

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Севрюков Антон Васильевич

**«Изменение морфологического состава крови,
показателей метаболизма и пути их коррекции
при стрессе у служебных собак»**

06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент Т.С. Колмакова

Ростов-на-Дону

2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | СТР. |
|--|------|
| ВВЕДЕНИЕ..... | 4 |
| ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ..... | 12 |
| 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ (этиопатогенез и особенности метаболических нарушений при стрессе, а также роль нутриентов в поддержании адаптационного потенциала собак)..... | 12 |
| 1.1. Стресс и антистрессорные реакции организма..... | 12 |
| 1.2. Влияние стресса на организм животных..... | 22 |
| 1.3. Актуальность исследования на служебных собаках..... | 25 |
| 1.4. Особенности пищеварения у собак. Пробиотики и их роль в поддержании гомеостаза организма при алиментарно-зависимых заболеваниях на примере служебных собак..... | 29 |
| 1.5. Пищевой стресс и роль нутриентов в поддержании адаптации животных к смене рациона питания..... | 32 |
| 1.6. Пробиотики и их роль в поддержании гомеостаза организма при алиментарно-зависимых заболеваниях у служебных собак..... | 42 |
| 1.7. Характеристика основных видов пробиотических бактерий применяемых в ветеринарии..... | 46 |
| 1.8. Механизмы эндокринной регуляции метаболических процессов в организме животных..... | 49 |
| 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 62 |
| 2.1. Характеристика объекта исследования..... | 62 |
| 2.2. Получение биологического материала и методы лабораторных исследований..... | 67 |
| 2.3. Методы лабораторных исследований..... | 68 |
| 2.4. Статистическая обработка результатов..... | 73 |
| 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 74 |

| | |
|--|-----|
| 3.1. Форменные элементы крови собак при стрессе..... | 74 |
| 3.2. Оценка адаптационного потенциала собак по лейкоцитарной формуле крови..... | 79 |
| 3.3. Исследование глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции гомеостаза собак в течение 30 суток..... | 88 |
| 3.3.1. Изменение содержания гормонов в крови собак с низкими уровнем кортизола при введении кормовой добавки « <i>Energy</i> » и пробиотического продукта на основе <i>B. subtilis</i> | 94 |
| 3.3.2. Изменение содержания гормонов в крови собак со средними уровнем кортизола при введении кормовой добавки « <i>Energy</i> » и пробиотического продукта на основе <i>B. subtilis</i> | 99 |
| 3.3.3. Изменение содержания гормонов в крови собак с высоким уровнем кортизола, получавших добавку « <i>Energy</i> » и пробиотический продукт на основе <i>B. subtilis</i> | 102 |
| 3.4. Влияние пробиотического продукта на основе <i>B. subtilis</i> и кормовой добавки « <i>Energy</i> » на микрофлору кишечника собак..... | 106 |
| 3.5. Показатели биохимического анализа крови собак..... | 113 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... | 124 |
| ВЫВОДЫ..... | 134 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ..... | 136 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ..... | 138 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... | 139 |
| СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ..... | 154 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ..... | 156 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Здоровье животных – главный индикатор взаимодействия их организма с окружающей средой. Особую значимость этот показатель имеет, когда от здоровья зависит работоспособность и продуктивность. Почти каждому владельцу собаки приходится сталкиваться с проблемой транспортировки своего питомца: на выставку, состязания, дачу, охоту или необходимостью оставить свою собаку на время в специализированных гостиницах или приютах для животных. Такие ситуации, как правило, сопровождаются сменой рациона питания и неизбежным воздействием неблагоприятных факторов, из-за смены окружающей обстановки [52; 58].

На фоне всех неблагоприятных воздействий на животных одним из главных факторов, воздействующих на организм, является пищевой стресс, провоцирующий различные функциональные нарушения в организме и болезни.

В настоящее время, проблема этиологии и патогенеза пищевого стресса является одним из актуальных вопросов, как в ветеринарии, так и в медицине. Механизмы его действия лежат в основе развития дезадаптов и дисбиозов. Проблеме пищевого стресса уделяется достаточное внимание, однако патогенез нарушений обмена веществ обусловленных пищевыми факторами до конца не изучен, что затрудняет разработку оптимальных методов профилактики и лечения этих патологий [38;98].

Одним из перспективных методов профилактики нарушения здоровья на сегодняшний день, является нутрицевтическое воздействия на организм животных при стрессорных нагрузках (в том числе и при пищевом стрессе) посредством приема пробиотиков. Пробиотики оказывают влияние не только на микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, но и оказывают выраженное положительное действие на жизненно важные метаболические

процессы, увеличивая тем самым эффективность использования ресурсов организма [11;36].

По мнению Mijaci D. D., Jankovica G. C. (2010) с помощью нутрицевтиков можно повлиять на состав микрофлоры кишечника, которой в последнее время придается большое значение в генезе многих заболеваний.

Степень разработанности. В настоящее время в ветеринарии большое внимание уделяется проблеме питания животных, так как, структура питания является фактором воздействия на механизмы нейрогуморальной регуляции обменных процессов в организме животных, начиная с клеточного уровня [107]. Процесс адаптации к любым стресс-факторам требует достаточно длительного времени и может привести к болезни животных, поскольку стресс (будь то пищевой или психологический) угнетает иммунитет собак, снижая способность организма сопротивляться болезням, в том числе инфекционным [40;53]. Несмотря на многочисленные исследования, проведенные на тему кормления, этот вопрос остается до конца не изученным, и в настоящее время не существует универсального рациона кормления, который бы подходил всем собакам без исключения. Каждое конкретное животное имеет свои потребности.

Особыми потребностями обладают собаки, несущие службу в кинологовических подразделениях МВД России и других силовых структурах, по сравнению с представителями данного вида, ведущих обычный образ жизни. Питание служебных собак требует особого внимания. Собаки, ежедневно выполняющие физическую и интеллектуальную работу, нуждаются в правильно подобранном рационе, который обеспечит высокую работоспособность, стресс-устойчивость и резистентность.

К сожалению, в отечественной литературе очень мало публикаций о распространенных способах фармакокоррекции метаболически обусловленных нарушениях у домашних животных, что говорит о важности и актуальности исследований в этой области, о чем в своей работе «Проблема метаболического

синдрома у мелких домашних животных в современной зарубежной литературе» также упоминают Н.В. Данилевская и Е.В. Иовдальская (2013) [10;53]. Большинство работ по изучению способов коррекции метаболических нарушений при стрессе у животных носят фрагментарный характер и не в полной мере затрагивают проблемы повышения адаптивных возможностей организма.

Цель исследования: изучить характер метаболических изменений и возможность их коррекции нутрицевтическим путем у служебных собак при смене рациона питания и условий содержания. Сравнить возможности применения пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* и высокоэнергетической кормовой добавки «*Energy*» производства «*Royal Canin*» при стрессе.

Задачи исследования:

1. Изучить адаптационный потенциал собак по изменению количественного состава форменных элементов крови в период адаптации к действию стрессогенных факторов.

2. Изучить глюкокортикоидную и тиреоидную регуляцию метаболизма собак при адаптации к условиям кормления и содержания в школе служебного собаководства.

3. Изучить активность и изменения видового состава микрофлоры кишечника собак во время адаптации к смене рациона питания и условий содержания.

4. Провести сравнительное изучение влияния пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* В-1895 и кормовой добавки «*Energy*» производства «*Royal Canin*» на адаптацию служебных собак к стрессу.

Научная новизна результатов:

1. Впервые осуществлена оценка адаптационного потенциала у собак путем определения состава лейкоцитарной формулы крови, как сигнального критерия

интегральной реакции организма на стресс в соответствии с методикой разработанной Гаркави Л.Х., Квакиной Е.В, Уколовой М.А. (1990).

2. Показано, что добавление к рациону пробиотического продукта и кормовой добавки «*Energy*» повышает неспецифическую резистентность, способствует восстановлению метаболических процессов при стрессе.

3. Показаны функциональные взаимодействия глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции при изменении рациона и условий содержания собак в период адаптации: уровень глюкокортикоидной активности определяет устойчивость организма собак к действию стресса, а уровень активности тиреоидной регуляции определяет характер течения адаптации собак к новому рациону и условиям содержания.

4. Впервые установлено, что переход из стресса в реакцию активации сопровождается положительным влиянием на микрофлору кишечника, которое оказывает пробиотический продукт на основе *Bacillus subtilis*, а использование кормовой добавки «*Energy*» производства «*Royal Canin*» снижает риск срыва адаптации у собак с высоким уровнем содержания кортизола.

Теоретическая и практическая значимость работы. Научно-практическая значимость работы состоит в углублении современных представлений о закономерностях развития стресс реакции у собак.

Исследование, проводимое в данном направлении, представляет интерес с позиции изучения развития неспецифических реакций организма собак, при адаптации к стрессогенным факторам.

Результаты исследования показали особенности направленной гормональной регуляции интенсивности стресса у служебных собак с разным уровнем адаптационного потенциала при переходе к новому рациону и условиям содержания. Исследования в данном направлении в будущем могут быть полезными для совершенствования эффективности основных терапевтических мероприятий, направленных на повышение резистентности организма служебных собак. Установлена возможность использования разных

форм нутрицевтического воздействия (энергетические кормовые добавки и пробиотические продукты) на организм служебных собак при стрессе. Полученный в работе фактический материал может быть полезен для понимания механизмов патогенеза и профилактики многих заболеваний обмена веществ, как в ветеринарии, так и в медицине.

Методология и методы исследования. Методология диссертационной работы спланирована в соответствии со структурой и задачами исследования. Предметом исследования явилось моделирование процесса адаптации служебных собак в период стрессорных нагрузок, вызванных сменой условий содержания, рациона кормления. Объектом исследования послужили служебные собаки в период адаптации, которым в корм вводились нутрицевтики, такие как кормовая добавки «*Energy*» и пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, любезно предоставленный лабораторией центра биомедицинских исследований ЮФУ г. Ростов-на-Дону.

В ходе работы было изучено влияние изменения рациона и условий содержания: на белковый, углеводный, липидный обмен собак, морфологический состава крови, глюкокортикоидную и тиреоидную регуляцию метаболизма, активность и изменения видового состава микрофлоры кишечника собак во время адаптации к смене рациона питания и условий содержания, а также влияние пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* и кормовой добавки «*Energy*» производства «*Royal Canin*» на регуляцию метаболизма и активность микрофлоры кишечника при стрессе у собак.

Научная литература, посвященная исследованиям в области процессов адаптации при стрессе, проанализирована формально-логическими методами. В работе использовались клинические, гематологические, биохимические, микробиологические методы исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При изменении условий содержания и рациона кормления у собак стрессорная реакция сопровождается повышением общего числа нейтрофилов, а именно, увеличивается уровень сегментоядерных нейтрофилов на фоне снижения количества лимфоцитов. Изменение содержания лейкоцитов отражает характер адаптации собак.

2. Функциональное взаимодействие глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев определяют характер адаптации служебных собак при изменении условий содержания и рациона. Высокая секреция кортизола является фактором риска срыва адаптационного процесса.

3. Применение пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* способствует снижению напряжения адаптационных процессов при стрессе за счет нормализации микробиоты кишечника и преобладанию анаболических процессов над катаболическими.

4. Кормовая добавка «Energy» производства «Royal Canin» снижает риск дезадаптоза у собак с низким адаптационным потенциалом при истощении надпочечниковой регуляции за счет дополнительного поступления высокоэнергетических субстратов.

Степень достоверности. О достоверности полученных результатов работы свидетельствует значительный объем исследований, проведенных на достаточном количестве животных с использованием апробированных методик и применением специального оборудования в сертифицированных лабораториях. Объективность научных положений и выводов подтверждается применением биометрической обработки экспериментальных данных.

Результаты исследования опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

Апробация работы. Диссертация апробирована на совместном заседании кафедры медицинской биологии и генетики и координационного совета ГБОУ

ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 3 от 29.06.2015 г.)

Основные результаты исследования доложены на:

II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», (Ростов-на-Дону, 8-10 октября 2008 г.);

III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», (Ростов-на-Дону, 1–4 октября 2009 г.);

III Международной научно-практической конференции по физиологии и медицине «Высокие технологии, исследования, образование в физиологии, медицине и фармакологии», (г. Санкт-Петербург, 26-28 апреля 2012 г.);

III Научно-практической конференции «Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе», ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России. (29 мая 2014 г. Ростов-на-Дону);

Межвузовской научно-практической конференции «Лабораторные животные в медицинских и нутрицевтических исследованиях», (Ростов-на-Дону, 27 февраля 2015 года, РостГМУ);

XIV межвузовской биохимической научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении», (Ростов-на-Дону, 2015 г.).

Личный вклад соискателя. Автор лично принимал участие в сборе материала, лабораторном исследовании, статистическом анализе, в обработке материала и написании глав диссертации.

Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 100 %.

Публикация результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы, в том числе 3 работы в периодических изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных изданий, утвержденных

ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени («Валеология», «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», «Ветеринария Кубани»).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы, включающего 136 источников, из них 64 – отечественных и 72 зарубежных, списка работ опубликованных по теме диссертации. Приложения изложены на 5 страницах. Диссертационная работа иллюстрирована 32 рисунками и содержит 15 таблиц.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Стресс и антистрессорные реакции организма

В настоящее время, под термином «стресс» понимают приспособительную реакцию организма на внешнее или внутреннее раздражение, выступающее в роли того или иного стресс-фактора. Сам термин «стресс» в его современном понимании впервые употребил и ввел в обиход в 1936 г. канадский исследователь Ганс Селье, согласно его концепции, «стресс есть неспецифический ответ организма на любое предъявленное ему требование», а также «возникшая необходимость организма адаптироваться к новым жизненным условиям или внезапно изменившимся ситуациям» [44].

Однако, в действительности, этот термин Г. Селье заимствовал из работ Уолтера Кэннона (W.B.Cannon, 1939), который использовал это слово в сходном смысле [40;128]. Уолтер Кэннон также был сторонником идеи нейроэндокринной регуляции реакции организма на сильный внешний раздражитель, подчеркивая ее важную роль в поддержании гомеостаза организма. Термин «гомеостаз» в науку У. Кэннон так же ввел впервые [40;41].

Однако, именно Г. Селье подразделил стресс на ряд стадий: тревоги (или мобилизации защитных сил организма), резистентности или сопротивления (приспособления к напряженной ситуации) и истощения (израсходования запасов энергии) и, как следствие - утомления (последствия длительного воздействия стрессорных факторов) [8;128]. Наряду с этим, он ввел понятие «общего адаптационного синдрома», развивающегося в организме под действием тех или иных стрессоров. По его мнению, адаптационный синдром – есть нечто иное, как естественный физиологический ответ любого организма на

внешнее или внутреннее раздражение, способное вызвать временное нарушение гомеостаза. Что бы организм функционировал нормально и поддерживал все физиологические процессы, он должен находиться в состоянии динамического равновесия. Под действием стрессоров (стресс-факторов) хрупкий баланс динамического равновесия в организме может быть нарушен. В тоже время, когда ситуация требует незамедлительной реакции в ответ на любой раздражитель, будь то испуг, холод, непривычная пища, инфекция, лекарство или вакцина, срабатывают врожденные адаптивные механизмы, затрагивающие нервную, эндокринную, иммунную, кроветворную и сердечно-сосудистую системы, носящие стереотипный характер, что подробно описано в работе Емельянова Н.А. и Герасимовой И.А. (1990) [14;40].

