



УДК616-003.96:636.92

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СТРЕССОВ
РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ
СТАТУС НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРОЛИКОВ**

Крячко О.В. - докт.вет.наук, проф.,;Таран А.М. - аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: стресс, кролики, окислительная активность нейтрофилов
Key words: stress, rabbits, oxidative activity of neutrophils



РЕФЕРАТ

В работе предпринята попытка изучить влияние экспериментальных стрессовых воздействий разной частоты и кратности на характеристики основных механизмов бактерицидности кислородзависимой системы нейтрофилов кроликов. Для модельных опытов использовали 10 кроликов-самцов мясной породы «белый великан» в возрасте 8 месяцев, живой массой $3,400 \pm 0,725$ кг. В первой серии опытов транспортный стресс моделировали перевозкой животных в легковом автомобиле. Имобилизационный стресс во второй серии опытов вызывали фиксацией кролика за лапы к фиксационному станку в положении на спине. В третьей серии опытов была проведена комбинация стрессовых воздействий: транспортного стресса и имобилизационного. Транспортировку моделировали на третий день после имобилизационного стресса и наблюдали за восстановлением основных функциональных систем нейтрофилов. Активность кислородзависимой системы нейтрофилов определяли в реакции с нитросинимтетрозолем прочным. Во всех сериях опытов во время стрессовых воздействий мы отмечаем статистически значимый рост показателей как базальной, так и стимулированной продукции O_2 . Затем через сутки после стрессовых воздействий была выявлена депрессия показателей бактерицидности циркулирующего пула фагоцитов. Она сменялась периодом адаптации на 3,7,14е сутки после стрессового воздействия (также прослеживалась зависимость от длительности и кратности воздействия фактора стрессора), в последующий период исследований наблюдали плавное возвращение исследуемых показателей к их исходным значениям. Критическим периодом являются третьи сутки на фоне комбинации стрессовых воздействий -мы наблюдали глубокое угнетение окислительной активности фагоцитов крови. Этот факт необходимо учитывать при планировании ветеринарных и зоотехнических мероприятий.

ВВЕДЕНИЕ.

Устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям внешней среды напрямую зависит от активности факторов врожденного иммунитета. Уничтожение живых объектов, или заверченный фагоцитоз, составляет одну из основных функций нейтрофила. Переваривание

осуществляется при помощи многочисленных ферментов гранул, которые гидролизуют практически любые биологические структуры. Кислородные радикалы вместе с перекисью водорода, миелопероксидазой и галогенами составляют эффекторное звено аппарата цитоток-

сичности нейтрофила [5, 6, 7, 8]. Хотя, феномен фагоцитоза и является достаточно давно открытым и описанным фактором естественной устойчивости организма, основные изменения метаболических функций клеток-фагоцитов при экспериментальном стрессе изучены недостаточно.

Цель наших исследований - изучить влияние экспериментальных стрессовых воздействий разной частоты и кратности на характеристики основных механизмов бактерицидности кислородзависимой системы нейтрофилов кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Исследования проводились на кафедре патологической физиологии СПбГАВМ и в иммунологическом отделении лаборатории НИИ им. Луи Пастера.

Для модельных опытов использовали 10 кроликов-самцов мясной породы «Белый великан» в возрасте 8 месяцев, живой массой $3,400 \pm 0,725$ кг. Животные содержались в условиях вивария СПбГАВМ на стандартной диете. Корм животные получали 3 раза в день, согласно нормам с учетом их живой массы и возраста.

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63 / ЕС по защите животных, используемых в научных целях.

Были проведены 3 серии опытов с моделированием транспортного, иммобилизационного стрессов и их комбинацию.

В первой серии опытов транспортный стресс моделировали перевозкой животных в легковом автомобиле. Иммобилизационный стресс во второй серии опытов вызывали фиксацией кролика за лапы к фиксационному станку в положении на спине [1]. В третьей серии опытов была проведена комбинация стрессовых воздействий: транспортного стресса и иммобилизационного. Транспортные воздействия проводили на третий день после иммобилизационного стресса и наблюдали за восстановлением основных функциональных систем нейтрофилов.

Активность бактерицидных систем нейтрофилов (кислородзависимая система) определяли в реакции с нитросинимтетрозолем прочным по методике М.Е. Виксмана, А.Н. Маянского в модификации И.Г. Герасимова, Д.Ю. Игнатова [3, 4].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Origin для Microsoft с определением среднего значения, ошибки средней арифметической, достоверности различий по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Результаты исследований окислительной активности нейтрофилов крови кроликов до и после стрессовых воздействий, представлены в таблицах 1-3.

