02**	3,25±0,06**	2,62±0,03

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 по сравнению с величиной «фон» (p для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

У цыплят ♀СД фаза критического минимума стресс-реакции в активности ферментов сердца составила 4 часа. Из трансфераз в большей степени уменьшался уровень АлАТ, являясь основой прироста значений коэффициента де Ритиса. В кардиомиоцитах ♀СД-цыплят признаки фазы реабилитации (АлАТ, ЩФ) и фазы мобилизации (АсАТ) появлялись только через 24 часа после эксперимента, свидетельствуя о низком адаптационном потенциале органа (табл.

5). Это было результатом повышения проницаемость мембран кардиомиоцитов, о чем свидетельствовало увеличение значений КПМ(АсАТ, АлАТ, ЩФ).

Динамика ферментов в СС в ходе стресс-реакции была сопряжена с массой органа. У ♀АВСД-птиц она была стабильна в ходе всего эксперимента, за исключением «через 4 часа после стресса», что совпадало с резким приростом активности ферментов в супернатанте сердца за счёт увеличения кровенаполненности органа и активации метаболической активности его клеток. Следовательно, сердце у курочек обладало высоким адаптационным потенциалом (табл. 5).

В организме ♀СД-цыплят масса сердца сразу после воздействия стрессора увеличилась в 1,35 раза ($p < 0,001$) и до конца эксперимента превышала фоновую величину в 1,10-1,27 раза. Значит, орган птиц обладал незначительным адаптационным резервом и был более чувствительным к действию вибрации.

Таким образом, в организме ♀АВСД-курочек сердце обладало высоким адаптационным потенциалом: длительность фазы критического минимума в стресс-реакции составила 1 час, характеризовалась только снижением активности АсАТ и АлАТ в супернатанте органа. Через 4 часа эксперимента она переходила в фазу мобилизации за счёт увеличения кровенаполненности органа, обеспечивающего восстановление и повышение активности ферментов. Сердце поддерживало свою функциональную активность за счёт ограничения проницаемости клеточных мембран. У ♀СД-цыплят изменения ферментов в супернатанте сердца и массы сердца свидетельствовали о нарушении нормального формирования адаптивной реакции, что отражало низкие адаптационные возможности органа.

3.7 Оценка роли ферментов почек в развитие стресс-реакции

Под действием стрессоров в почках, как в печени и сердце, животных протекают компенсаторно-приспособительные процессы, отражающиеся на активности ферментов в супернатанте почек.

Цыплята ♀СД и ♀АВСД до стресса отличались по уровню ферментов в супернатанте почек (табл. 6): у цыплят ♀СД активность АлАТ и АсАТ была значительно меньше, чем у курочек ♀АВСД, а, ЩФ, наоборот, больше, отражая пластические и энергетические возможности органа.

У ♀АВСД-цыплят I фаза стресс-реакции выявлялась по уменьшению активности АлАТ и АсАТ через 1 час, а ЩФ – через 5 минут после действия стрессора. Одним из путей сохранения ферментов в клетках органа было ограничение их «вытека» из почек в кровь, о чем свидетельствовало увеличение величины КПМ (АсАТ, АлАТ, ЩФ) (табл. 6). Фаза реабилитации нами не была выявлена, а фаза мобилизации обнаруживалась у ЩФ через 1 час, АлАТ и АсАТ через 4 часа после стресса. При этом активность АсАТ преобладала над АлАТ (коэф. де Ритиса $2,42 \pm 0,05$ усл. ед.). На фоне прироста уровня ферментов в почках увеличивался их выход из органа в кровь (величина КПМ снижалась для АлАТ, АсАТ, ЩФ), обеспечивая возрастание их активности в плазме крови цыплят.

У цыплят ♀СД активность ферментов в ходе эксперимента соответствовала в стресс-реакции латентной фазе с критическим минимумом. Одной из причин

снижения уровня ферментов в почках было увеличение скорости их выхода из клеток в кровь, о чем свидетельствовала динамика значений КПМ (табл. 6).