В течение длительного времени стресс считался – стереотипным ответом организма на сильные повреждающие воздействия любой природы и оставался единственной описанной неспецифической адаптационной реакцией организма, что продолжалось до 70-х годов, пока нашим отечественным ученым Гаркави Л.Х. (1968) не была найдена первая анти-стрессорная реакция – «реакция активации», развивающаяся на действие раздражителей средней силы (дострессорной интенсивности) [8]. В 1969 году коллективом наших ученых Гаркави Л.Х., Квакиной Е.Б., Уколовой М.А. была открыта «реакция тренировки», развивающаяся в ответ на воздействие еще более слабых (пороговых) раздражителей. Череда этих открытий в дальнейшем позволила описать зависимость типа общей адаптационной реакции от силы или дозы воздействия [8]. Открытие №158 Гос. Реестра СССР Комитета по делам изобретений и открытий, 1975, Л.Х. Гаркави, М.А. Уколова, Е.Б. Квакина.

В дальнейшем РА была подразделена Л.Х.Гаркави, еще на две самостоятельные реакции, такие как реакция спокойной и повышенной активации [4;7;8].

Таким образом, в настоящее время выделяют четыре основные адаптационные реакции, такие как, стресс, повышенная активация, спокойная

активация и реакция тренировки [4;8]. В основе этих реакций лежит количественно-качественный принцип, суть его в том, что в ответ на действие раздражителей в зависимости от их биологической активности, развиваются качественно отличающиеся стандартные адаптационные реакции организма.

Первая общая неспецифическая адаптационная реакция - реакция «стресс», согласно исследованиям Г. Селье, протекает стадийно и характеризуется определенным комплексом изменений в нейроэндокринной системе и оказывает влияние на уровень неспецифической резистентности организма, его воспалительный потенциал и метаболизм. Приблизительно через шесть часов после воздействия стрессора, согласно утверждениям Ганса Селье развивается «реакция тревоги», это первая стадия стресса, длительность которой продолжается от 24 до 48 часов и сопровождается уменьшением тимуса, лейкоцитозом, лимфопенией, анэозинофилией, нейтрофилёзом, развитием кровоизлияний, язв в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта [4;7;8]. На фоне этого, в эндокринной системе происходит выброс в кровь адреналина корой надпочечников, стимуляция секреции адренотропного гормона гипофиза, приводящая к повышению уровня в крови глюкокортикоидных гормонов, угнетена деятельность щитовидной и половых желез [44].

Селье заметил, что после реакции тревоги резистентность организма к сильным, повреждающим воздействиям повышается, в связи этим была выделена следующая стадия – стадия устойчивости [4]. В этой стадии отмечается положительная тенденция в работе желез внутренней секреции и тимико-лимфатической системе, а иногда даже происходит повышение функциональной активности желез, которые были угнетены в первой стадии реакции. Однако, если стрессор очень сильный или повторяется, начинает развиваться стадия истощения, в результате которой отмечается резкое повышение секреции адренотропного гормона на фоне постепенного истощения секреции корой надпочечников глюкокортикоидных гормонов. Это

наблюдается, если организм находится при систематическом воздействии стресса, результатом чего является развитие хронического стресса [4;7;8].

Биологический смысл стадии тревоги заключается в том, что при воздействии сильного стрессора необходимо любой ценой получить энергию в короткие сроки, чтобы обеспечить необходимые условия для выживания, хотя и не выгодной ценой. Мгновенный выброс энергии происходит в результате распада жиров, белков, углеводов по средствам стимуляции выработки корой надпочечников адреналина и глюкокортикоидов. Однако избыток глюкокортикоидных гормонов подавляет тимус, лимфатические железы, снижается уровень лимфоцитов, подавляются иммунные реакции в организме, оказывается противовоспалительное воздействие на организм. В тоже время установлено, что в процессе эволюции, воспалительная реакция – это защитная реакция организма. В период стресса при нарушениях в тканях, а далее и в постстрессорный период, если бы не развивалась иммунодепрессия, то, по мнению Дильмана В.М. (1987), могли бы возникнуть аутоиммунные заболевания [13]. По мнению Л.Х. Гаркави, изменения, происходящие при стрессе биологически необходимы, так как, защитная реакция на стрессор, отвечающий большой силе раздражителя, к примеру, воспалительная реакция, возможно, приведет организм к гибели [8]. Что бы этого не произошло, организм вначале воздействия раздражителя ослабляет защитный ответ.

Вместе с тем повышается артериальное давление и свертываемость крови, а активность некоторых желез (к примеру, половых, щитовидной) подавляется. Многочисленные экспериментальные данные ученых подтверждают, что при влиянии различных экстремальных факторов на живой организм происходят большие энергетические траты, что в результате приводит к преобладанию энергетического обмена веществ над пластическим [128]. Повышение резистентности организма, после «реакции тревоги», обусловленной острой инфекцией, еще можно отметить, при хронических заболеваниях - не всегда, а при развитии опухолей уже развивается стадия истощения [8].

Исследования наших ученых (Гаркави и др.) показали, что стадия истощения хронического стресса протекает волнообразно, к примеру, секреция надпочечниками глюкокортикоидов то нарастает, то уменьшается [4;8].

В окружающей среде и повседневной жизни встречается большое количество раздражителей и слабых и сильных, но, не смотря на то, что они могут быть слабые, организм все равно на них реагирует, может ли это быть такая же реакция, как на сильные раздражители. Сначала организм анализирует стрессор, определяя его силу, отмечает, слабый это или сильный раздражитель, а затем в зависимости от силы его воздействия приводит свои защитные механизмы в состояние боевой готовности. Это состояние формируется через 6 часов и длится 24-48 часов.

Первую стадию в реакции организма на слабое воздействие называют стадией «ориентировки или тренировки».

Стадия тревоги стресса, формируется также через 6 часов и длится 24-48 часов после воздействия, но характер изменений абсолютно другой. Согласно концепции Г. Селье, если для реакции тревоги было характерно уменьшение тимуса, то в стадии ориентировки размеры тимуса достигают нижней границы физиологической нормы. Причем в первую стадию ориентировки размеры тимуса больше в 2 или 3 раза, чем в первую стадию стресса, причем не наблюдается каких-либо признаков его дегенерации или гипоплазии. Стадия ориентировки, также как и реакция тревоги, характеризуется определенным соотношением форменных элементов белой крови [4;7]. В исследованиях авторов периодических изданий отмечалось, что у экспериментальных крыс в стадии реакции тревоги острого стресса наблюдается: лейкоцитоз, анэозинофилия, лимфопения (количество лимфоцитов ниже 50%), а количество сегментоядерных нейтрофилов превышает физиологическую норму, количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов находится в пределах нормы или выше. В стадию ориентировки авторы отмечают у крыс следующее: количество лимфоцитов в пределах нижней границы физиологической нормы

(51-60%), количество сегментоядерных нейтрофилов в пределах верхней границы нормы, а такие форменные элементы крови, как эозинофилы, палочкоядерные нейтрофилы и моноциты варьируют. В эндокриной системе тоже происходит комплекс определенных изменений [4;7]. В стадии ориентировки секреция глюкокортикоидных гормонов корой надпочечников достигает верхней границы физиологической нормы.

Морфологические исследования коры надпочечников экспериментальных крыс показали, что в стадии тревоги стресса кора надпочечников значительно увеличена за счёт пучковой зоны, которая отвечает за секрецию глюкокортикоидов, а ширина клубочковой зоны наоборот уменьшена. Функция щитовидной железы в стадии ориентировки по всем показателям соответствует нижней границе физиологической нормы, в отличие от стресса где ее секреция угнетена. В реакции тренировки все процессы метаболизма всё еще находятся на невысоком уровне, однако процессы анаболизма уже преобладают над катаболизмом [4;7;8].

В дальнейшем при продолжающемся систематическом и волнообразном воздействии вызвавшем реакцию тренировки, развивается очередная вторая стадия тренировки - стадия «перестройки». В этой стадии наблюдается постепенное снижение секреции глюкокортикоидов корой надпочечников, активность тимико-лимфатической системы и системы соединительной ткани продолжает расти, что указывает на медленное, но целенаправленное повышение активности защитных подсистем организма при тренировочном воздействии [4;7]. В обмене веществ также происходят волнообразные колебания, ведущие к снижению уровня обмена до очень низкого, энергетически выгодного уровня с минимальным расходом пластических веществ. Пластический обмен увеличивается, что ведет к накоплению в организме аминокислот и белков. После стадии «перестройки», развивается следующая третья стадия реакции тренировки - стадия «тренированности», при которой размеры тимуса приближаются к средней норме. Соотношение

лейкоцитов существенно не изменяется по сравнению с первой стадией, однако в большинстве случаев количество лимфоцитов достигает верхней границы физиологической нормы, характерной для данной реакции, а количество сегментоядерных нейтрофилов находится у нижней границы нормы. Уровень глюкокортикоидных гормонов снижается до средних значений нормы. Функциональная активность половых желез, щитовидной железы приближается к уровню средней нормы. Преобладают процессы анаболизма с накоплением пластического материала. Следует отметить, что в стадии ориентировки происходит, повышение секреции глюкокортикоидных гормонов, хотя и в меньшей степени, чем при реакции тревоги. В связи, с чем стадия реакции тренировки обладает более мягким противовоспалительным эффектом, хотя и не таким сильным, как при стрессе, но зато без сильных повреждающих воздействий защитных подсистем организма. В стадии тренированности исследователям удалось получить повышение противоопухолевой резистентности в опыте с крысами [4;7;8].

Схожий профилактический эффект противоопухолевого влияния реакции тренировки был сходен с описанным ранее Н.В. Лазаревым и др. [4]. Проводилось исследование противоопухолевого воздействия на организм адаптогенами. Более выраженное воздействие на противоопухолевый процесс адаптогены оказывали именно при предварительном применении. Вероятнее, всего, что адаптогены применяются в дозах, вызывающих развитие реакции тренировки. При этом стало известно, что воздействия, приводящие к развитию реакции тренировки, вызывают только лишь торможение уже выросших экспериментальных опухолей, но не способствуют их полному рассасыванию [4].

Ориентируясь на эти данные можно предположить, что применение пробиотиков в качестве адаптогенов при стрессе у служебных собак, вызванном сменой пищевого рациона и условий содержания заслуживает большого внимания, так как пробиотики обладают более широким спектром

положительных воздействиях на организм, однако эффект полученный при их применении может быть менее быстрый чем от адаптогенов состоящих из различных биологически активных компонентов, в связи с чем необходимо более подробное изучение действия пробиотиков на организм в период стресса.

Таким образом, в случае адаптации к раздражителям слабой силы, не происходит никаких значительных подавлений, ни стимуляции защитных подсистем организма - это реакция тренировки. Если же реакция на стрессор средней силы, являющийся «золотой серединой», то вполне целесообразным будет повысить активность защитных подсистем организма, чтобы приспособиться к действию раздражителя.

Дальнейшие исследования отечественных ученых показали, что может развиваться еще один вид реакции, названный ими в дальнейшем – «реакцией активации» [4;8]. Данный тип реакции развивается в ответ на действие различных по качеству раздражителей средней силы и характеризуется быстрым подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма. Реакция активации имеет важное антистрессорное значение и подразделяется на реакцию спокойной активации, развивающуюся на раздражители нижней части диапазона и реакцию повышенной активации, развивающуюся в верхней части диапазона. Первая стадия в этих реакциях на раздражители средней силы, также формируется через 6 часов и держится около 24-48 часов после окончания воздействия. Морфофункциональные изменения при этих реакциях отличаются от реакции стресса и тренировки. В случае реакции спокойной и повышенной активации размеры тимуса существенно увеличены [4;7;8].

По данным Л.Х. Гаркави, для реакции спокойной активации также характерно определенное соотношение лейкоцитов. У экспериментальных крыс соотношение лейкоцитов отмечалось в пределах верхней границы нормы (61-80%), в случае реакции повышенной активации концентрация была несколько выше нормы (71-80%), количество сегментоядерных нейтрофилов - в пределах

нижней границы нормы и даже ниже, количество лейкоцитов, эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов варьировало [4]. Значительное повышение уровня серотонина при реакции спокойной и повышенной активации на фоне разного уровня катехоламинов в надпочечниках показывает не схожую степень преобладания симпатического отдела вегетативной нервной системы при этих реакциях. Были отмечены и отличия между РСА и РПА и по уровню гормонов, так уровень кортизола и тироксина в крови при РПА был выше, чем при РСА. Но следует заметить, что для точности определения типа реакции следует обращать внимание не на абсолютное количество уровня гормонов в крови, а на их соотношение. К примеру, содержание кортизола при реакции тренировка мало отличается от повышенной активации, а отношение кортизол/тироксин отличалось в 2-3 раза.

В виду чего, при изначально сходном уровне глюкокортикоидных гормонов функциональная активность щитовидной железы в случае реакции повышенной активации оказывается значительно выше [4]. Энергетический обмен при реакции активации смещается в сторону ускорения окислительных процессов. Отмечается положительная тенденция в сторону повышения уровня общего белка, в основном за счет альбумина в ткани и плазме крови.

Происходит активизация глюконеогенеза, несмотря на отсутствие избытка секреции глюкокортикоидных гормонов. Данные физиологические изменения закономерно отмечаются уже через 6 часов после действия любого по качеству раздражителя средней силы [4].

В здоровом организме реакцию повышенной активации можно поддерживать продолжительное время, в отличие от больного и особенно тяжелобольного организма. Поэтому, если вовремя не снизить силу воздействия стрессора, то реакция повышенной активации может легко перейти в стресс, а иногда и в более тяжелую форму - реакцию «переактивации», которая характеризуется чрезмерным повышением относительного количества лимфоцитов и является основой предпатологии, но иной чем стресс. Для нее

характерно резкое повышение уровня гормонов надпочечников и избыточная секреция некоторых гормонов щитовидной железы [4].

Авторы отмечают, что для реакции как СПА, так и РПА необходимо ежедневно уменьшить дозу воздействия в нелинейном порядке. При реакции активации в отличие от реакции тренировки, энергетические траты немного выше, однако напряжения, как при стрессе не развивается. Кроме всего прочего, при реакции активации происходит уравнивание всех видов метаболизма, поэтому явления распада веществ не преобладают, а наоборот усиливается пластический обмен, в связи, с чем происходит накопление строительного материала (аминокислот, белков и т.д.) [8]. При изучении микрофлоры кожных покровов, как одного из показателей резистентности организма при стрессе исследователями было выявлено, что при реакции тренировки число гемолитических колоний (стрептококков, стафилококков) гораздо меньше, чем при стрессе.