Во всех сериях опытов во время стрессовых воздействий мы отмечали статистически значимый рост показателей как базальной, так и стимулированной продукции O_2 . Затем через сутки после стрессовых воздействий была выявлена депрессия показателей бактерицидности циркулирующего пула фагоцитов. Она сменялась периодом адаптации на 3,7,14 сутки после стрессового воздействия (также прослеживалась зависимость от длительности и кратности воздействия фактора стрессора), в последующий период исследований наблюдали плавное возвращение исследуемых показателей к их исходным значениям (таблица 1,2, 3).

Стимулированная активность нейтрофилов во время стрессовых воздействий также имела тенденцию к увеличению. Спустя сутки наблюдали тенденцию к снижению данного показателя после всех моделируемых стрессовых воздействий. Спустя трое суток во время наслаивания транспортного стресса наблюдали достоверное снижение окислительной активности нейтрофилов ($p < 0,05$). Во время одиночных стрессовых воздействий в этот период наблюдения показатель стимулированного НСТ теста показывал тенденцию к росту и стремился к интактным значениям.

Таблица 1
Изменение окислительной активности нейтрофилов крови кроликов при транспортном стрессе ($M \pm m$, $n=10$)

Период	Базальный тест	Стимулированный тест	Индекс стимуляции
Интактные животные	8,30±1,279	49,10±2,683	1,20 ± 0,816
Животные в состоянии транспортного стресса	11,80 ± 1,429*	54,30 ± 2,073*	1,41 ± 0,182
Спустя 1 день после стрессового воздействия	6,90 ± 1,382	46,20± 2,778	1,13 ± 0,286
Спустя 3 дня после стрессового воздействия	7,90 ± 1,382	47,40± 2,828	1,16 ± 0,264
Спустя 7 дней после стрессового воздействия	8,10 ± 1,441	47,60 ± 2,967	1,17 ± 0,286
Спустя 14 дней после стрессового воздействия	8,40 ± 1,473	49,00 ± 2,762	1,20 ± 0,258

* ($p < 0,05$) отличия статически достоверны при сравнении показателей до и после стрессовых воздействия

Таблица 2
Изменение окислительной активности нейтрофилов крови кроликов при иммобилизационном стрессе ($M \pm m$, $n=10$)

Период	Базальный тест	Стимулированный тест	Индекс стимуляции
Интактные животные	8,30 ± 1,279	49,60 ± 2,683	1,20 ± 0,816
Животные в состоянии им-	12,10±1,361*	55,70± 2,950*	1,52 ± 0,576*
Спустя 1 день после стрессового воздействия	7,70± 1,027	44,90 ± 2,502*	1,33 ± 0,535
Спустя 3 дня после стрессового воздействия	8,10 ± 1,079	46,20 ± 2,619	1,39 ± 0,557
Спустя 7 дней после стрессового воздействия	8,20 ± 1,094	49,30 ± 2,881	1,20 ± 0,745
Спустя 14 дней после первого стрессового воздействия	8,30 ± 1,076	49,90 ± 2,683	1,57 ± 0,577

* ($p < 0,05$) отличия статически достоверны при сравнении показателей до и после стрессовых воздействия

Спустя 7 и 14 суток после начала моделирования окислительная активность нейтрофилов у животных не изменялась существенно.

Полученные нами результаты дополняют данные исследователей Брюхина Г.В.и соавт. [2]при исследовании изменения фагоцитарной активности во время

длительного непрерывного воздействия переменным током и магнитным полем промышленной частоты на организм. Авторы определили динамическое изменение поглотительной способности лейкоцитов. Также, как и мы, авторы наблюдали три фазы (в зависимости от длительности воздействия экстремального фактора

Таблица 3

Изменение окислительной активности нейтрофилов крови кроликов при комбинации стрессовых воздействий (M ± m, n=10).

Период	Базальный тест	Стимулированный тест	Индекс стимуляции
Интактные животные	8,30 ± 1,279	49,60 ± 2,683	1,20 ± 0,816
Животные в состоянии иммобилизационного стресса	9,80 ± 1,016	52,20 ± 2,767	1,60 ± 0,524
Спустя 1 день после стрессового воздействия	8,20 ± 1,065	43,80 ± 2,652*	1,15 ± 0,265
3й день после иммобилизации - комбинация стрессов	4,90 ± 1,029*	36,10 ± 2,605*	1,12 ± 0,238
Спустя 7 дней после первого стрессового воздействия	7,70 ± 0,974	46,70 ± 2,605	1,11 ± 0,271
Спустя 14 дней после первого стрессового воздействия	8,10 ± 1,373	49,50 ± 2,707	1,29 ± 0,251

