



УДК 577.359:57.087:576.08

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК КРОВИ У КУР ПРИ АДАПТАЦИИ К РЕЖИМАМ ОСВЕЩЕНИЯ

**Е.Ю. Беляева, Л.К. Бусловская,
А.Ю. Ковтуненко**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет,
Россия, 308015, г. Белгород,
ул. Студенческая, 14*

*E-mail: elena-belyaeva-1985@mail.ru;
buslovskaya@bsu.edu.ru;
kovtunenka@bsu.edu.ru*

Изучали динамику некоторых морфофункциональных параметров клеток крови у кур кросса «Haysex brown» при разных световых режимах. Установили, что адаптационные реакции организма сопровождаются характерным комплексом изменений. При хроническом стрессе у кур выявили увеличение площади поверхности и объема лимфоцитов, уменьшение модулей упругости лимфоцитов, эритроцитов и нейтрофилов. При антистрессорной реакции тренировки – уменьшение площади поверхности нейтрофилов, снижение потенциала поверхности лимфоцитов и модулей упругости всех изученных клеток.

Ключевые слова: режимы освещения, стресс у кур, адаптация, клетки крови, морфофункциональные параметры.

Введение

Суточный режим освещения – регулятор двигательной активности птицы и ее пищевого поведения, иммунного статуса и состояния здоровья. На птицефабриках в настоящее время практикуют разные световые режимы, однако их влияние на функциональное состояние птицы до сих пор остается мало изученным. Неадекватный режим освещения птичника может стать стрессорным фактором, снижающим продуктивность кур и эффективность производства сельскохозяйственной продукции [1].

Ответная реакция организма зависит от силы и продолжительности воздействия. Чрезмерные по силе раздражители вызывают развитие стресса, раздражители средней и небольшой силы – антистрессорные реакции, состояния предшествующие стрессу и повышающие естественную резистентность организма [2]. Оценка адаптационных реакций, их напряженности и стадийности может способствовать разработке эффективных способов диагностики стрессовых состояний и мер по их предупреждению.

Известно, что клеточный состав крови отражает нейроэндокринные, иммунные и метаболические изменения, происходящие в организме в процессе адаптации. Для более полной характеристики адаптационных реакций и выявления клеточных механизмов адаптации необходимо изучение морфофункциональных параметров клеток крови, такую возможность предоставляет метод атомно-силовой микроскопии [3, 4].

Цель исследования: изучение динамики морфофункциональных параметров клеток крови при адаптационных реакциях у кур на действие разных режимов освещения.

Объекты и методы исследования

Экспериментальная часть работы была выполнена в условиях вивария Белгородской государственной сельскохозяйственной академии на курах кросса «Haysex brown» 18-ти месячного возраста, сформированных по принципу аналогов в четыре группы по 16 голов в каждой. Кур содержали в клетках при плотности посадки, фронте кормления и поения в соответствии с зоотехническими нормами и технологией выращивания данного кросса. Для кур группы контроля (1-я группа) использовали режим освещения: 12 часов – день, 12 часов – ночь (1-й режим), который наиболее близок к естественному освещению; для кур 2-й группы: 7 часов – день, 1 час – ночь (2-й режим) часто применяемый на производстве, в частности ООО «Лопанское» Белгородского агрохолдинга «БЗРК – БЕЛГРАНКОРМ»; 3-й группы: 2 часа – день, 3 часа – ночь, 5 часов – день, 1 час – ночь, 4 часа – день, 9 часов – ночь (3-й режим), по мнению И.И. Кочис с соавт. наиболее полно отвечающий биологическим ритмам птицы [5]; и 4-й группы: постоянное освещение в течение трех суток (4-й режим) с дальнейшим переводом на 1-й режим (экспериментальная модель фотодесинхроноза) [6].

Кровь для исследования морфофункциональных параметров клеток (площадь поверхности, объем, высота, диаметр, модуль упругости и потенциал поверхности) брали у кур из подкрыльцовой вены по 5 мл на 6-е, 16-е и 30-е сутки адаптации. В качестве антикоагулянта