Таблица 6 - Ферменты супернатанта почек (на 1 г влажной ткани) (n=5), $\bar{X} \pm Sx$

Показатель	Сери я	Фон (до стресса)	Время взятия материала после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
АсАТ, мкмоль/ ч·мл	I	19,30±0,26	18,04±0,39	17,34±0,27*	9,61±0,19***	6,91±0,22***
	II	126,06±2,42	90,46±2,07***	51,11±1,82***	297,11±6,22***	293,55±8,97***
АлАТ, мкмоль/ ч·мл	I	16,27±0,21	4,85±0,18***	3,76±0,11***	4,27±0,07***	4,56±0,10***
	II	57,32±3,22	33,75±1,24***	17,39±0,63***	123,07±2,31**	233,75±2,45***
Коэф. де Ритиса, усл. ед.	I	1,19±0,02	3,72±0,16***	4,61±0,15***	2,25±0,07***	1,52±0,06***
	II	2,19±0,16	2,68±0,09*	2,94±,24*	2,42±0,05*	1,25±0,07***
ЩФ, Е/л	I	1790,17±25,52	434,72±7,31***	647,89±17,43***	675,96±11,8***	619,73±8,43***
	II	399,41±10,76	252,52±5,52***	1508,13±51,27***	4054,6±87,8***	5091,67±138,5***
КПМ(АсАТ), усл. ед.	I	78,23±2,11	352,54±11,61***	400,81±6,56***	632,7±13,53***	761,22±41,82***
	II	46,89±2,19	55,57±2,37	47,22±1,48	24,31±0,27***	33,31±2,09**
КПМ(АлАТ), усл. ед.	I	46,10±2,14	2010,3±153,18***	1888,3±182,09***	1377,1±46,3***	960,52±60,37***
	II	38,74±0,87	27,16±0,98***	48,00±0,41**	45,09±2,16	32,89±0,39***
КПМ(ЩФ), усл. ед.	I	1089,32±35,63	3978,39±151,9***	1567,84±98,39***	851,7±38,89***	901,97±36,15***
	II	5150,2±115,24	6439,09±54,66***	758,08±37,76***	341,24±7,21***	306,79±5,77***
Масса почек, г	I	0,73±0,015	0,90±0,03***	1,10±0,05***	1,05±0,023***	1,20±0,015***
	II	0,69±0,02	0,73±0,004	0,66±0,003	0,96±0,04***	0,67±0,02

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с величиной «фон» (р для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

В организме птиц ♀АВСД масса почек в ходе развития стресс-реакции достоверно не изменялась, за исключением величины «через 4 часа после стресса», как результат адаптационно-компенсаторного изменения кровенаполненности органа. У цыплят ♀СД масса почек планомерно возрастала и превышала фоновую величину к концу эксперимента в 1,64 раза ($p < 0,001$) (табл. 6).

Таким образом, динамика активности ферментов в супернатанте почек, массы почек курочек ♀АВСД после воздействия вибрации свидетельствовала о высоких адаптационных возможностях органа. У гибридов ♀СД формирование адаптивной реакции протекало медленно, свидетельствуя о низких адаптационных возможностях почек.

3.8 Роль ферментов мышц в реализации стресс-реакции у курочек

Бедренные мышцы в организме птиц являются одной из мишеней стрессовой реакции. До стресса активность АсАТ и АлАТ в супернатанте мышц птиц ♀АВСД превышала уровень ферментов курочек ♀СД, хотя в их соотношении достоверных отличий не было. Значит, организм ♀АВСД-курочек активно использовал белки мышц в обменных процессах. В то же время уровень ЩФ в супернатанте мышц ♀СД-цыплят был выше, чем у ♀АВСД-птиц более чем в 20 раз, отражая различия в покрытии энергозатрат.

В миоцитах ♀АВСД-цыплят первая фаза стресс-реакции у активности АсАТ и АлАТ выявлялась через 5 минут после действия стресс-фактора. Уже через 1 час, а у ЩФ через 5 минут после стрессирования возникали признаки фазы мобилизации. В то же время у птиц ♀СД фаза гипометаболизма

регистрировалась и в конце эксперимента (табл. 7), как результат низкого адаптационного потенциала организма.