Меньше всего количества колоний патогенных микроорганизмов, вплоть до полного их отсутствия, отмечается при РА, особенно ПА [4;7;8]. Следующая стадия реакции активации, при которой сохраняется устойчивая активация защитных подсистем организма, называется – «стойкой активацией». Размеры тимуса увеличены, а соотношение лейкоцитов крови остается таким же. Гормональная регуляция в этой стадии практически не отличается от стадии первичной активации. Железы внутренней секреции, такие как гипофиз, надпочечники, щитовидная железа и половые железы функционируют в пределах верхних границ физиологической нормы или даже несколько превышают её. В исследованиях проводившихся Л.Х. Гаркави, отмечается, что неспецифическая и противоопухолевая резистентность организма повышается гораздо быстрее за счет истинной стимуляции активности защитных подсистем организма. В свою очередь систематическое повторение активационного воздействия, при реакции спокойной или повышенной активации, сделает эти реакции более стойкими [4;7;8].

Среди огромного множества параметров, характеризующих работу подсистем организма, есть, по меньшей мере, несколько основных видов.

Это в первую очередь, сигнальный показатель реакции - процентное число лимфоцитов, а также некоторые биохимические показатели, которые связаны и с реакцией и с уровнем реактивности, т.е. имеют весьма сложный, нелинейный характер изменения в широком диапазоне величины (силы, дозы) действующего фактора. К ним относится большинство гормонов, микрофлора, показатели метаболизма [4;8]. Очевидно, разных показателей реакции и уровней реактивности гораздо больше, но авторы приводят наиболее значимые и подтвержденные в их исследованиях примеры [7].

1.2. Влияние стресса на организм животных

В многочисленных экспериментальных исследованиях, начиная с 60-х годов XX века и кончая современными, было установлено, что стресс в организме млекопитающих вызывает иммуносупрессию, которая проявляется снижением количества циркулирующих Т- и В-лимфоцитов, антигенпрезентирующих клеток, иммуноглобулинов, угнетением первичного и вторичного иммунного ответа к различным антигенам и значительным снижением абсолютного числа и фагоцитирующей активности макрофагов селезенки. При стрессе снижается цитотоксическая активность естественных киллеров и макрофагов, а также подавляется способность самих клеток продуцировать α -, β - и γ -интерфероны, на фоне увеличения продукции некоторых цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α) [18; 40].

При стресс-индуцированном иммунодефиците в организме животных наблюдаются активация латентных вирусных инфекций, а также подавляется развитие специфического иммунного ответа при вакцинации [18;40].

Авторы некоторых статей утверждают, что стрессовые состояния могут активизировать "дремлющие" личинки гельминтов [40]. В работе Шинкаренко

А.Н. приведены результаты исследования собак инвазированных метацеркариями *Opisthorchis felineus*, где на фоне обострившегося описторхоза, начинает резко снижаться содержание представителей индигенной микрофлоры кишечника при возрастании доли факультативных микроорганизмов [59].

Хронические стресс у собак чаще всего обусловлен неправильным рационом питания, рядом заболеваний обмена веществ, к примеру, диабет.

Долговременные или хронические стрессы оказывают наиболее тяжелое воздействие на здоровье организма животных [40]. М.К. Петрова, последовательница идей великого русского физиолога И.П. Павлова в экспериментах на собаках вызывала у них срыв нервной деятельности, в результате чего у подопытных животных наступало преждевременное физиологическое старение.

Продолжительные и сильные воздействия стресс-факторов подавляют иммунитет, повышают риск развития инфекционных, а также онкологических заболеваний, резко меняют метаболизм головного мозга, приводят к развитию неврозов, о чем пишет в своей работе E.V. Yang, R. Glaser (2002), [40;136].

Большинство ученых всего мира занимающиеся проблемой стресса, отмечают, что до 90% всех заболеваний зависят от стресса, то есть они вызываются или усугубляются стресс-факторами. Частые и длительные стрессы считаются главными факторами риска при проявлении и обострении сердечнососудистых заболеваний и болезней желудочно-кишечного тракта [40].

Утверждают, также, что и некоторые вирусные (вирус герпеса, который у взрослых собак, как правило, протекает бессимптомно), аллергические и паразитарные (к примеру, демодекоз) заболевания проявляются или обостряются также при стрессовых воздействиях [60]. С. Gobello, V. Corrada (2002), К. Paclikova, P. Kohout, M.Vlasin (2006) описывают такие случаи из ветеринарной практики, когда у кобелей происходит обострения простатита при остром стрессе [40; 99;109;115].

Стрессовое воздействие на организм собак может быть дополнительным фактором риска при хронической почечной недостаточности. Проявление некоторых видов алопеций (облысения) или других кожных заболеваний у собак также может быть обусловлено воздействием стресса, что подтверждается многочисленными исследованиями [40]. Появление алопеции при воздействии стресса, отмечает в своей работе Э.Н. Солошен (2009) [46].

При стрессе происходит выброс запасенной глюкозы из мышц и печени, это приводит к быстрому, но краткосрочному всплеску энергии, после чего у организма перенесшего стресс наступает состояние длительного утомления. Вот почему стресс считается «расхитителем энергии». Однако, несмотря на множество негативных последствий действия стресса на организм, было бы неправильным воспринимать его лишь как неизбежное зло. Постоянные стрессовые воздействия являются тренингом для организма. Длительное отсутствие стрессогенных воздействий может привести к отрицательному эффекту, как при выращивании животных - гнотобиотов в стерильной среде, в организме которых могут произойти патологические изменения при переводе их в обычные условия [40]. Но исследования последних лет показали, что стресс вызывает в организме животных скорее иммуномодуляцию, чем иммуносупрессию, так как ряд иммунологических показателей (играющих важную защитную роль) под действием стресса стимулируются, но бывают конечно и исключения, что отмечает в своей работе S.B. Pruett (2001) [40;122].

В любом случае, избавиться от стресса полностью – невозможно к нему можно только приспособиться. Следовательно, адаптация представляет собой естественную функцию любого живого организма, проходящего тонкую подстройку к постоянно меняющимся условиям среды. Окружающая среда действительно изобилует большим разнообразием стрессорных факторов, полное избавление от которых несет лишь смерть живому организму [40].

У собак стресс может вызвать практически любое кардинальное изменение привычного жизненного уклада. К стресс-факторам, с которыми

собаки могут столкнуться в окружающей среде: транспортировка, смена обстановки, смена рациона питания, роды, частое пребывание в одиночестве, дальние переезды, болезни, визиты в ветеринарному врачу, выставки, нападения других животных, праздничные фейерверки, что несомненно может отразиться на их здоровье. В связи с выше сказанным, проблема профилактики и лечения стрессорных, постстрессорных состояний, а также последствий их воздействия на поведение и здоровье домашних животных очень актуальна, особенно если это касается здоровья служебных собак.

Таким образом, изучая сложные взаимоотношения между общими и местными реакциями при развитии патологических процессов связанных с воздействием стресс-факторов, также необходимо рассматривать их с позиции теории адаптационных реакций. С целью дальнейшей разработки тактики управления этими процессами, т.к. полученные данные могут открыть хорошие перспективы для управления состоянием организма и преодоления патологических процессов, имеющих не только общий, но и местный характер [4].

1.3. Актуальность исследования на служебных собаках

Наиболее часто встречаемыми стрессогенными факторами, способными снизить работоспособность служебных собак или привести к нарушению их здоровья относятся: транспортировка, работа в полевых условиях, изменение условий содержания и рациона питания. В настоящее время служебные собаки достаточно широко используются для работы в силовых структурах стран всего мира, поэтому очень важно сохранить их здоровье в условиях повышенной физической, эмоциональной нагрузки. Именно поэтому не вызывает никакого сомнения необходимость создания доступных технологических решений, методов, способных помочь в решении проблемы повышения адаптационного потенциала и работоспособности собак в условиях стресса. Наиболее доступным является алиментарное воздействие на организм, то есть

посредством определенных пищевых компонентов. В первую очередь это определено тем, что в стрессовых ситуациях потребность собак в энергии и питательных веществах возрастает, однако в зависимости от характера воздействия аппетит у животных различается [40]. Так у собак, подвергающихся стресс-факторам, аппетит часто понижен, и они съедают ограниченное количество корма. При тяжелой физической нагрузке питательных веществ собакам требуется больше, и в большинстве случаев аппетит у них наоборот повышенный, в тоже время, объем корма ограничен возможностями желудочно-кишечного тракта. При стрессе чаще всего отмечается недостаток определенных питательных веществ, и их нехватка негативным образом сказывается на функциях ряда органов.

Нарушение пищеварения, вызванное неполноценным питанием, может привести к увеличению проницаемости стенок кишечника, в результате чего не переваренные пищевые фрагменты могут попасть в кровяное русло. В конечном итоге, ответ на местную иммунную реакцию приведет к возрастанию нагрузки на надпочечники [83]. Надпочечники в ответ на стресс будут вырабатывать больше кортизола, избыток которого, в свою очередь, приведет к нарушению пищеварения.

Снижение иммунитета может стать причиной аутоинфекции – явления, при котором происходит заражение организма микроорганизмами, находящимися внутри него и в некоторых случаях под воздействием различных факторов приобретающих болезнетворные свойства. Развитие патогенной флоры сопровождается возникновением различного рода воспалений [2]. Резкая смена рациона питания может существенно повлиять на кишечную микрофлору и способствовать развитию дисбиоза кишечника у собак. Данный фактор, таким образом, является следствием действия пищевого стресс [30].

Получается порочный круг, который неизбежно отражается на здоровье. Таким образом, существует ряд взаимозависимых проблем, связанных с

изменением питания собак, в условиях действия других стрессогенных факторов [40].

Профилактика и коррекция последствий пищевого стресса в настоящее время является одной из наиболее важных задач биологии и медицины, что отмечают в своей работе Назаренко Л. И., Барановский А. Ю. «Питание и воспалительные заболевания кишечника» (2012) [1;29].

Несмотря на многочисленные исследования, проведенные на тему кормления собак, этот вопрос остается до конца не изученным и в настоящее время.

Полноценное питание позволяет собаке получать все необходимые питательные вещества в правильном их соотношении: должное количество белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных элементов и воды. Однако не существует универсального рациона кормления, который бы подходил всем собакам без исключения. Каждое конкретное животное имеет свои потребности. Особыми потребностями обладают собаки, несущие службу в кинологовических подразделениях МВД России, по сравнению с представителями данного вида, ведущих обычный образ жизни. Питание служебных собак требует специального внимания, ведь от еды зависит здоровье, физическая активность и работоспособность животных. Собаки, ежедневно выполняющие физическую работу, нуждаются в правильно подобранном рационе.

Повышенные физические и психические нагрузки на организм служебной собаки во время дрессировки и последующей практической деятельности могут стать стрессогенными факторами. Однако пища, которой кормят собаку, тоже способна вызвать стресс, пищевую аллергию, болезнь Крона, особенно если она изготовлена из низкокачественных, плохо усвояемых ингредиентов или не удовлетворяет полностью потребности собаки [1]. Проблемы, связанные с питанием, нередко возникают при резкой смене рациона, например, при переходе с кормления натуральными продуктами на кормление сухим кормом

или наоборот, а также при переходе с одного сухого корма на другой, и проявляются в расстройстве желудка, развитии диареи, снижении иммунитета и работоспособности. Недостаток или избыток еды также ведет к неприятным последствиям для организма. Все эти факторы в совокупности или по отдельности, могут стать причиной возникновения у собак стресса [29;30].

В последнее время значительно усилилась тенденция к повышению доли сухих кормов в рационе кормления служебных собак. В результате опроса, проведенного среди руководителей и слушателей кинологических подразделений Ростовской школой служебно-розыскного собаководства МВД России в 2013 году, было выяснено, что в 58,7 % подразделений кормление собак осуществляется сухим кормом, 22,1 % - используют смешанное кормление, 19,2 % - натуральное. Однако роль смешанного и натурального питания в некоторых регионах нашей страны достаточно велика. Так, в 27,1 % кинологических подразделений Северо-Кавказского ФО для служебных собак готовят пищу из натуральных продуктов питания, 25,0 % чередуют приготовление каш с дачей сухого корма. В Сибирском ФО в 25 % подразделений собаки получают пищу из натуральных продуктов, еще в 25 % - смешанный рацион. Кинологические подразделения Приволжского ФО в большинстве своем используют смешанное кормление (50,0 %). Подобное анкетирование проводилось также в 2006 году. За семь лет роль натурального кормления значительно понизилась (с 34 % до 19,2 %), а смешанного – возросла (с 11 % до 22,1 %). Также, несмотря на то, что роль натурального кормления в некоторых регионах достаточно высока (СКФО, СФО, ДФО), наблюдается тенденция к переходу на кормление сухим полнорационным кормом. Например, в Северо-Западном ФО на натуральном кормлении остались собаки только в 10 % подразделений. Учитывая разнообразие рационов, используемых для кормления служебных собак в кинологических подразделениях Российской Федерации, а также их разное соотношение в различных регионах и частые переходы с одного вида кормления на другой (в

том числе при изменении мест содержания, дрессировки, при переездах), можно предположить, почему среди служебных собак в большом количестве встречаются расстройства пищеварения, сопровождающиеся дисбактериозом с характерными клиническими проявлениями. Следовательно, одним из способов ускорения адаптации организма служебной собаки к новому рациону является использование нутрицевтических добавок.

С 2012 г. Ростовской школой служебно-розыскного собаководства, Ростовским государственным медицинским университетом, проводятся совместные исследования действия пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* В-1895 и кормовой добавки «Energy» на организм служебных собак в период стресса.

1.4. Особенности пищеварения у собак. Пробиотики и их роль в поддержании гомеостаза организма при алиментарно-зависимых заболеваниях на примере служебных собак

Особенности пищеварения у собак

У собак тип пищеварения, как у хищных, но в результате многовековой domestikации они стали способны переваривать не только животную, но и растительную пищу (омниварты). Поэтому в их рационах могут присутствовать корма и животного, и растительного происхождения. Длина кишечника у собак в 4-5 раз больше длины тела. Время прохождения пищи по пищеварительному тракту у собак главным образом зависит от рациона и составляет 12–15 часов. Пища растительного происхождения вызывает в организме собак более сильную перистальтику кишечника, в связи, с чем проходит гораздо быстрее, чем мясная пища, в течение 4–6 часов. Поэтому переваримость питательных веществ разных кормов неодинакова. К примеру, мясо у собак переваривается на половину через 2 часа, через 6 часов на 87,5%, а через 12 часов почти полностью – на 96,5%; растительная пища, к примеру, рис переваривается

через 1 час – на 8%, через 3 часа – на 50%, через 8 часов – на 98%. В то же время когда происходит избыточное кормление собаки, то количество кала увеличивается, так как часть пищи не переваривается. При нормальном режиме кормления плотоядные животные освобождают прямую кишку 2-3 раза в сутки [19;21]. Однако это время может сильно изменяться в зависимости от состава рациона, количества съеденного корма. На скорость прохождения корма по кишечнику влияют физические и эмоциональные нагрузки, беременность и лактация, температура среды и многие другие факторы.