использовали гепарин в количестве 20 ед./мл. Сканирование клеток ($n=10$) проводили на атомно-силовом микроскопе (АСМ) «ИНТЕГРА Вита» (НТ МДТ, Зеленоград) в научно-исследовательской лаборатории «Физиология адаптационных процессов» НИУ БелГУ полуконтактным методом, результаты обрабатывали при помощи программного обеспечения Nova 1.0.26 Build 1397 (НТ МДТ). Потенциал поверхности клеток оценивали методом Зонда Кельвина [7]. Достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В наших исследованиях на основе оценки функционального состояния организма, анализа биохимических и гематологических параметров крови были выявлены и изучены адаптационные реакции у кур при воздействии разных факторов содержания, в том числе и режимов освещения [8, 9, 10]. В результате было установлено, что наиболее благоприятным является режим освещения 12 часов – день, 12 часов – ночь, как наиболее близкий к естественному. Содержание кур 1-й группы при этом режиме не вызывало достоверных изменений функционального состояния организма и изучаемых параметров клеток крови. Применение других режимов освещения, которые используются в практике промышленного производства птицеводческой продукции, по нашим данным, приводит, в конечном счете, к появлению у кур к 30-м суткам экспериментов реакций хронического стресса. При этом для разных адаптационных реакций были выделены характерные комплексы изменений в динамике морфофункциональных параметров клеток крови. В таблицах 1, 2 и 3 представлены те из них, которые в процессе изучения течения адаптации имели достоверные изменения.

Таблица 1
Морфофункциональные параметры лимфоцитов крови кур при стресс реакции

Параметры клетки	Группы			
	1	2	3	4
Площадь поверхности, мкм ²	109.2±8.2	157.3±1.6**	145.2±2.3**	137.1±8.2*
Объем, мкм ³	56.2±0.8	92.3±0.5**	96.4±2.5**	96.8±3.2**
Модуль упругости, мРа	12.6±3.6	4.9±0.5*	3.5±0.8*	2.6±0.8*
Потенциал поверхности, мV	-8.2±3.2	-8.2±2.6	-25.2±3.1**	-6.9±2.6

Примечание: достоверность различий по сравнению с данными 1-й группы * – при $P<0.05$, ** – при $P<0.01$

Таблица 2
Морфофункциональные параметры гетерофилов крови кур при стресс реакции

Параметры клетки	Группы			
	1	2	3	4
Площадь поверхности, мкм ²	172.8±8.2	120.5±0.9**	131.1±1.2**	109.3±9.3**
Объем, мкм ³	65.8±5.2	69.1±1.5	70.3±2.0	79.5±7.1
Модуль упругости, мРа	9.2±0.6	3.4±0.7**	2.9±0.2**	3.7±0.5**
Потенциал поверхности, мV	-6.9±1.1	-9.7±1.3	-16.8±1.7**	-11.9±2.7

Таблица 3
Морфофункциональные параметры эритроцитов у кур при стресс реакции

Параметры клетки	Группы			
	1	2	3	4
Площадь поверхности, мкм ²	90.2±3.2	101.1±5.1	92.5±6.3	108.1±9.2
Объем, мкм ³	64.2±1.8	67.7±2.5	76.6±7.8	71.8±5.4
Модуль упругости, мРа	6.8±1.4	3.5±0.1*	3.9±0.1*	3.8±0.7*
Потенциал поверхности, мV	-7.8±1.2	-3.5±0.7**	-5.7±0.9	-11.4±1.2*

Так, во всех опытных группах по сравнению с контролем в среднем увеличились площадь поверхности и объем лимфоцитов, при этом модуль упругости клеток стал меньше. В 3-й группе у кур в состоянии стресса снизился потенциал поверхности клеточной мембраны.

Объем клетки – важная физиологическая характеристика, от которой зависит форма, внутриклеточная осмолярность, миграционные процессы, клеточный рост, регуляция внутриклеточного метаболизма. Даже краткосрочные изменения объема могут вызвать достаточно глубокие изменения функций клетки, а чрезмерные колебания приводят к нарушению целостности клеточной мембраны и архитектоники цитоскелета [11]. Можно предположить, что увеличение площади поверхности клетки происходит за счет более полного использования мем-



бранного резерва, при этом содержимое клетки распределяется равномерно, уменьшая упругость, что, по-видимому, обеспечивает улучшение кровотока в микрососудах [12].

Площадь поверхности и модуль упругости гетерофилов (нейтрофилов) в среднем уменьшились во всех опытных группах, потенциал поверхности – только в 3-й группе.

При изучении характеристик эритроцитов в процессе адаптации кур к режимам освещения было установлено уменьшение средних значений модуля упругости во всех опытных группах, увеличение потенциала поверхности во 2-й группе и уменьшение – в 4-й по сравнению с контрольными цифрами. По некоторым данным изменения модуля упругости эритроцита может быть связано с конформационными перестройками гемоглобина в клетке и локализацией его в центре [11]. Динамика морфофункциональных параметров эритроцитов является важной характеристикой процессов адаптации, так как может свидетельствовать о дыхательной функции крови и отражать клеточные механизмы адаптации.

Представленные результаты динамики морфофункциональных характеристик лейкоцитов и эритроцитов были получены к 30-м суткам экспериментов, когда во всех опытных группах у кур по совокупности целого ряда параметров функционального состояния организма был диагностирован хронический стресс [10]. При этом отмечали характерные и сходные изменения: увеличение площади поверхности и объема лимфоцитов, уменьшение модуля упругости и потенциала поверхности лимфоцитов, площади поверхности, модуля упругости и потенциала поверхности сегментоядерных нейтрофилов, модуля упругости и потенциала поверхности эритроцитов.