Таблица 7 - Ферменты бедренных мышц (на 1 г влажной ткани) (n=5), X±Sx

Показатель	Сери я	Фон (до стресса)	Время взятия материала после вибрационного воздействия			
			5 минут	1 час	4 часа	24 часа
АсАТ, мкмоль/ ч·мл	I	16,83±0,34	6,88±0,37***	1,72±0,29***	1,85±0,16***	1,97±0,18***
	II	38,11±6,53	15,53±01,06***	39,82±2,67	126,24±1,42***	129,38±6,51***
АлАТ мкмоль/ ч·мл	I	8,72±0,18	1,64±0,21***	1,08±0,15***	1,20±0,14***	1,98±0,13***
	II	20,34±1,56	4,91±0,19***	124,04±10,10***	63,37±0,68***	47,82±2,78***
Коэф. де Ри- тиса, усл. ед.	I	1,93±0,02	4,19±0,34***	1,59±0,41	1,54±0,21	0,99±0,18
	II	1,87±0,06	3,16±0,19***	0,32±0,01***	1,99±0,01	2,70±0,31
ЩФ, Е/л	I	814,29±15,67	769,18±22,58	208,59±8,82***	173,15±8,64***	359,58±18,01***
	II	40,35±1,16	114,48±11,96***	120,43±10,86***	134,86±12,53***	121,46±7,66***

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 по сравнению с величиной «фон» (p для непараметрический критерий Манна-Уитни, U)

Клетки мышц, как и внутренние органы, поддерживают сложное и тонкое внутреннее равновесие за счёт регулирования проницаемости мембран, оцениваемой по величине КПМ. У курочек ♀АВСД значение КПМ(АсАТ) и КПМ (АлАТ) резко возрастали через 5 минут после воздействия вибрации, соответственно в 2,07 и 1,55 раза. Однако уже через 1 час после стрессирования в миоцитах ограничивался «вытек» аминотрансфераз и величина КПМ снижалась, по сравнению с фоном, в 2,31 и 1,78 раза. Данная тенденция сохранялась до конца эксперимента, способствуя увеличению активности ферментов в супернатанте мышц. Возможно, это являлось механизмом, позволяющим клеткам активизировать процессы внутриклеточного обмена аминокислот.

У курочек ♀СД проницаемость мембран миоцитов возрастала постепенно, достигая максимальной величины через 1 час после действия стрессора, и к концу эксперимента не достигала фонового уровня. Следовательно, миоциты птиц обладали минимальными резервными возможностями.

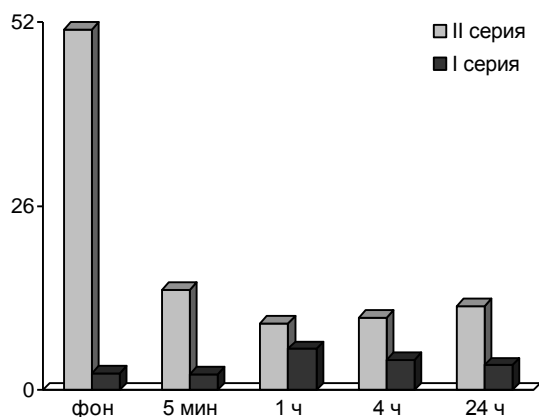


Рисунок 4 – Динамика КПМ(ЩФ) (усл. ед) в ходе развития стресс

В организме цыплят ♀АВСД проницаемость мембран клеток мышц, оцениваемая по величине КПМ(ЩФ), снижалась через 5 минут после стрессирования и к концу опыта не достигала фонового уровня (рис. 4). С одной стороны, это было одной из причин повышения активности ЩФ в супернатанте. С другой стороны, позволяло миоцитам регулировать энергетический гомеостаз, используя аминокислотные резервы клеток.

У цыплят ♀СД мышечные клетки обладали меньшим адаптационным потенциалом. Их способность сохранять уровень активности ЩФ ограничивалась

5 минутами после действия стресс-фактора. Затем проницаемость мембран миоцитов возрастала, особенно, через 1 и 4 часа после стрессирования. Поэтому уровень ЩФ в супернатанте мышц уменьшался (табл. 7; рис. 5).