В слюне хищников отсутствует амилаза – фермент, способствующий перевариванию углеводов, амилаза вырабатывается в поджелудочной железе. По сравнению с травоядными животными, собаки имеют большой желудок и относительно короткий кишечник. Переваривание белков начинается в желудке под действием ферментов желудочного сока. Желудочный сок собак имеет высокую кислотность, и вырабатываемая организмом соляная кислота способствует не только быстрому расщеплению поступающих с пищей белков, но и растворению солей кальция и дезинфекции содержимого желудка (этим объясняется легкость переваривания костей и подгнившего мяса).

При впадении тонкого отдела кишечника в толстый отдел, на границе подвздошной и ободочной кишок имеется короткое мешковидное образование — слепая кишка, в которой создаются благоприятные условия для жизнедеятельности симбионтных микроорганизмов. При их участии происходит брожение и гниение содержимого ободочной кишки, его обезвоживание. Кроме этого симбионтные бактерии синтезируют разнообразные витамины, ферменты, способствующие лучшей конверсии корма. В результате жизнедеятельности микроорганизмов образуются газы, часто с неприятным запахом. Увеличение концентрации гнилостных бактерий, что вредно для организма, в то время, как бродильные, наоборот, полезны и необходимы. Поэтому для кишечной микрофлоры очень полезна молочная диета, при которой в кале гнилостные микробы составляют всего от 7 до 30%,

тогда как при питании растительной пищей их количество увеличивается до 45—51%, а при питании мясной пищей достигает уже 50—64%. Именно поэтому собаки очень часто испытывает дефицит именно бродильных бактерий, что заставляет их поедать собственный кал [19]. Вероятно, таким способом, они спасаются и от недостатка витаминов, которые синтезируются микрофлорой кишечника. Микрофлора желудочно-кишечного тракта состоит из сотни разных видов бактерий. Основными видами бактерий, присутствующих в организме здоровой собаки являются стрептококки, молочнокислые бактерии и клостридии [49]. В кишечнике собак большинство бактерий желудочно-кишечного тракта находится в толстом кишечнике. Наиболее подробно состав нормофлоры желудочно-кишечного тракта собак представлен в работе В.В. Субботина, Н.В. Данилевской (2002 г.) [49;50]. Приблизительно 99% микрофлоры кишечника нормального здорового животного представлено анаэробами, состав которых изменяется с рационом. Например, представителей молочнокислых бактерий значительно больше у молодых животных, которых кормят молочными продуктами. Представителей *Clostridium* больше в толстом кишечнике собак, в рационе которых преобладает мясо. Бактерии толстого кишечника вырабатывают значительное количество аммиака. Если животное здорово, аммиак в печени превращается в мочевины и выделяется через почки. При тяжелом заболевании печени или porto-системном анастомозе аммиак оказывает на центральную нервную систему мощный токсический эффект, известный как гепатоэнцефалия [19].

На основании выше сказанного становится ясно, почему исторически так сложилось, что собака стала объектом и моделью изучения физиологии пищеварения. Этот вид животных оказался наиболее подходящим для отработки экспериментальных методов исследований.

1.5. Пищевой стресс и роль нутриентов в поддержании адаптации животных к смене рациона питания

Реакция организма животных на нарушения кормления получила название «алиментарный или пищевой стресс». Наиболее тяжелым последствием пищевого стресса является нарушение функции иммунной системы.

Среди заболеваний собак, в происхождении которых основную роль играет фактор питания, 61 % составляют сердечнососудистые расстройства, 32 % - новообразования, 5 % - сахарный диабет II типа (инсулиннезависимый), 2 % - алиментарные дефициты.

Питание имеет существенное значение в возникновении и развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта (в том числе дисбактериозов кишечника), печени и желчевыводящих путей, эндокринных патологий, заболеваний опорно-двигательного аппарата, кариеса. В патогенезе воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) основными факторами могут быть: нарушение состава микробиоты кишечника, иммунодефицитные состояния, влияние окружающей среды, а также генетическая предрасположенность.

По мнению ряда авторов, при воспалительных заболеваниях кишечника внешние и генетические факторы играют примерно одинаковую роль [109]. Внешние факторы могут, как ослаблять, так и усиливать действие генов, ответственных за иммунный ответ. К внешним факторам относятся в первую очередь стрессы, бактериальный состав кишечной микрофлоры, характер питания [19;29].

В одном из исследований, проводившихся на овцах, было показано, что питание с избыточным содержанием жиров, способствовало тому, что овцы становились тучными и рождали ягнят с воспалением и фиброзом кишечника, сохранявшимися на протяжении всей их жизни [29].

Таким образом, важной задачей алиментарного воздействия должно быть — блокирование механизмов патогенеза заболеваний, в которых фактор питания играет главную роль.

Как известно, ведущим звеном патогенеза при некоторых заболеваниях кишечника является иммунное воспаление слизистой оболочки (рис.1.).

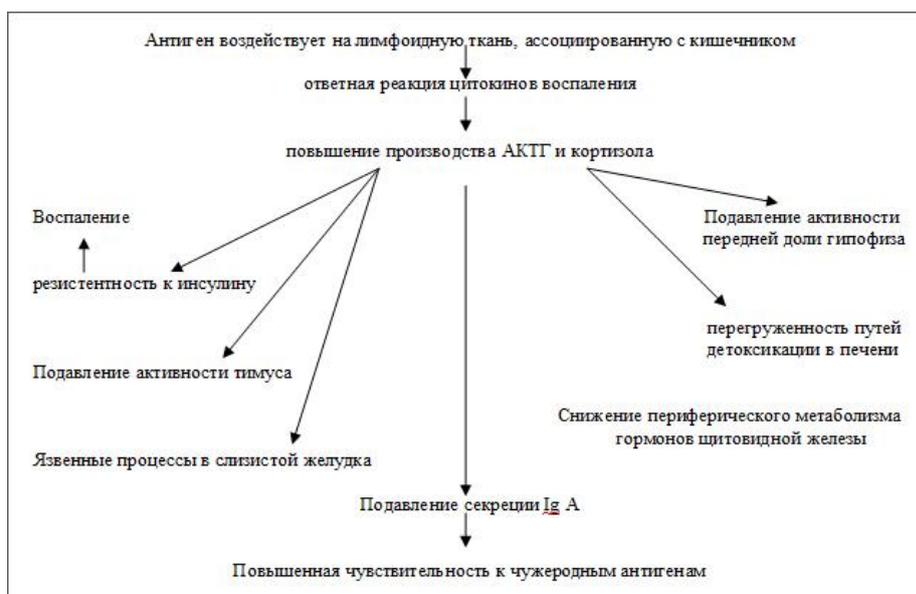


Рисунок 1 – Антиген воздействие на лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником

Это обусловлено тем, что иммунная система кишечника представлена лимфоидной тканью, ассоциированной с кишечником (*gut associated lymphoid tissue*) [95;100]. Она обеспечивает целенаправленный защитный иммунный ответ на действие потенциально патогенных агентов, но в то же время предотвращает избыточный иммунный ответ на действие антигенов, находящихся в просвете кишечника.

С другой стороны, здоровье кишечника и всего организма во многом зависит от состояния микрофлоры. Если микрофлора нарушена, это в конечном итоге приведет к неблагоприятным последствиям: хроническим воспалениям слизистой оболочки кишечника и нарушению ее барьерных функций, развитию дивертикулита, поносов за счет нарушения всасывания жиров. В некоторых

случаях дисбаланс микрофлоры кишечника повышает вероятность развития опухолевых заболеваний за счет снижения функции иммунной системы. Условно-патогенные и патогенные бактерии способствуют превращению веществ из группы желчных кислот в канцерогены, (о чем указывают некоторые авторы в своих статьях при проведении исследований с *Escherichia coli*), повышающие риск развития опухолевых заболеваний [30].

По мнению Mijaci D. D., Jankovica G. C. (2010) с помощью нутрицевтиков можно повлиять на состав микрофлоры кишечника, которой в последнее время придается большое значение в генезе многих заболеваний, в том числе и заболеваний пищеварительной системы [114]. По мнению таких исследователей, как Осина В. А., Кузьмина Т. Н. (2006), лечебное питание может сыграть большую роль в коррекции нутриционного статуса организма животного с воспалительным заболеванием кишечника, об этом также упоминает в своей работе Hartman C.(2009) [20;100].

Как правило, у животных с нарушенным рационом питания в 68,4% случаев отмечаются признаки белково-энергетической недостаточности в активной стадии заболевания. Также известно, что нарушению мембранного гидролиза в тонкой кишке предшествует дисбиотическим расстройствам. Дефицит энзима приводит к накоплению в полости кишки соответствующего не абсорбируемого вещества и развитию синдрома избыточного роста бактерий с преобладанием анаэробных штаммов [26]. Далее невсасываемые нутриенты в толстой кишке распадаются под действием бактериальных ферментов с образованием органических кислот, влияющих на кишечную перистальтику. Изменение осмолярности и повышенное высвобождение водорода и углекислого газа при бактериальной ферментации нутриентов приводит к развитию основных клинических симптомов кишечной диспепсии и нарушению моторики [39]. Избыточное количество субстратов микробного гидролиза приводит к росту биомассы соответствующих бактерий с возможным нарушением кишечного биоценоза и развитием дисбиоза. В условиях сдвига

физиологического равновесия микрофлоры кишечника снижаются процессы детоксикации эндогенных и экзогенных субстратов, ферментирования и всасывания питательных веществ, что подробно описано в работах Яковлева М.Ю. (1988, 2003) и Cani P.D., Amar J. (2007) [63;64;74].

Важной функцией кишечной микрофлоры является участие ее в кооперации с организмом хозяина в обеспечении адаптационных механизмов, поддерживающих стабильность микросимбиоза [8].

В работе Forchielli M., Walker W., говорится о том, что специфическая сторона участия микроорганизмов заключается в лиганд-рецепторном взаимодействии с эукариотическими клетками, а своеобразие видовых и индивидуальных особенностей организма детерминируются HLA-ассоциированными специфическими лиганд-рецепторными связями, своеобразие которых детерминируется генетически [8;95;100]. Доказано, что бактериальная флора может оказывать различное воздействие на структуру и функции желудочно-кишечного тракта, в том числе на всасывание, ферментацию трудно перевариваемой пищи, секреторную и моторную функции кишечника [26]. В процессе сбраживания углеводов под действием ферментов лактобацилл и бифидобактерий образуются короткоцепочечные жирные кислоты – молочная, уксусная, масляная, пропионовая. Благодаря выработке жирных кислот происходит регуляция pH внутрикишечного содержимого, играющего важную роль в регуляции метаболизма [26;61].

Отмечены различные механизмы модулирующего влияния биоактивных компонентов пищи на ключевые факторы — регуляторы воспаления: симпатическую активность, окислительный стресс, активацию ядерного фактора транскрипции ($NF-kB$), продукцию провоспалительных цитокинов [103].

Изучение поведенческих реакций убедительно демонстрирует, что стресс-обусловленные события и депрессивные состояния способствуют развитию воспалительного ответа благодаря активации вышеперечисленных факторов.

По мнению ряда авторов, таких, как Bierhaus A., Wolf J. (2003), Epel E.S., Blackburn E.H.(2004), Steptoe A. (2007 г.), стрессоры и отрицательные эмоции усиливают симпатическую гиперактивацию, промотируют окислительный стресс в организме, усиливают активацию *NF-kB* и поддерживают уровни продукции провоспалительных цитокинов [71;91;130].

Нутритивный (пищевой) окислительный стресс определяется дисбалансом между прооксидантной нагрузкой и антиоксидантной защитой, что является следствием или избытка оксидативных влияний, или неадекватной нутриент-ассоциированной поддержкой организма. Варьируя профилем пищевого рациона, можно управлять процессом метаболической адаптации не на популяционном, а на персонифицированном генетическом уровне. При этом, учёт данных нутригеномной диагностики совместим с проведением нутриенто-профилактических воздействий на фоне изучения молекулярных механизмов генной экспрессии. Возникающий после приема пищи стресс характеризуется повышенной чувствительностью организма к оксидативному повреждению после приема пищи, насыщенной липидами или углеводами [39;63;64].

Промоция стрессом метаболического ответа на нездоровую или не привычную пищу, способного увеличить частоты нарушений фактического питания, общеизвестна. В одном из исследований было установлено, что поступление в организм насыщенных жирных кислот (на протяжении 1 часа) вызывает подъем уровня триглицеридов, а также их устойчивость содержания в крови на протяжении последующих пяти часов [110;15]. Высокий уровень липидов в организме после приема пищи ассоциируется с сахарным диабетом 2-го типа, метаболическим синдромом, избыточной массой тела, а также повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [110;15]. Высокожирная пища и триглицеридемия индуцируют повышение уровня провоспалительных факторов, таких как *IL-6* и С-реактивный белок, на фоне усиления окислительного стресса и симпатической гиперактивации, что приводит к развитию дисметаболизма, а также к промоции эндотелиальной

дисфункции и атерогенеза [15;89]. Постпрандиальная липемия (т.е. возникающая после приема пищи) может сопровождаться накоплением атерогенных липопротеинов, о чем пишут в своей статье Bansal S., Buring J.E. et al. [94]. В целом, изучение механизмов нутрицевтического воздействия свидетельствует, с одной стороны, о том, что многие биологические компоненты пищи способны модулировать функционирование ключевых регуляторов воспалительного ответа, включая симпатическую и вагусную активность, окислительный стресс, фактор ядерной транскрипции *NF-kB* и провоспалительные цитокины. С другой стороны, исследование поведенческих реакций показывает, что стресс-обусловленные события и депрессивные реакции способствуют развитию воспаления, благодаря кооперативным взаимоотношениям с этими состояниями. Стресс усиливает неустойчивость к адаптации метаболического ответа на несбалансированное питание; дисбаланс пищевого рациона вызывает неадекватное настроение и модифицирует выраженность ответных поведенческих реакций на стрессирование [16]. Из-за сложности механизма вагусного контроля регуляции процессов переваривания, всасывания и метаболизма нутриентов пищи, активация *n. vagus* часто сопровождается неконтролируемыми негативными эффектами обмена в ответ на депрессивные и стрессовые влияния, проявляющиеся в виде кооперативных влияний ЦНС и органов желудочно-кишечного тракта. Так, употребление омега-3 полиненасыщенных жирных кислот улучшает настроение и оптимизирует тонус *n. vagus*, деформируя активацию *NF-kB* и отклик на эндотоксические влияния, модулируя степень выраженности воспалительного ответа на психоэмоциональный стресс [16;103].