В 4-ой группе фотодесинхроноз приводил к развитию стресс реакции уже на 6-е сутки эксперимента, на 16-е и 30-е сутки в этой группе диагностировали хронический стресс

Развитие хронического стресса у кур при разных вариантах освещения происходило постепенно и стадийно. Для характеристики стадий стресса и адаптационных реакций изменения морфофункциональных показателей клеток крови представлены у кур 2-й и 3-й групп. В табл. 4 даны результаты изучения морфофункциональных параметров клеток крови кур 2-ой группы в процессе адаптации световому режиму.

Таблица 4

Морфофункциональные параметры клеток крови кур 2-ой группы

Параметры клетки	Группы			
	1	2		
		6-е сутки	16-е сутки	30-е сутки
Лимфоциты				
Площадь поверхности, мкм ²	109.7±13.6	107.7±6.2	85.9±2.8**	157.3±1.6**
Объем, мкм ²	57.1±13.6	59.1±6.5	53.8±5.6	92.3±0.5**
Модуль упругости, мПа	11.5±0.9	10.8±2.6	16.6±3.3	4.9±0.5*
Потенциал поверхности, мV	-6.9±1.2	-6.2±2.6	-8.2±2.6	-8.2±2.6
Гетерофилы				
Площадь поверхности, мкм ²	176.1±27.2	146.3±3.8	132.1±6.9**	120.5±0.9**
Объем, мкм ²	65.3±10.3	70.9±7.6	65.1±8.4	69.1±1.5
Модуль упругости, мПа	9.2±0.8	0.8±0.1**	9.5±5.1	3.4±0.7**
Потенциал поверхности, мV	-6.9±1.2	-10.8±1.9	-8.2±2.6	-9.7±1.3
Эритроциты				
Площадь поверхности, мкм ²	90.8±2.1	83.2±2.5*	92.7±4.5	101.1±5.1
Объем, мкм ³	64.1±1.8	57.9±3.1	55.7±2.1*	67.7±2.5
Модуль упругости, мПа	6.8±1.5	1.4±0.3**	7.8±1.1	3.5±0.1*
Потенциал поверхности, мV	-7.6±1.4	-10.4±1.9	-7.4±2.6	-3.5±0.7**

Изучение стадий стресс реакции показало, что стадия тревоги (6-е сутки) сопровождается уменьшением площади поверхности эритроцитов и снижением модуля упругости гетерофилов и эритроцитов. Стадия резистентности (16-е сутки) – значительным уменьшением площади поверхности лимфоцитов и гетерофилов, объема эритроцитов. Стадия истощения с признаками хронического стресса (30-е сутки) – увеличением площади поверхности и объема лимфоцитов, снижением потенциала поверхности эритроцитов, площади поверхности гетерофилов и модулей упругости гетерофилов и эритроцитов.

В таблице 5 представлена динамика морфофункциональных параметров клеток крови кур 3-й группы в процессе адаптации к световому режиму. В этой группе на 6–16-е сутки была выделена антистрессорная реакция тренировки, на 30-е сутки – стресс реакция.

При этом была обнаружена несколько иная картина изменений. Было отмечено уменьшение площади поверхности изученных клеток, снижение потенциала поверхности лимфоцитов и модулей упругости всех изученных клеток.



Таблица 5

Морфофункциональные параметры клеток крови кур 3-ей группы

Параметры клетки	Группы			
	1	2		
		6-е сутки	16-е сутки	30-е сутки
Лимфоциты				
Площадь поверхности, мкм ²	109.7±13.6	109.7±5.9	56.1±2.3**	145.2±2.3**
Объем, мкм ²	57.1±13.6	66.2±6.5	49.8±7.9	96.4±2.5**
Модуль упругости, мРа	11.5±0.9	1.9±0.5**	2.9±0.4**	3.5±0.8*
Потенциал поверхности, мV	-6.9±1.2	-25.3±2.3**	-25.8±2.6**	-25.2±3.1**
Гетерофилы				
Площадь поверхности, мкм ²	176.1±27.2	110.2±4.1*	128.2±1.7**	131.1±1.2**
Объем, мкм ²	65.3±10.3	73.5±6.6	75.5±9.1	70.3±2.0
Модуль упругости, мРа	9.2±0.8	1.4±0.8**	2.9±0.5**	2.9±0.2**
Потенциал поверхности, мV	-6.9±1.2	-25.3±2.3**	-10.2±3.5	-16.8±1.7**
Эритроциты				
Площадь поверхности, мкм ²	90.8±2.1	70.4±3.5**	100.6±6.1	92.5±6.3
Объем, мкм ³	64.1±1.8	41.5±2.1**	67.2±3.3	76.6±7.8
Модуль упругости, мРа	6.8±1.5	2.4±0.1*	2.9±0.1*	3.9±0.1*
Потенциал поверхности, мV	-7.6±1.4	-5.5±1.4	-5.0±1.7	-5.7±0.9

При переходе к стресс реакции, которую обнаружили к 30-м суткам у кур при всех изученных световых режимах, происходило увеличение площади поверхности и объема лимфоцитов.