Таким образом, результаты наших исследований показали, что функциональная активность клеток бедренных мышц является одним из показателей, характеризующим адаптационный потенциал организма. Это обусловлено тем, что мышечные белки при стрессе являются источником свободных аминокислот и, соответственно, скорость их мобилизации эквивалентна адаптационным возможностям организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Вибрационное воздействие с частотой механических движений 160 в минуту в течение 2 часов является экстремальным фактором для организма гибридных цыплят кросса Ломан-белый, отражается на дыхательной функции крови и иммунобиологическом потенциале, опосредованном лейкоцитами; интенсивности и направленности белкового обмена, как результат стресс-индуцированных изменений активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ) органов (печень, сердце, почки) и тканей (кровь, бедренные мышцы), а также проницаемости мембран клеток печени, сердца, почек и мышц.

2. В ходе развития стресс-реакции концентрация ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ) отражает трехфазный ответ органов и тканей на действие стрессора: 1) латентная фаза с критическим минимумом (фаза гипометаболизма), устанавливается по минимуму ферментов в супернатанте органов и тканей; 2) фаза реабилитации, характеризуется нормализацией показателей до фонового уровня; 3) фаза мобилизации (фаза гиперметаболизма), отличительным признаком которой служит резкое увеличение активности ферментов. В латентную фазу с критическим минимумом в супернатанте органов снижалась концентрация АсАТ, АлАТ, ЩФ, но увеличивалась в крови за счёт повышения проницаемости клеточных мембран на фоне прироста массы органов. В фазу реабилитации и фазу мобилизации уровень ферментов в супернатанте печени, почек, сердца и бедренных мышц увеличивался, а крови снижался за счёт снижения проницаемости мембран для каталитических белков.

2.1. В организме цыплят (♀АВСД), полученных на птицефабрике, продолжительность латентной фазы стресс-реакции с критическим минимумом составила 1-4 часа после действия стрессора, по истечении которых переходила в фазу реабилитации или фазу мобилизации, отражая высокий адаптационный потенциал органов и тканей.

2.2. У цыплят (♀СД), ввезенных на птицефабрику из-за рубежа, признаки первой фазы стресс-реакции обнаруживались в течение 24 часов после воздействия стресс-фактора, свидетельствуя о низком уровне адаптационных резервов в организме птиц.

3. Лейкоцитарный состав крови цыплят изменялся в соответствии с фазами стресс-реакции за счёт перераспределения количества сегментоядерных псевдоэозинофилов (гетерофилов), эозинофилов и лимфоцитов в пределах границ физиологической нормы: у курочек, полученных на птицефабрике, лейкограмма

соответствовала фазам гипо- и гиперметаболизма, у ввезенных из Германии – только гипометаболизма. Стрессовое воздействие вибрации на организм птиц и длительность латентной фазы с критическим минимумом выявлялись по увеличению значения Г/Л и уменьшению величины индекса ПС, как результат снижения числа эозинофилов и повышения гетерофилов и лимфоцитов. Активность адаптационных реакций клеточного звена иммунной системы отражала величина других лейкоцитарных индексов: индекс Кребса, лейкоцитарный индекс интоксикации по Кальф-Калифу, лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, кровно-клеточный показатель.

4. Показатели, отражающие состояние дыхательной функции крови в организме курочек, независимо от степени гибридности, изменялись в соответствии с фазами стресс-реакции: а) в латентную фазу с критическим минимумом уменьшалось количество эритроцитов и гемоглобина на фоне сохранения средней концентрации гемоглобина в эритроците; б) в фазу реабилитации и фазу мобилизации увеличивалось число эритроцитов, гемоглобина и средняя концентрация гемоглобина в эритроците. Фаза реабилитации в стресс-реакции у курочек, полученных на птицефабрике, выявлялась через 1 час после воздействия вибрации, у ввезенных из Германии – через 4 часа.

5. В организме цыплят (♀АВСД), полученных на птицефабрике, белковый обмен в фазу гипометаболизма была результатом преобладания катаболических реакций в белковом метаболизме на фоне снижения степени усвоения белкового азота; фаза гиперметаболизма обеспечивалась повышенным использованием белкового азота. У цыплят (♀СД), ввезенных на птицефабрику состояние белкового обмена, оцениваемое по белковым параметрам крови, соответствовало фазе гипометаболизма, которая максимальную выраженность имела через 24 часа после воздействия вибрации.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Полученные данные по уровню ферментов в супернатанте органов могут быть использованы как референтные при оценке физиологического состояния цыплят кросса Ломан-белый. У двухлинейных гибридных цыплят активность ферментов (на 1 влажной ткани) в печени, почках и сердце составляет: а) АсАТ 17,46-19,30 мкмоль/ч·мл; б) АлАТ 6,26-16,27 мкмоль/ч·мл; в) ЩФ 487,36- 1790,17 Е/л; у четырехлинейных гибридных птиц: а) АсАТ 28,46-126,06 мкмоль/ч·мл; б) АлАТ 14,09-57,32 мкмоль/ч·мл; в) ЩФ 173,57-917,11 Е/л.