В отечественной и иностранной литературе отмечается, что когда ветеринарный врач не в состоянии повлиять на то или заболевание, обусловленное генетической предрасположенностью к его развитию, особенно если оно связано с метаболическими нарушениями, то ему приходится использовать для профилактики и лечения данной патологии в первую очередь

коррекцию со стороны факторов окружающей среды. На основании всего выше сказанного можно сделать вывод о том, что самый доступный и простой способ коррекции — правильный подбор рациона питания. Часто при осмотре собак в период стресса ветеринарным врачом отмечаются такие клинические признаки, как

- избыточное выпадение шерсти (шерсть ломкая, сухая, без блеска),
- разнообразные выделения из глаз,
- повышенное количество секрета в ушных раковинах,
- налет на языке (от светло-серого до белого цвета),
- нарушение ритмичности опорожнения кишечника (запоры, поносы),
- нарушение аппетита (от полного его отсутствия до чрезмерного или извращенного).

Перечисленные выше признаки, даже в отсутствие дополнительных симптомов можно считать клиническими, т. е. подтверждающими наличие скрытого заболевания организма как единой системы. При своевременном устранении влияния стресс фактора, изменении рациона, сбалансированности его по основным показателям, и (при необходимости) увеличении физических нагрузок, можно добиться выздоровления животного даже без применения медикаментозного лечения. Однако, в большинстве случаев, врачам приходится сталкиваться с хроническими, вялотекущими процессами, требующими более серьезного подхода, поэтому применение одного лишь сбалансированного питания на фоне стресса не всегда достаточно, поэтому ветврачи рекомендуют включать в рацион натуральные препараты, повышающие резистентность организма. Также следует принять во внимание и то, что такие диагностические критерии метаболических нарушений, как гиперхолестеринемия и гипертриглицеридемия, хотя и не всегда могут иметь яркое клиническое проявление, однако могут привести к развитию болезней сердечно-сосудистой системы, а в дальнейшем к инфарктам и даже инсультам [10]. Именно поэтому так важно учитывать и корректировать все субклиническим признаки, которые

связанны с метаболическими нарушениями так же, как и клинические проявления. В качестве препаратов, корректирующих эти состояния в некоторых иностранных литературных источниках рекомендуется применять такие группы лекарственных средств, как пробиотики и антиоксиданты (о чем пишут в своей работе Isolauri E., Sutas Y., Kankaanpaa P., 2001 г.). Рекомендуют также использовать препараты центрального действия для лечения ожирения — это симпатомиметики, которые ингибируют обратный захват серотонина и норадреналина, что в свою очередь приводит к снижению чувства голода, развитию чувства насыщения и уменьшению количества потребляемой пищи [10;24;129]. Некоторые из авторов статей предлагают использовать для устранения дислипидемии витамины, к примеру, никотиновую кислоту [24;75]. В то время как при лечении артериальной гипертензии назначают диуретики [10;96].

Что касается пробиотических препаратов, то они стали использоваться в современной медицине и ветеринарии, совсем недавно и в настоящее время хорошо известны, так как практически не имеют побочных эффектов, не обладают токсичностью и сравнительно дешевы. При исследовании пробиотиков австралийские ученые пришли к заключению о положительном их действии на организм животных при терапии диарейных заболеваний, особенно если они вызваны применением антибиотиков, язвенной болезни желудка, обусловленной бактерией *Helicobacter pylori*, для профилактики системных инфекций после оперативных вмешательств, а также при лечении разнообразных воспалительных заболеваний органов пищеварения [10;121]. В некоторых литературных источниках подчеркивается важная роль пробиотических препаратов в поддержании оптимальных пропорций тела, так как от работы кишечника во многом зависит правильная переработка и эвакуация пищи [121]. Важная роль отводится пробиотикам при лечении и профилактике атопических болезней вызванных пищевым стрессом [68]. Часто развитие патогенной микрофлоры обуславливает различные аутоиммунные

реакции, вызывающие поражение островковых клеток, что в свою очередь ведёт к хроническому панкреатиту [75]. Этот патогенетический механизм отмечается авторами, как один из самых важных в возникновении диабета у собак. Было установлено, что аутоиммунные реакции, наиболее трудно поддающийся контролю, уменьшают своё проявление под действием пробиотической терапии, так как пробиотики способны усиливать такие гуморальные факторы защиты организма, как фагоцитоз, они снижают аллергические проявления в организме, в том числе аутоиммунного характера. Наиболее подробно это описано в работах Corthesy B., Gaskins H.R. (2007) и Gill H.S., Guarner F. (2004) [10;97;78].

Таким образом, пробиотики способствуют снижению риска образования опухолей, лучшему усвоению лактозы, повышают гуморальный иммунитет организма. Учёные из Швейцарии и Финляндии установили положительное действие пробиотиков на иммунную систему за счет активизации иммуноглобулинового ответа при внедрении болезнетворных микроорганизмов, так как защитный барьер кишечника является одним из важных звеньев защитных механизмов организма [69;70]. При изучении влияния пробиотиков на иммунокомпетентные клетки, авторы приходят к заключению о том, что активизация Т-клеток усиливает секрецию провоспалительных цитокинов (интерлейкинов, интерферона, фактор некроза опухолей-альфа и т.д.). Таким образом, применение пробиотиков в качестве терапевтических препаратов оказывает на организм животных высокий положительный эффект. Это открывает перспективы применения пробиотических препаратов для профилактики и лечения большого числа различных заболеваний, в том числе связанных с метаболическими нарушениями [10]. Так, по данным некоторых ученых для снижения холестерина крови можно применять пробиотики на основе лактобактерий *L.acidophilus* и *L.bulgaricus*, бифидобактерии *B.longum* и энтерококков [10;15;89;110]. Снижение уровня холестерина и триглицеридов плазмы крови

при приеме пробиотиков в той или иной мере отмечает большинство авторов, однако во многих случаях, как показывают их данные, снижение уровня липидов после окончания приема данных препаратов оказывается нестойким. Примерно через 2-4 месяца после окончания приема пробиотика значения указанных показателей крови снова начинали расти. На основании полученных данных, ученые делают выводы, о том, что регулярный прием кисломолочных продуктов, содержащих пробиотические микроорганизмы, даёт возможность предупреждать развитие метаболически обусловленных отклонений [110]. А так как большинство проявлений метаболических нарушений обратимы на некоторых стадиях, исключая, конечно такие формы, как инсулинозависимый диабет, то за счет снижения уровня холестерина и триглицеридов в крови можно снизить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Что даёт нам возможность фармакокоррекции метаболически обусловленных нарушений ещё на субклиническом уровне их проявления у домашних животных. Но к сожалению, в отечественных литературных источниках отсутствуют публикации о распространённости и способах фармакокоррекции метаболически обусловленных нарушений у домашних животных, что, на наш взгляд, делает достаточно актуальными исследования проводимые в данной области [10]. В тоже время, следует учитывать, что при тяжелых формах метаболических нарушений, вызванных изменением динамики ферментативной активности кишечного микробиоценоза собак традиционные пробиотические препараты на основе бифидо- и лактобактерий не всегда справляются с поставленной задачей. Причиной чего является слабая конкурентная активность молочнокислых бактерий по отношению к патогенной микрофлоре кишечника. В последнее время накоплены данные по пробиотической активности некоторых представителей спорообразующих бактерий [37;62;63;113]. Пробиотические свойства споровых бактерий, затрагивая процессы пищеварения, могут приводить к нормализации внутренних процессов и функций макроорганизма: разрушать тромбы, токсические

продукты (афлотоксины и т.д.) и аллергены, уменьшать и предупреждать образование холестериновых мицелл за счет расщепления жиров [43].

1.6. Пробиотики и их роль в поддержании гомеостаза организма при алиментарно-зависимых заболеваниях у служебных собак

Одной из важнейших задач кинологических школ на сегодняшний день является обеспечение достижения максимального результата собак за счет рационального использования их собственных ресурсов организма при максимально возможной скорости восстановления после предельных физических нагрузок. Для решения этой задачи в настоящее время необходима разработка и своевременное внедрение специализированной продукции на основе последних достижений современной биологической науки. Одной из перспективных групп такой «наукоемкой» продукции для животных являются специализированные продукты на основе пробиотиков. Пробиотики в современном понимании – это бактериальные продукты из живых микробных культур, предназначенные для коррекции микрофлоры хозяина, восстановления и оптимизации метаболических процессов, а также профилактики и лечения целого ряда заболеваний.

Крайне важно, чтобы продукты такого типа не только оказывали влияние на нормализацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта (прямые пробиотические функции), но и обладали выраженным положительным действием на жизненно важные метаболические процессы организма (за счет биологически активных соединений, продуцируемых входящими в состав таких препаратов микроорганизмами), способствуя тем самым увеличению эффективности использования ресурсов организма животных, повышению скорости восстановления после физических нагрузок и профилактике метаболически обусловленных заболеваний [36;43].

Поиски адаптогенных препаратов постоянно ведутся, однако большинство исследователей отмечает, что применение препаратов выступающих в этом качестве не всегда эффективно, т.к. их воздействие может проявляться как торможение уже проявившихся нарушений обмена веществ, но не приводит к их исправлению [73]. Именно поэтому достаточно интересным является применение в качестве таковых компонентов - пробиотических продуктов, обладающих более широким спектром положительных воздействия на организм. Согласно имеющимся на сегодняшний день научным данным, пробиотики способствуют восстановлению нормальной микрофлоры ЖКТ, улучшают пищеварение и препятствуют развитию в кишечном тракте патогенной микрофлоры, некоторые пробиотические штаммы обладают выраженным иммуно- и гемокорригирующим действием (в том числе способностью стимулировать восстановление лейкоцитарного состава крови и повышение фагоцитарной и метаболической активности лейкоцитов после противоопухолевой химиотерапии), способностью сокращать время созревания и увеличивать пул антителопродуцирующих клеток, одновременно повышая активность и эффективность антителопродукции В-лимфоцитами [11;34;36;61;57;78]. Бактерии, входящие в их состав продуцируют целый ряд аминокислот, в том числе и незаменимых, витаминов, а также ферментов, тем самым влияя и на ферментативную активность кишечника и качество переваривания пищи. Имеются данные о выраженном гепатопротекторном и гепатокорригирующем действии (в частности получены положительные результаты применения препарата в терапии печеночной недостаточности, холестатического синдромов, а также в терапии острых вирусных гепатитов) [36;108]. Гистологические исследования на фоне приема препарата показали активизацию процесса митоза здоровых гепатоцитов. Согласно имеющимся данным, у собак получавших пробиотики снизилось время на восстановление организма, после тяжелых физических нагрузок и повысилась резистентность организма к перепадам температуры окружающей среды [62].

Кроме того, есть данные о положительном влиянии пробиотиков на липидный обмен в работах отечественных и иностранных ученых (антиатерогенные изменения липидного профиля плазмы крови и коррекция структуры массы тела) [56;57;68;95]. В регуляции кишечного обмена немаловажное значение имеет ферментативная активность кишечного микробиоценоза, которая нарушается при алиментарно-зависимых заболеваниях или перенесенных стрессовых ситуациях. Так в условиях сдвига физиологического равновесия микрофлоры кишечника снижаются процессы детоксикации эндогенных и экзогенных субстратов, ферментирования и всасывания питательных веществ [34].

Основную массу микробных клеток в толстой кишке составляют в сумме бифидо- и лактобактерии. Количественное доминирование этих микроорганизмов определяет наибольшую значимость их функций для организма собак. Именно эти микроорганизмы взяли на себя основную роль в регуляции процессов пищеварения, всасывания необходимых витаминов и незаменимых аминокислот, а также целого ряда биологически активных соединений, без которых не может обойтись организм животных.

Это объясняется тем, что пищеварительный тракт представляет собой сложную экологическую систему, основанную на взаимодействии различных микроорганизмов и слизистых оболочек макроорганизма. Состав кишечных бактерий биотопов здорового пищеварительного тракта поддерживает свое постоянство, за счет способности микроорганизмов фиксироваться к строго определенным рецепторам эпителиальных клеток слизистой оболочки.

Доказано, что бактериальная флора может оказывать различное воздействие на структуру и функции желудочно-кишечного тракта, в том числе на всасывание, секреторную и моторную функции кишечника [26;39]. Состояние этих функций через механизм обратной связи, в свою очередь, влияет на состав микрофлоры.

К примеру, дисбактериоз кишечника у больных целиакией обусловлен отсутствием или уменьшением количества бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, а также наличием ассоциаций условно патогенной микрофлоры [26]. Одной из причин кишечной диспепсии и нарушения моторики при целиакии является не только количественный состав микрофлоры, но и снижение ее метаболической активности, в результате которой нарушается выработка эндогенной молочной кислоты, короткоцепочечных жирных кислот и т.д. [29]. Дисбиоз и снижение моторики желудочно-кишечного тракта поддерживают развитие друг друга, при этом нарушения моторики желудочно-кишечного тракта могут быть как следствием, так и причиной развития дисбиоза.

По современным представлениям, основную роль в поддержании нормального физиологического состояния микрофлоры кишечника играют бактерии семейств *Lactobacillus* и *Bifidobacteria*, важной характеристикой которых служит сахаролитический тип метаболизма [61]. В процессе сбраживания углеводов под действием ферментов лактобацилл и бифидобактерий образуются короткоцепочечные жирные кислоты – молочная, уксусная, масляная, пропионовая. Благодаря выработке жирных кислот происходит регуляция *pH* внутрикишечного содержимого, они играют важную роль в регуляции метаболизма, а также участвуют в деконъюгации желчных кислот [25;61]. Питание микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт животных, обеспечивается за счет пребиотиков – нутриентов, которые не перевариваются собственными ферментативными системами желудочно-кишечного тракта и не всасываются в тонкой кишке [26]. Кроме того симбионтная микрофлора образует в кишечнике животных короткоцепочечные жирные кислоты, такие как масляная и пропионовая, которые участвуют в регуляции моторной функции толстой кишки и ответственны за поддержание функционального состояния ее слизистой оболочки. Масляная кислота (бутират) является одним из основных источников энергообеспечения

кишечного эпителия и оказывает также противовоспалительное и антипролиферативное действие [26]. Пропионовая кислота регулирует микроциркуляцию в слизистой оболочке кишечника, обладает противомикробным действием и участвует в процессах глюконеогенеза и синтезе биогенных аминов в печени. На основании всего выше сказанного вполне очевидно, почему в настоящее время проявляют большой интерес к пробиотическим штаммам бактерий. Актуальным является изучение их свойств с целью создания биологических препаратов, способных регулировать микробиоценоз кишечника и, таким образом, способствовать восстановлению функций желудочно-кишечного тракта при неправильном питании, пищевой аллергии и стрессах. Вместе с тем, единого подхода к решению данной проблемы в настоящее время нет. Поэтому данное направление заслуживает особого внимания и дальнейшего исследования, что отмечают многие исследователи в своих работах [34;37;43;57;78;108;121].