Таким образом, среди изученных морфофункциональных характеристик клеток крови у кур при адаптации к режиму освещения наибольшим изменениям подвергаются модули упругости, которые при реакции тренировки и всех стадиях развития стресс реакции достоверно уменьшаются. По результатам исследований было установлено, что диагностическое значение для оценки стадий стресс реакции и адаптационных реакций организма имеют площадь поверхности, объем клеток, модуль упругости и потенциал поверхности, так как именно их величины достоверно изменяются и могут быть применены для характеристики текущего состояния клеток крови и адаптивных механизмов организма.

Список литературы

1. Забудский Ю.И. Современные методы диагностики состояния стресса у сельскохозяйственных птиц // Труды III-ей Международной ирано-российской конференции «Сельское хозяйство и природные ресурсы». – М., 2002. – С.134–135.
2. Гаркави Л.Х. Активационная терапия. Антистрессорные реакции активации и тренировки и их использование для оздоровления, профилактики и лечения. – Ростов н/Д.: Изд-во Рост. ун-та, 2006. – 256 с.
3. Федорова М.З., Павлов Н.А., Зубарева Е.В. и др. Использование атомно-силовой микроскопии для оценки морфометрических показателей клеток крови // Биофизика, 2008. – Т. 53 – С. 1014–1018.
4. Козинец Г.И., Погорелов В.М., Шмаров Д.А. Клетки крови – современные технологии их анализа. – М.: Триада-фарм, 2002. – 200 с.
5. Кочиш И.И., Петраш М.Г., Смирнов С.Б. Птицеводство. – М.: 2-ое изд., перераб. и доп. Колос, 2007. – 414с.
6. Погребняк Т.А. Сопряженность уровня гликемии с электрической активностью структур мозга птицы в условиях десинхронозов // Материалы конференции «Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения. – Белгород: БелГСХА, 2006. – С.71.
7. Руководство пользователя «Зондовая нанолaborатория Интегра Вита». – Зеленоград: Copyright НТМДТ, 2006.
8. Бусловская Л.К., Ковтуненко А.Ю., Беляева Е.Ю. Адаптация кур к факторам промышленного содержания // Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки. – 2010. – № 21 (92), вып. 13. – С. 96–102.
9. Бусловская Л.К., Ковтуненко А.Ю. Характеристика адаптационных реакций у кур при вибрационном воздействии разной частоты и транспортировке // Сельскохозяйственная биология. Серия биология животных. – 2009. – № 6. – С. 80–85.
10. Беляева Е.Ю., Бусловская Л.К. Адаптационные реакции и биохимические параметры крови кур при разных световых режимах // Научные ведомости БелГУ. Сер. «Естественные науки». – 2012. – № 21 (140), вып. 21/1. – С. 143–148.
11. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction / F. Wehner, H. Olsen, H. Tinel et al. // Rev Physiol Biochem Pharmacol. – 2003 – Vol. 148. – P. 1–80.
12. Влияние наночастиц железа на дыхательную функцию крови / М.Ю. Скоркина, М.З. Федорова, У.Ф. Сладкова и др. // Ярославский педагогический вестник. – 2010. – №2. – С. 101–106.



MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF THE CHICKENS BLOOD CELLS DURING THE ADAPTATION TO THE MODES OF LIGHTING

**E.Yu. Belyaeva, L.K. Buslovskaya,
A.Yu. Kovtunenکو**

*Belgorod State National Research
University, 14, Studencheskaya St.,
Belgorod, 308015, Russia*

*E-mail: elena-belyaeva-1985@mail.ru;
buslovskaya@bsu.edu.ru;
kovtunenکو@bsu.edu.ru*

The authors have studied the dynamics of some morphological and functional parameters of blood cells of chickens of the cross "Haysex brown" in different light modes. It was established that the adaptive reactions of an organism is accompanied by a characteristic set of changes. In the case of chickens chronic stress it was revealed the increase in the surface area and volume of lymphocytes, the decrease of the moduli of elasticity of lymphocytes, red blood cells and neutrophils. During anti-stress reaction of training the decrease of the surface area of neutrophils, reduction in the surface potential of lymphocytes and the moduli of elasticity of all the studied were observed.

Keywords: lighting regimes, stress in chickens, adaptation, blood cells, morphological and functional parameters.