2. В плане решения проблемы импортозамещения создавать племрепродукторы I типа, что позволит получать особи родительских форм с более высоким адаптационным потенциалом.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ ТРУДОВ

1. Донник, И.М. Клетки крови как индикатор активности стресс-реакции в организме цыплят / И.М. Донник, М.А. Дерхо, С.Ю. Харлап // Аграрный вестник Урала. – 2015. – № 5 (135). – С. 68-71.

2. Харлап, С.Ю. Особенности лейкограммы цыплят в ходе развития стресс-реакции при моделированном стрессе / С.Ю. Харлап, М.А. Дерхо, Т.И. Серeda // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. – № 2 (52). – С. 103-105.

3. Харлап, С.Ю. Характеристика адаптационного потенциала цыплят кросса «Ломан-белый» / С.Ю. Харлап, М.А. Дерхо // Агропродовольственная политика России. – 2015. – № 6(18). – С. 62-67.

4. Харлап, С.Ю. Изменения активности аминотрансферазы и щелочной фосфатазы в крови и почках цыплят в ходе развития стресс-реакции / С.Ю. Харлап, М.А. Дерхо // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. – №5(55). – С.102–105.

5. Харлап, С.Ю. Роль белков крови в реализации стресс-индуцирующего воздействия шуттелирования в организме цыплят / С.Ю. Харлап, М.А. Дерхо, О.Г. Лоретц // Аграрный вестник Урала. – 2016. – № 03(145). – С. 67–71.

6. Харлап, С.Ю. Оценка адаптационной способности цыплят по активности ферментов крови и супернатанта сердца / С.Ю. Харлап, М.А. Дерхо // АПК России. – 2016. - №1(75).- С.41-46.

7. Дерхо, М.А. Стресс-индуцированные изменения активности щелочной фосфатазы в организме цыплят / М.А. Дерхо, С.Ю. Харлап // Влияние науки на инновационное развитие: сб. ст. межд. науч.-практ. конф. (25.02.2016, г. Томск).– Уфа: Аэтерна. – Ч. 3. – С. 35-38.

8. Харлап, С.Ю. Особенности белкового обмена в организме цыплят в условиях развития стресс-реакции / С.Ю. Харлап // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Материалы межд. науч.-практ. конф. – Троицк: УГАВМ, 2015. – С. 130-132.

9. Харлап, С.Ю. Адаптационный потенциал гепатоцитов в организме цыплят кросса Ломан-белый / С.Ю. Харлап // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Материалы межд. науч.-практ. конф. – Троицк: ЮУрГАУ, 2015. – С. 246-248.

10. Харлап, С.Ю. Информативность лейкоцитарных индексов в оценке стресс-реакции цыплят / С.Ю. Харлап // Межд. науч.-практ. конф., посв. 85-летию Уральской государственной академии ветеринарной медицины и 100-летию дня рождения доктора ветеринарных наук, профессора Василия Григорьевича Мартынова: сб. материалов. – Троицк: УГАВМ, 2015. – С. 97-100.

11. Харлап, С.Ю. Роль аминотрансфераз мышц в реализации стресс-реакции в организме цыплят / С.Ю. Харлап // Результаты научных исследований: сб. ст. межд. науч.-практ. конф. (15.02.2016, г. Тюмень). – Уфа: Аэтерна. – Ч. 4. – С. 44-47.

12. Харлап, С.Ю. Стресс-индуцированные изменения гематологических показателей в организме цыплят // С.Ю. Харлап // Инструменты и механизмы современного инновационного развития: сб. ст. межд. науч.-практ. конф. – Уфа, 2016. – С. 28–31.