1.7. Характеристика основных видов пробиотических бактерий применяемых в ветеринарии

В микробиологической практике в качестве пробиотических штаммов применяют молочнокислые бактерии, к примеру, представителей семейств *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, однако сегодня в связи со слабой конкурентной активностью молочнокислых бактерий по отношению к патогенной микрофлоре, в качестве пробиотиков все чаще используют различные виды и штаммы споровых бактерий, в особенности из рода *Bacillus*. Они обладают большей конкурентоспособностью в отношении большинства патогенных штаммов бактерий, являясь «самоэмилинирующимися антагонистами» [37;43;113]. Некоторые представители обширной группы спорообразующих бактерий – *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus* своим присутствием способны предотвращать кишечные расстройства, и порой даже в

большей степени, чем традиционные пробиотики на основе лакто- и бифидобактерий.

Авторы отмечают весьма высокую антагонистическую активность споровых пробиотиков в отношении стафилококков, энтерококков и дрожжей – качество, отличающее их от пробиотиков на основе лакто- и бифидобактерий [37;43;47]. Протеолитические, пектинолитические, липолитические и целлюлолитические способности бактерий рода *Bacillus*, затрагивая процессы пищеварения, могут приводить к нормализации внутренних процессов и функций макроорганизма – разрушать тромбы и гепарин, токсические продукты и аллергены, уменьшать образование холестерина мицелл [57].

Род *Bacillus* широко распространен в окружающей среде, образует споры. *B. subtilis* (сенная палочка) - аэроб, растет и размножается при доступе молекулярного кислорода [43]. Относится к транзитным (проходящим с кормовыми массами) просветным микроорганизмам. Эти бактерии продуцируют большое количество антибиотических и других веществ, подавляющих рост многих условно-патогенных микроорганизмов. Количество антибиотиков, продуцируемых аэробными спорообразующими бактериями рода *Bacillus*, приближается к 200, а видом *B.subtilis* – около 70 (выделено и описано к настоящему времени). *B.subtilis* используют в промышленности при производстве антибиотиков класса полимиксинов (с бактерицидным действием в отношении грамотрицательных бактерий). Имеют выраженные ферментативные свойства, улучшают переваримость корма. В качестве пробиотических штаммов применяют *B.coagulans*, *B.subtilis*, *B. clausii*, *B.cereus*, *B. toyoi*, *B. lichemiformis*, *B. mesentericus*, *B. polymyxa* и т.д. [37;47;113;120]. Часто обладая антагонистическим эффектом к патогенным микроорганизмам, они продуцируют целый ряд ферментов, лизирующих крахмал, пектины, целлюлозу, жиры, белки, производят различные аминокислоты. На востоке вошло в традицию использование бацилл при ферментации некоторых продуктов питания. Например, при помощи штамма *Bacillus subtilis (natto)*

готовят национальное японское блюдо «Нагто» - специальным образом ферментированные бобы [43].

В настоящее время в лаборатории центра биомедицинских технологий ЮФУ ведутся работы по созданию пробиотических продуктов на основе бактерий, иммобилизованных в виде биопленок [43]. Ранее было показано, что параметры роста штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 в условиях твердофазной и жидкофазной ферментации практически не отличаются, в то время как деградация культур, выросших на твердых субстратах, идет значительно медленнее [43]. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что использование соевых питательных субстратов (при твердофазной ферментации) в комплексе с экономичными технологиями твердофазного культивирования может стать основой создания технологий производства пробиотических продуктов [120].

На основе вышеназванного штамма была создана пищевая добавка, исследованная на целом ряде объектов. Для оценки возможного негативного действия пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, в качестве тест-объектов были выбраны аквариумные рыбы двух видов: пецилия (преимущественно питаются растительным кормом) и суматранский барбус (питается кормами животного происхождения). В кишечной микрофлоре опытных образцов после приема пробиотического продукта, преобладали микроорганизмы, входящие в состав данного пробиотического продукта. В течение всего опыта смертности не наблюдалось, физиологические реакции на раздражители в опыте и контроле не различались. Прирост сухой массы пецилий в опыте по сравнению с контролем составил – 60%; суматранских барбусов – 50% [43]. Дальнейшие исследования были проведены на домашней птице и собаках, так же показавшие положительный эффект [41;62].

Таким образом, высокая эффективность пробиотического продукта на основе *B.subtilis* отмечалась на самых разных объектах, что позволяет

надеяться, что в будущем он будет применен для лечения и профилактики заболеваний животных.

1.8. Механизмы эндокринной регуляции метаболических процессов в организме животных

В формировании биохимических механизмов регуляции и компенсации при различных экстремальных факторах, воздействующих на организм, именно эндокринной системе отводят одну из ведущих ролей. Совместно с нервной системой, эндокринная система обуславливает фазность и выраженность протекания реакций адаптиогенеза [9;12]. В большинстве случаев, однократное или кратковременное воздействие на организм стресс-факторов, не приводит к нарушению функционирования систем организма, это возможно за счет действия компенсаторных механизмов, в то же время длительные и многократные стресс-факторы могут стать основой стресс индуцированного развития патологии связанной с нарушением биохимических процессов (затрагивающих пластический или энергетический обмена) на клеточном, тканевом и организменном уровне.

Стресс-реакция осуществляется с помощью взаимозависимых изменений, обусловленных продуцированием медиаторов и гормонов. Именно эндокринной системе в регуляции биохимических процессов в организме отводится одна из главенствующих ролей. Нарушение в работе, какого либо из звеньев гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси регуляции может привести к сбою процесса глюконеогенеза, липолиза, а также тяжелому течению инфекций. Стрессовую реакцию могут вызвать у собаки некоторые пищевые продукты (причем вовсе не обязательно те, которые вызывают аллергическую реакцию) [40]. В частности, нарушение пищеварения, вызванное резкой сменой пищевого рациона или вовсе не полноценное питание, может привести к увеличению проницаемости стенок кишечника

животного, в результате чего в кровяное русло будут попадать не переваренные пищевые фрагменты, токсины, а в случае дисбиотических нарушений в кишечнике и патогенные микроорганизмы [40]. В результате чего, по мнению Edgsona V., Marbera Y. (1999) разовьется местная иммунная реакция, что, в конечном итоге, приведет к возрастанию нагрузки на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему регуляции [83]. В ответ на стресс надпочечники будут выделять больше кортизола в кровь, избыток которого, также может привести к нарушению пищеварения и ослаблению иммунной защиты организма. В тоже время гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система регуляции отвечает за долговременные состояния организма, такие как долговременный стресс и готовность к стрессу. Основная функция гормонов надпочечников, а именно, глюкокортикоидов заключается в обеспечении устойчивости к стрессу, противовоспалительное действие, стимуляция глюконеогенеза, обеспечивающего организм глюкозой в случае длительного голодания, стимуляция липолиза (для обеспечения глюконеогенеза из липидов, а следовательно и экономия глюкозы). Согласно классической концепции Г. Селье, стресс-реакция в организме развивается по следующей схеме: гипоталамус - гипофиз - секреция АКТГ - усиление активности секреции коры надпочечников (рис.2.).

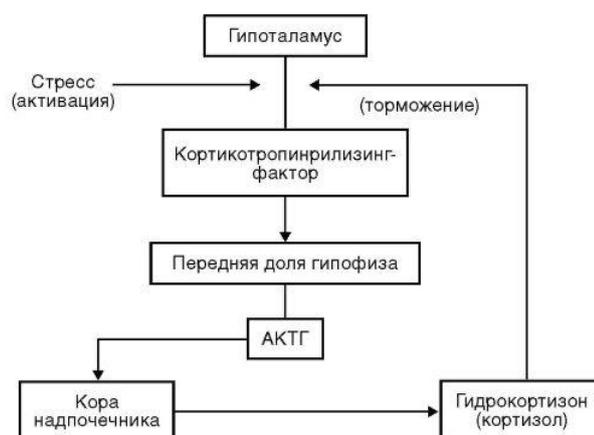


Рисунок 2 – Схема гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси регуляции системы гомеостаза (vmede.org)

При стрессе особое значение играют нейропептиды и кортиколиберины, которые, действуя на переднюю часть гипофиза, стимулируют секрецию другого пептидного гормона – кортикотропина, или АКТГ (адренкортикотропного гормона). Кортикотропин, в свою очередь, стимулирует кору надпочечников, вырабатывающую гормоны иной химической природы - кортикостероиды, под воздействием которых в организме развивается стресс-реакция. Кортикостероиды, легко проникая в головной мозг, тормозят секрецию кортиколиберина гипоталамусом по механизму отрицательной обратной связи, что приводит к затуханию стресс-реакции. Без АКТГ надпочечники вырабатывают недостаточное количество жизненно важного гормона, гидрокортизона (кортизола), и теряют способность усиливать при необходимости его секрецию. Вот почему при недостаточности функции гипофиза животные становятся особо чувствительны к нагрузкам и стрессам. Напротив, избыточная секреция АКТГ, например, при аденоме, или при злокачественных опухолях гипофиза, приводит к развитию тяжелого заболевания - синдрома Кушинга. Чаще всего оно выявляется у взрослых такс, карликовых пуделей и боксеров.

Как известно, в коре надпочечников синтезируются три группы гормонов: глюкокортикоиды (гидрокортизон и кортикостерон), минералокортикоиды (альдостерон и дезоксикортикостерон) и андрогены (половые стероиды), из последних важнейшим при стрессе считается дегидроэпиандростерон (ДГЭА).

Во время стресса кора надпочечников перестает секретировать ДГЭА и переключается на кортизол. В самых острых случаях, вызванных продолжительным стрессом, надпочечники снижают секрецию как ДГЭА, так и кортизола. Такое состояние называется недостаточностью коры надпочечников.

Также в настоящее время известно, что в ЦНС (в нейронах неокортекса, гиппокампа, мозжечка и др., а также в астроцитах и олигодендроцитах) и в периферической нервной системе обнаружены рецепторы к глюкокортикоидам [112].

В тоже время сами астроциты головного мозга продуцируют интерлейкин-1, который также регулирует секрецию АКТГ, что описано в работе Khansari D.N., Murgó A.J., Faith R.E. (1990) [106]. Рецепторы к кортикостероидам экспрессированы и на клетках селезенки, тимуса, в том числе на поверхности лимфоцитов, макрофагов и гранулоцитов. Следовательно, процессы миграции и рециркуляции гемопоэтических клеток находятся под контролем гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы.

Действие большинства гуморальных и гормональных факторов и нейротрансмиттеров на ЛГС (лимфогемопоэтическую систему) опосредуется через систему циклических мононуклеотидов. Эти взаимодействия могут иметь важное значение при вирусных инфекциях и других патологических состояниях вызванных стрессом. Так, при вирусных инфекциях наблюдается 10-20-кратный подъем уровня АКТГ и кортикостероидов, при многих инфекционных процессах длительно поддерживается высокий уровень секреции ИЛ-1, стимулирующего выброс глюкокортикоидов. Данное исследование представлено в статье Besedovsky H.O., del Rey A. (1986) [70]. Резко активизируется и вся цитокиновая сеть, что приводит к транзиторной нехватке некоторых важных регуляторных цитокинов. Аналогичные процессы происходят при разных стрессовых воздействиях, что обуславливает ключевую роль биохимических механизмов нейроэндокринной регуляции иммунологического гомеостаза. Такие гормоны, как вазопрессин, окситоцин и катехоламины также способствуют выделению АКТГ. В период стресса для поддержания иммунной системы необходимо равновесие двух гормонов: дегидроэпиандростерона (ДГЭА) и кортизола. В ответ на воздействие стрессорных факторов затрагиваются не только симпатическая нервная система, но и кора надпочечников и гипоталамо-гипофизарно-гипоталамическая ось, что оказывает негативное воздействие на иммунную систему. При стрессе кора надпочечников перестает секретировать ДГЭА и переключается на кортизол. Возникающий в результате дисбаланс оказывает на организм столь же

отрицательное воздействие, как и подавление иммунной системы. В качестве компенсации при продолжительном стрессе секреция кортизола также снижается, что приводит к восстановлению баланса. В другом случае снижение концентрации глюкокортикоидов в крови проявляется признаками снижения переносимости стресса (общая слабость, утомляемость, тяжелым течением инфекций), метаболических нарушений (похуданием, потерей аппетита, гипогликемией) [22;48]. При избыточной секреции глюкокортикоидов часто наблюдаются пептические язвы (особенно желудка). Роль глюкокортикоидных гормонов в возникновении пептических язв в экспериментах на животных подтверждает ulcerогенное действие стероидов.

Известно, что простагландины ингибируют секрецию соляной кислоты в желудке и в эксперименте препятствуют появлению язв, на этом основании можно допустить, что ингибирующий эффект высоких доз глюкокортикоидных гормонов на синтез простагландинов способствует изъязвлению слизистой желудка. При спонтанной или ятрогенной болезни Кушинга могут развиваться панкреатит, перитонит вследствие прободения язвы, а также другие инфекционные процессы, но все без обычных признаков тяжелого воспаления. Это обусловлено противовоспалительным эффектом глюкокортикоидов, которые подавляют болевые сигналы, лихорадку и лейкоцитоз. Большие дозы глюкокортикоидов также могут вызвать состояние, сходное с сахарным диабетом. Глюкокортикоиды ингибируют использование глюкозы и усиливают распад белков в периферических тканях, резко стимулируют глюконеогенез в печени, индуцируют повышение уровня липидов в крови и способствуют отложению жира на туловище. Стресс или суточный ритм стимулирует выработку кортиколиберина и, как следствие АКТГ. По системе обратных связей глюкокортикоиды действуют на гипоталамус и гипофиз, подавляя выработку кортиколиберина и АКТГ [22].

Нарушения в работе гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системе регуляции, также могут привести к сложным метаболическим расстройствам,

таким как, нарушение роста и развития организма, т.к. основной механизм действия тиреоидных гормонов – повышение экспрессии множества генов, а следовательно и синтеза белков (рис.3.) [22].

Гормоны щитовидной железы отвечают за процессы акклиматизации и терморегуляции организма, что обусловлено их стимулирующим действием на метаболические процессы. В частности: ускорение обмена липидов и углеводов, моторику ЖКТ. Выработка тиреоидных гормонов относительно постоянная, стрессорные факторы влияют на выработку тиреоидных гормонов (повышая их концентрацию), повышая секрецию тиролиберина и, как следствие ТТГ (повышая адаптацию, акклиматизацию). Тиреоидные гормоны в свою очередь по принципу отрицательной обратной связи действуют на гипофиз, подавляя выработку ТТГ (рис.3.). Нарушение выработки тиреоидных гормонов приводит к нарушению метаболизма (снижение: утомляемость, заторможенность, непереносимость холода, а избыток: повышение метаболизма, возбудимость). За выработку тиреоидных гормонов отвечает щитовидная железа (ЩЖ). Эффекты острого стресса на функцию ЩЖ определяются, в первую очередь, продолжительностью стрессорного

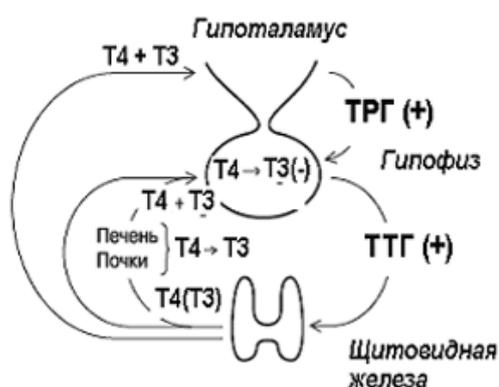


Рисунок 3 – Схема прямых и обратных связей работы гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы регуляции гомеостаза (юнимадао.рф)

воздействия, и характеризуются двухфазностью [5;28].