* ($p < 0,05$) отличия статически достоверны при сравнении показателей до и после стрессовых воздействий

внешней среды): первая фаза – фаза стимуляции, а за ней наступала фаза угнетения. Однако автор не упоминал об адаптационной фазе, выявленной в нашей работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Таким образом, метаболические характеристики фагоцитов крови кроликов изменяются в соответствии со стадиями стресс-реакции: Первая стадия (развивается непосредственно в момент стрессовых воздействий) характеризуется увеличением окислительной способности нейтрофилов. Вторая стадия (спустя 24 часа) характеризуется достоверным снижением или тенденцией к снижению исследуемых параметров фагоцитов. Третья стадия (спустя 3, 7, 14 суток) – восстановление показателей, характеризующих активность кислородзависимой системы бактерицидности нейтрофилов. Критическим периодом являются третьи сутки при комбинации стрессовых воздействий - наблюдали глубокое угнетение окислительной активности фагоцитов крови. Этот факт необходимо учитывать при планировании ветеринарных и зоотехнических мероприятий.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTS OF STRESS OF VARIOUS ETIOLOGIES IN THE OXIDATIVE STATUS OF BLOOD NEUTROPHILS OF RABBITS.

Kryachko, O. V. - doctor of veterinary science, professor; Taran, A. M. - post-graduate student -St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

ABSTRACT

An attempt is made to study the influence of experimental stress effects of different frequency and multiplicity on the characteristics of the main bactericidal mechanisms of the oxygen-dependent system of the neutrophils in rabbits. For model experiments 10 male rabbits of meat breed "White giant" were used at the age of 8 months, with a live mass of $3,400 \pm 0,725$ kg. In the first series of experiments, transport stress was modeled by the transport of animals in a passenger car. Immobilization stress in the second series of experiments was caused by fixation of the rabbit by the paws to the fixation machine in the position on the back. In the third series of experiments, a combination of stress effects was carried out: transport stress and immobilization. Transport effects were carried out on the

third day after immobilization stress and the restoration of the main functional systems of neutrophils was observed. The activity of bactericidal systems of neutrophils was determined in the reaction with nitrobluetetrazolium strong (oxygen-dependent system). In all series of experiments during stressful actions, we noted a statistically significant increase in the indices of both basal and stimulated O₂ production. Then, a day after the stress effects, depression of bactericidal parameters of the circulating phagocyte pool was revealed. It was followed by an adaptation period of 3.7.14 days after the stressful effect (the dependence on the duration and multiplicity of the stressor factor effect was also traced), during the subsequent period of studies a smooth return of the studied parameters to their initial values was observed. The critical period is the third day against the background of a combination of stressful effects - we observed a deep inhibition of the oxidative activity of blood phagocytes. This fact should be taken into account when planning veterinary and zootechnical activities.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Агафонов, Н.А. Влияние а-токоферола ацетата на реакцию лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов при действии иммобилизационного стресса / Н.А.Агафонов, Н.В. Лунина // Физиол. журн. 1987. - Т.33,№1. - С. 57-63.
2. Брюхин, Г.В., Грачев, А.Ю., Немец, М.Г. Влияние иммобилизационного стресса на интенсивность Fe-зависимого фагоцитоза у потомства животных с хронической патологией гепатобилиарной

системы различной этиологии // Патол. физиол. и экспер. терапия. - 1998. - № 2. - С. 22-25.

3. Виксман, М.Е., Маянский, А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинететразолия: Метод. рекомендации. — Казань: Казанский НИИЭМ, 1979. — 11 с.

4. Виксман, М.Е., Маянский, А.Н. Характеристика опсонических факторов по реакции восстановления нитросинететразолия нейтрофилами человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1980. -Т.89 - №2. -С.214-215.

5. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз/ И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. Екатеринбург, 2001. - 277 с.

6. Зайчик, А.Ш., Чурилов, Л.П. - Патологическая физиология. Том 3. Механизмы развития болезней и синдромов. Книга 1. Патологические основы гематологии и онкологии//ЭЛБИ-СПб,2005, 493 с.

7. Темнов, А.А. Контроль продукции активных форм кислорода лейкоцитами позволяет прогнозировать устойчивость организма к стрессорному повреждению / А.А. Темнов, Н.А. Онищенко // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2007. — № 2. — С. 9-11.

8. Katamoto H., Fukuda H., Oshima I., Ishikana N., Kanai Y. Nitrobluetetrazolium reduction of neutrophils in heat stressed goats is not influenced by vitamin E injection // J. Vet. Med. Sci. — 1998. — Vol. 60, №911. — P. 1243-1249.

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающимся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**