Эксперименты на крысах показывают, что после 2-минутной иммобилизации у крыс отмечено повышение в крови содержания гормонов щитовидной железы, таких как, Т4 и Т3, при более продолжительном воздействии (5-240 минут) уровень тиреоидных гормонов или только Т3 снижается

[88]. Результаты данного исследования представлены в работе Helmreich D.L.,

Parffit D.V. et.al. (2005) и Надольник Л.И. (2010) [28;116]. Наряду со снижением содержания Т3 обнаружено повышение в сыворотке концентрации rТ3, отсутствие изменения уровня Т4 на фоне снижения концентрации тиреотропного гормона (ТТГ) [126]. После 30-минутной иммобилизации не обнаружено изменения уровня тиреоидных гормонов у половозрелых и неполовозрелых самцов крыс в различное время суток, как и после плавания в холодной воде [28;87;90]. Как установили некоторые авторы, хирургический стресс не оказывает столь сильного влияния на уровень тиреоидных гормонов в крови и не влиял на метаболизм Т4 в ткани печени, почек и мозга [101]. В тоже время однократное введение стрессорных доз экзогенных глюкокортикоидов оказывает выраженный супрессивный эффект на уровень тиреоидных гормонов в крови [80]. Дексаметазон также снижает концентрации Т4 и Т3, но повышает уровень реверсивного Т3 (rТ3) в крови беременных овец; у плодов отмечено повышение уровня Т3 и rТ3, но не Т4 [28;81]. У 18-дневных эмбрионов цыплят введение дексаметазона и кортикостерона повышает содержание в крови Т3 и индуцирует снижение Т4 и rТ3, как отмечают авторы [117]. Эффекты многократно повторяющегося и хронического стресса на функцию ЩЖ во многом согласуются с эффектами острого стресса и характеризуются разнонаправленностью в отношении изменения уровней Т4 и Т3 в крови. В одном из экспериментов ученых было установлено, что 60-дневный не избегаемый стресс индуцирует у самцов крыс повышение концентрации Т3 и снижение Т4 [118], при хроническом стрессе было отмечено снижение концентрации Т3 и Т4 [28;77].

Содержание животных в условиях не избегаемого, в отличие от избегаемого стресса, при воздействии пролонгированным интенсивным стрессом может стать причиной снижения уровня Т3, что показано авторами с использованием морфометрических и биохимических методов анализа [27;28;125]. Активация функции ЩЖ (повышение концентрации Т4) отмечалась после ежедневной одночасовой иммобилизации котиков в течение 7

суток [66], мягкого хронического стресса у крыс линий *Sprague-Dawley* и *Wistar* (повышение содержания общего Т4 и Т3 в сыворотке) [88], длительной транспортировки самцов крупного рогатого скота (увеличение содержания общих и свободных йодтиронинов [28;84]).

Хронический стресс в течение беременности у крыс вызывает разнонаправленные изменения функции ЩЖ: снижение у матери и повышение тиреоидного статуса у потомства, что было описано в статье Алиевой М.Г., Ржаевой Л.В. и др. (1987) [3]. В исследованиях Servatiusa R.J. и др. показано, что экзогенные глюкокортикоиды (введение 1 мл раствора, содержащего 10 мг/л кортикостерона) снижают уровень Т4, тогда как эндогенные (2-часовой стресс в течение 7 дней) стойко не изменяли уровень тиреоидных гормонов у крыс [129]. В более поздней работе Helmreicha D.L., Parffita D.B. (2005) было установлено, что следствием 14-дневного не избегаемого стресса у крыс является снижение сывороточных Т4 и Т3, отсутствие изменений в уровне мРНК ТРГ в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса, повышение уровня мРНК регуляторного белка агути гипоталамуса (*agouti-related protein, AGRP*) [28;116]. Некоторые авторы работ утверждают, что у исследуемых больных животных после тяжёлых внутрибрюшинных операций зарегистрировано снижение общего и свободного Т3, повышение rТ3, свободного Т4 и ТТГ, также отмечается нарушение связывания Т4 с плазменными белками [86], но отсутствует корреляция между изменением уровня тиреоидных гормонов и ТТГ. В пост-травматический период у пациентов с серьёзными травмами отмечено нарушение периферической конверсии Т4 и Т3, с повышением продукции неактивного rТ3 [85], дисрегуляция ГГА- и ГГТ-осей; снижение уровней кортизола, пролактина и ТТГ в сыворотке крови [102].

В условиях психологического стресса с тревожно-депрессивным синдромом и бессонницей отмечается развитие гипотиреоза [123], о чём свидетельствует снижение концентрации ТТГ и тиреоидных гормонов (общий Т4, свободный Т4, общий Т3 и rТ3). Однако это состояние не

диагностировалось другими клиническими исследованиями, не коррелировало с тяжестью психиатрических диагнозов. По мнению авторов, снижение тиреоидного статуса в данном случае является отражением тяжести хронического стресса, механизм которого требует дальнейшего изучения. Эффекты стресса на ГГТ-ось исследованы не только у млекопитающих. Тиреоидный статус различался у аистов, проживающих на чистых и загрязнённых тяжёлыми металлами территориях [65], снижался при иммобилизации у домашних петушков (рыб) [135]. В условиях гипоксии у особей тритона (*Triturus carnifex*) (земноводные) значительно возрастает концентрация ТТГ, тогда как уровни Т4 и Т3 снижаются [134]; у самок черепах кортикостерон, адреналин, норадреналин и инсулин ингибировали функцию щитовидной железы [108]. У рыб (*Oreochromis niloticus*) снижение Т3 в крови после введения дексаметазона обусловлено снижением дейодирования в печени, но изменения активности дейодиназ в почках и мозге не было обнаружено [28; 104; 127].

Данные проведённых исследований свидетельствуют, что многократно повторяющийся или хронический стресс может значительно изменить тиреоидный статус организма [28].

Исследование пролактина – гормона, участвующего в стимуляции лактации, показало, что его значение в организме достаточно велико, он участвует почти во всех регуляторных процессах, оказывает синергический или антагонистический эффект на биологически активные вещества, тем самым препятствуя развитию стресс-индуцированных катаболических реакций, опосредованных гиперсекрецией гормонов коры надпочечников. Что касается рецепторов к пролактину, то они имеются в клетках большинства тканей организма [23; 93]. При стрессовом состоянии уровень пролактина значительно увеличивается, снижая катаболический эффект глюкокортикоидов. В тоже время, при продолжающемся воздействии стресс-фактора высокий уровень глюкокортикоидов, интенсивно продуцируемые за счет активации гипоталамо-

гипофизарно-адренокортикальной системы начинает подавлять секрецию пролактина, вплоть до полной её блокировки. В следствие происходит выключение одного из ключевых компенсаторных звеньев с соответствующими предпосылками к развитию стресса. Имеются также доказательства того, что в увеличении секреции пролактина на начальных этапах ответа к стрессовому воздействию является одним из исключительных звеньев действия тироксина совместно с серотонином [23;124].

Глюкокортикоидные гормоны обладают дозозависимым эффектом на уровень пролактина в крови: низкая концентрация кортизола стимулируют освобождение пролактина, а высокая наоборот угнетает. Механизм действия в данном случае обусловлен влиянием глюкокортикоидных гормонов (посредством катехоламинов, у которых активизируются рецепторы к стероидам при стрессе) на дифференцировку лактотрофов гипофиза и соответственно на синтез пролактина. С другой стороны повышение концентрации пролактина усиливает высвобождение кортикотропин-рилизинг фактора гипоталамусом с соответствующим синтезом адренокортикотропного гормона (АКТГ), а в дальнейшем и глюкокортикоидов, которые необходимы для формирования ответа организма на экстремальные воздействия. В научных источниках указывается стимулирующая роль пролактина в продукции кортикостерона путем непосредственного прямого воздействия его на клетки сетчатой зоны коры надпочечников, о чем упоминают в своей работе N. Ohiwa, H. Chang (2007) [23;119]. Поэтому пролактин способен поддерживать определенный сбалансированный уровень основных стресс-гормонов, а именно глюкокортикоидов, что необходимо для процесса адаптации. В тоже время при стрессе во время включения адренокортикального звена рецепторы на клетках Лейдига, где синтезируется тестостерон, как наиболее подверженные действию глюкокортикоидов, блокируются [131]. По мнению Ewena B.S., Wingfielda J.C. (2007), одним из возможных механизмов снижения уровня тестостерона, не связанным с секрецией гонадотропинов, считается сдвиг метаболизма в

сторону катаболических процессов над анаболическими в результате гиперсекреции кортизола [111].

Эстрадиол тоже обладает возможностью оказывать модулирующее действие на секрецию стресс-гормонов. В период стресса именно эстрогены, а не андрогены наиболее реактивны. В настоящее время доказана прямая корреляционная зависимость между уровнем эстрадиола и увеличением уровня кортизола на начальных этапах развития стресса, что является одним из механизмов для реализации нейропротекторного эффекта. При этом повышение уровня эстрадиолов в крови тормозит слишком большой выброс кортизола [23]. Однако дальнейшее воздействие стрессора и соответственно гиперсекреция кортизола блокирует дальнейшую секрецию эстрадиола. Также выявлена аналогичная зависимость секреции других стресс-гормонов от эстрадиола [92;67;69].

Тиреоидные гормоны вызывают в организме многообразные физиологические эффекты. Во-первых, они необходимы для обеспечения процессов роста и развития организма, дифференцировки тканей, регуляции обмена веществ и энергии, поддержания определенного уровня активности функциональных систем организма, развития адаптационных реакций. Но одной из важнейших задач тиреоидных гормонов является их способность оказывать перmissive (разрешающее) действие в отношении чувствительности тканей организма к действию катехоламинов, т.к. Т3 и Т4 повышают чувствительность адренорецепторов к норадреналину и адреналину [23;79]. Состояния, связанные с изменением в активности регуляторных стрессорных систем (при остром или хроническом стрессе, изменение физиологической нагрузки) влияют и на функционирование гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси эндокринной регуляции [105]. В системе краткосрочной адаптации серотонин оказывает ингибирующий эффект на секрецию тиролиберина и тиреотропного гормона (ТТГ), а норадреналин оказывает стимулирующее воздействие. В свою очередь, тиреоидные гормоны

снижают выработку серотонина и норадреналина. С другой стороны, по мнению Tafeta G.E., Bernadini R. (2003) увеличение концентрации АКТГ, активация секреции кортизола (вещества долговременной адаптации) при неблагоприятной ситуации приводят к снижению выработки гормонов щитовидной железы, в частности тироксина [23;132].

Из всего выше сказанного можно сделать вывод, о том, что в патогенезе метаболических нарушений задействованы эндокринные, обменные процессы, а также генетические и средовые факторы [33;55]. Ряд из них – хронический стресс, нарушения пищевого поведения – способствуют формированию гиперреактивности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Состояние гиперреактивности характеризуется повышенной секрецией кортикотропина и кортизола, а также изменением чувствительности к малым дозам кортикотропина и дексаметазона [35;55;72]. Совместное действие всех перечисленных гормонов помогает организму справиться с грядущей опасностью. Имеются данные о сдвигах в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипофизарно-тиреоидной системах при ассоциированном с метаболическим синдромом (МС) состоянии ожирения организма, о чем подробно написано в работах Соколова Е.И., Миронова Е.К. и др. (2008) и Tchernofoa A., Deaspersa A.S. (1995) [35;45;133]. Описываются случаи ожирения и без гормональных нарушений, о чем говорится в статье Мадянова И.В., Кичигина В.А. и др. (2011) [35]. Есть сведения, что при ожирении – важнейшем компоненте метаболическом синдроме – происходит снижение в крови концентрации гормона щитовидной железы – трийодтиронина (Т3), о чем говорится в работе Терещенко И.А. (2000). Ранее даже предпринимались попытки терапии ожирения тиреоидными гормонами [51]. Тем не менее, отдельные авторы указывают на возможность повышения содержания Т3 в крови при ожирении [33].

В связи с этим представляется актуальным изучение биохимических процессов эндокринной регуляции организма в период стресса. Большое

внимание следует в данном случае уделить функциональному состоянию коры надпочечников и щитовидной железы при возникших метаболических нарушениях, посредством изучения динамики концентрации их гормонов в крови животных до и после периода воздействия стресс-факторов [82]. Так как в механизмах регуляции гомеостаза организма для обеспечения адаптации в ответ на стрессорные воздействия любой природы, изменения гормональной секреции представляют собой своеобразный каскад взаимосвязанных реакций.

Нарушение работы в каком-либо звене требует включения резервных возможностей организма. Изучение этих механизмов и их роль в патогенезе вызываемых нарушений – является одной из фундаментальных проблем биомедицинских исследований. Решение этих проблем может способствовать совершенствованию методов профилактики и лечения заболеваний, в развитии которых пищевой фактор играет определенную роль. В тоже время накопление научных данных о возможностях фармакокоррекции постстрессорных состояний нутрицевтиками, а также сама разработка и дополнительное использование препаратов, активирующих адаптацию к действию повреждающих факторов, значительно повысят эффективность основных терапевтических мероприятий при лечении таких животных [23].

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика объекта исследования

Ростовской школой служебно-розыскного собаководства МВД России и Ростовским государственным медицинским университетом проведены исследования по изучению свойств пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, как средства способствующего повышению адаптации организма служебных собак при смене рациона питания и условий содержания [32;41;42;53;62;113], а также специально разработанной фирмой «Royal Canin» высокоэнергетической кормовой добавки «Energy» [53].

Служебные собаки, прибывающие на обучение или новое место несения службы, в период адаптации подвергаются воздействию различных стрессогенных факторов, среди которых транспортировка, смена окружающей обстановки, рациона питания (в том числе переход животных от натурального кормления к кормлению сухим сбалансированным кормом), физическая и эмоциональная нагрузка в начальный период дрессировки. Т.е. начальные период пребывания собак в школе по совокупности стрессогенных факторов во многом воспроизводит ситуации, в которых оказываются служебные собаки при несении службы и которые приводят к снижению работоспособности, иммунитета, ухудшению общего состояния организма животных [36].

Научная работа по теме диссертации проводилась на базе Ростовской школы служебно-розыскного собаководства МВД России. Для исследования было отобрано 96 собак породы немецкая овчарка обоего пола в возрасте 1,5-3 года весом не менее 25-30 кг. По результатам собранных первичных данных и их обработке в дальнейшем для исследования были отобраны только те животные, у которых не было выраженных поведенческих реакций на изменение условий содержания и питания. Эти животные не отказывались от еды, могли тренироваться, не проявляли агрессии и по результатам

ветеринарного обследования были здоровы, т.е. основным стрессогенным фактором у них являлась смена питания и условия содержания.

Таким образом, научная работа была проведена на 86 служебных собаках породы немецкая овчарка.

Для проведения исследования были взяты следующие нутрицевтические добавки: 1) пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895; 2) пищевая добавка для собак «Energy» производства «Royal Canin».

Нутрицевтические добавки взятые для исследования

Пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, разработанный лабораторией биомедицинских исследований ЮФУ был любезно предоставлен нам для проведения научно-исследовательской работы на служебных собаках.

Данный штамм был приобретен лабораторией биомедицинских исследований ЮФУ из Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов ФГУП ГосНИИ Генетика, регистрационный номер в коллекции ВКПМ: В-1895. Штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 относится к микроорганизмами, не патогенным для человека, согласно классификации микроорганизмов, приведенных в Санитарных правилах СП. 1.3.2322-09. Работа со штаммом *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 не требует специальных мер предосторожности.

Штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 был исследован в лаборатории биомедицинских исследований ЮФУ на целом ряде тест-объектов. В кишечной микрофлоре опытных образцов после приема продукта полученного на его основе преобладали микроорганизмы, входящие в состав данного пробиотика. В течение всего опыта смертности не наблюдалось, физиологические реакции на раздражители в опыте и контроле не различались [43].

Было установлено, что данный штамм обладает пробиотическими свойствами, проявляющимися в элиминации условно патогенных и патогенных

микроорганизмов с восстановлением количественного и качественного состава нормальной микрофлоры при экспериментальном дисбиозе.

На основе данного штамма был разработан пробиотический продукт, характеризующийся широким диапазоном лечебно-профилактического действия и экологической безопасностью (т.к. штамм природный). Исследования пробиотического продукта были проведены на молоди прудовых рыб, домашней птице и собаках.

В результате исследований проведенных на молоди прудовых рыб было установлено, что штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 проявляет антагонистическую активность к штаммам *Salmonella* и *Klebsiella*, вытесняя из состава микрофлоры потенциальных возбудителей инфекционных заболеваний [62]. Одновременно прием препарата позволяет значительно повысить темп роста, коэффициент упитанности, массу выращиваемой рыбы, птицы и рыбопродуктивность прудов.

Использование пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 в качестве добавки к корму рыб вошло в стандартную технологию выращивания молоди шемаи. Таким образом, пробиотический продукт разработанный на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 предназначен также для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у рыб, собак, птиц, дерматитов животных («летний кожный зуд» у собак), коррегирования микрофлоры в кишечнике при нарушении процессов пищеварения, связанных с ферментной недостаточностью, для повышения сохранности, улучшения конверсии корма и увеличения привесов животных. Штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 термостабилен в пределах 82-85°C ° в течение 35-15-минут.

Пищевая добавка для собак «Energy» производства «Royal Canin» представляет собой неполнорационный продукт для дополнительного снабжения энергией собак с повышенной физической активностью. Согласно инструкции добавка содержит комплекс витаминов и антиоксидантов, такие как

В5, В6, В1, В12, В2, D3, В3, В7, фолиевая кислота, холин, витамин А, L-карнитин и т.д.

Отличается высоким содержанием короткоцепочечных жирных кислот, которые способствуют быстрому высвобождению большого количества энергии для поддержания у собак активности и хороших рабочих характеристик. Измеренная метаболическая энергия 5080 кКал/кг.

Формирование контрольной и опытных групп животных для исследования

С первых суток пребывания в условиях Ростовской школы служебно-розыскного собаководства всех собак перевели на рацион «*Royal Canin 4300*» из расчета 600 г корма в сутки. После ветеринарного осмотра из всех прибывших было отобрано 86 собак обоего пола в возрасте от 1,5-3 лет, весом 25-30 кг, которые участвовали в эксперименте.

Собаки были разделены на три группы:

1-контрольная группа животных (n=28), содержалась на рационе, состоящим из сухого корма «*Royal Canin 4300*»;

2-группа животных (n=29) получала дополнительно к этому рациону пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* из расчета 1 г на 100 г корма ежедневно 1 раз в сутки в течение 30 дней;

3-группа животных (n=29) получала с кормом пищевую добавку «*Energy*» производства «*Royal Canin*» в количестве 1 упаковки (50 г) в сутки в течение 30 дней.

Пробиотический продукт на основе штамма *B. subtilis* (ВКПМ) В-1895, на момент исследования содержал 3×10^{10} КОЕ/г. Дизайн исследования представлен на рисунке 4.

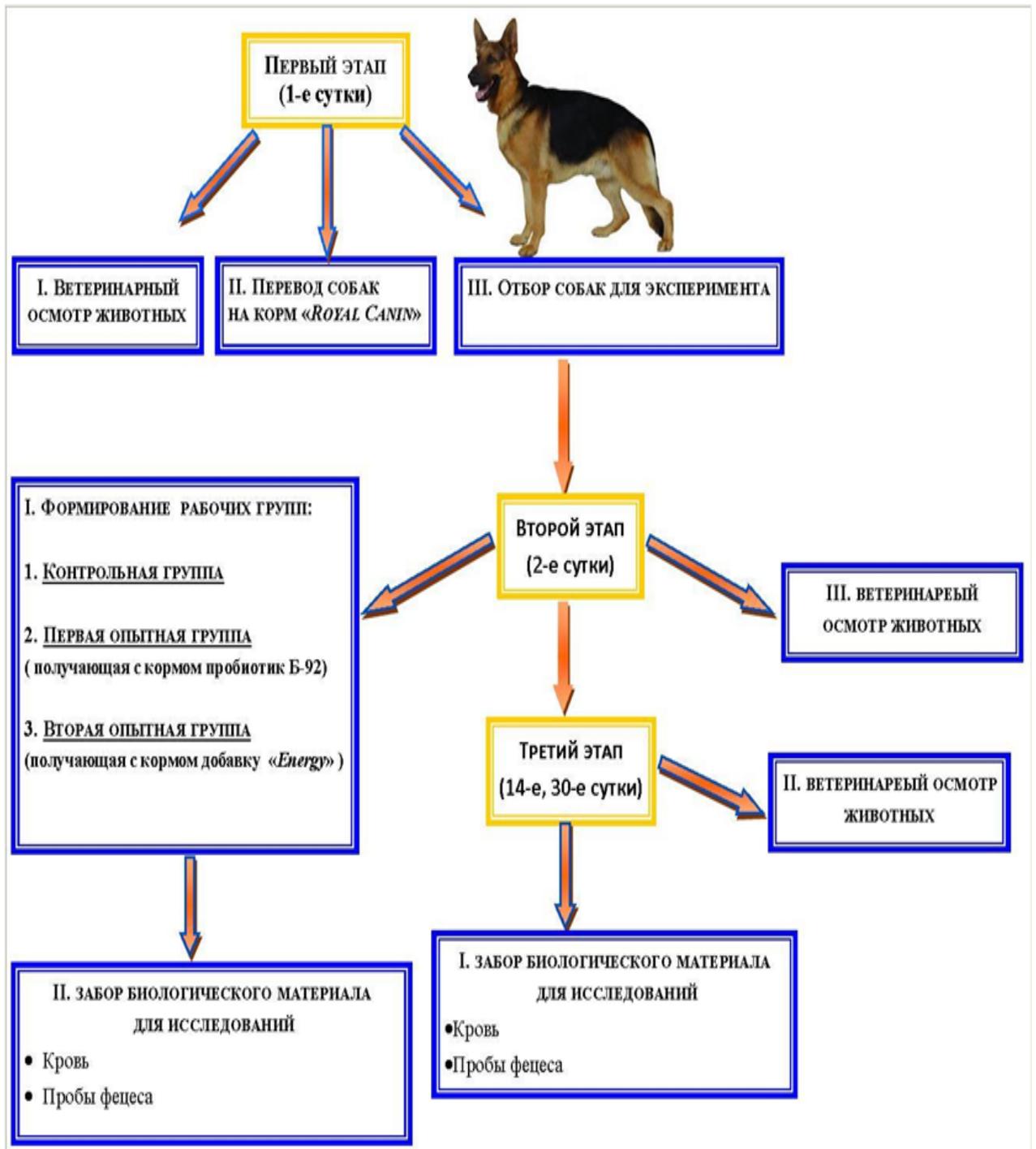


Рисунок 4 – Дизайн исследования

2.2. Получение биологического материала и методы лабораторных исследований

Получение плазмы крови

Кровь у собак брали утром натощак путём венепункции головной (подкожной) вены грудной конечности собаки (*v. cephalica*). При взятии крови соблюдались правила асептики и антисептики. Первые капли венозной крови выпускали на ватный тампон. Затем забор крови производился в вакуумные пробирки (вакутейнер): 1) для биохимических исследований в *BD Vacutainer* с активатором свертывания кремнеземом с последующим центрифугированием (при 3000 оборотах в минуту, 15 минут); 2) для гематологических исследований использовали *BD Vacutainer* с антикоагулянтом *K2 ЭДТА*.

Получение мазков крови для исследования лейкоцитарного профиля

Каплю крови наносили на предметное стекло, затем стекло бeralи в левую руку, а в правую – предметное стекло с шлифовальными краями и сточенными углами. Его узким краем под углом 45° касались капли крови, после чего быстрым движением этого стекла вперед делали тонкий мазок.

Мазок должен быть тонким и располагаться в средней части стекла, не доходя до его боковых сторон и противоположного края. Мазки крови высушивают на воздухе, затем фиксируют и окрашивались по методу Май-Грюнвальд.

Получение образцов фецеса (содержимого толстого кишечника) для микробиологического исследования

Материалом для бактериологических исследований служили пробы, полученные из прямой кишки стерильным ватным тампоном на деревянной палочке.

2.3. Методы лабораторных исследований

Биохимический анализ крови

Исследования крови проводились на иммуноферментном анализаторе-автомате *Biochem Analette*, с использованием диагностических наборов для биохимии фирмы «Human». Были исследованы следующие биохимические показатели крови: общий белок, альбумин, азот мочевины, креатининкиназа, АЛТ, АСТ, глюкоза, амилаза, триглицериды, холестерин, щелочная фосфатаза, общий билирубин. Кровь для исследования бралась на 2, 14 и 30 сутки.

Общий анализ крови

Общий анализ крови проводили с использованием анализатора *Biochem Analette*. При проведении общего анализа крови учитывались следующие показатели: эритроциты, лейкоциты, гематокрит, гемоглобин, гранулоциты и т.д. Исследования крови проводили на 2, 14 и 30 сутки пребывания собак в школе.

Определение содержания гормонов в крови собак (кортизол, ТТГ, Т4).

Для определения уровня гормонов в сыворотке (плазме) крови использовались специальные наборы реагентов для ИФА диагностики: «Кортизол-ИФА» фирмы «Хема», для определения содержания тиреотропного гормона (ТТГ) и тироксина общего (Т4) использовали наборы реагентов «ТТГ-С-ИФА» и «Т4 об-КС-ИФА» для иммуноферментного определения гормонов в сыворотке (плазме) крови собак фирмы «Хема». Исследование плазмы крови на гормоны проводили на иммуноферментном анализаторе *Alisei Q.S. (SEAC, Италия)*.

Микробиологические исследования содержимого толстого кишечника у собак

Образцы содержимого кишечника исследовались на наличие облигатной и факультативной анаэробной и аэробной микрофлоры кишечника. Состав микрофлоры кишечника определяли у каждой собаки индивидуально стандартным методом высева серийных разведений образцов на плотные и

жидкие селективные питательные среды. Микробиологические исследования проводились в соответствии с методическими рекомендациями «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных» №13-5-02/1043. Исследование микрофлоры кишечника собак в группах проводилось на 2 сутки после прибытия собак в школу и через 14 дней.

В стерильных условиях делался ряд последовательных разведений (от 10^{-1} до 10^{-12}) полученных образцов содержимого толстого кишечника собак.

Для выделения микроорганизмов из образцов использовались следующие среды: Агар типа Байрд-Паркера (для выделения стафилококков), среда Блаурокка (для бифидобактерий), среда MRS (для выделения лактобактерий), кровяной агар (для выделения гемолизирующих штаммов), среда Гарро (для выделения стрептококков), среда Вильсон-Блера (для выделения клостридий), среда Эндо (для выделения кишечной палочки), среда Чапека (для выделения грибов). Посевы инкубировались в термостате при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов и при температуре 24°C для грибов в течение 4 суток. Микробиологические исследования проводились в соответствии с методическими рекомендациями «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных», Департамент ветеринарии МСХ РФ, № 13-5-02/1043 от 11.05.2004 г.

Определение лейкоцитарного профиля крови исследуемых собак (лейкоцитарная формула крови)

Дифференциальный подсчет лейкоцитов проводился вручную. В качестве материала для исследования были сделаны препараты крови исследуемых собак.

Подсчет лейкоцитарной формулы проводился в соответствии с методом, описанным в справочнике по клиническим и лабораторным методам исследования. Взятие крови должно производиться в одно и тоже время суток утром, натощак.

Всего должно быть подсчитано 200 клеток. Отметив выбранные места каплей иммерсионного масла, препарат помещают на подвижный столик микроскопа. Подсчет формулы проводился по классическому способу: три поля зрения по краю мазка, три поля зрения под прямым углом в глубь мазка, три поля зрения параллельно краю, три поля зрения под прямым углом по направлению к краю, до набора половины количества подсчитываемых клеток. Вторая половина подсчитывается так же по другому краю мазка. При подсчете и дифференцировке лейкоцитов результат сейчас же фиксируется.

Оценка адаптационного потенциала по лейкоцитарной формуле в соответствии с методикой Гаркави Л.Х., Квакиной Е.В, Уколовой М.А.

Оценка адаптационного потенциала по лейкоцитарной формуле проводилась в соответствии с методикой разработанной коллективом отечественных учёных, а именно Гаркави Л.Х., Квакиной Е.В, Уколовой М.А. (1990) [4;7;8].

В готовых мазках крови собак исследовались форменные элементы крови. По данным авторов, процентное содержание лимфоцитов является достоверным показателем того состояния, в котором находится организм, т.е. определяет тип реакции (тренировка, активация, стресс), а отклонения от нормы процента других элементов формулы крови (эозинофилов, базофилов, палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов) и общего числа лейкоцитов (лейкопения или лейкоцитоз) говорят о наличии напряженности, нефизиологичности реакций активации или тренировки [4;7].

Сдвиги в лейкоцитарной формуле имеют закономерный характер и свидетельствуют об определенных изменениях в организме. Для изучения структуры адаптационных реакций, собаки в зависимости от уровня лимфоцитов в крови были распределены на четыре вариационных ряда, которые соответствовали стадии адаптации. Так для реакции «стресс» соответствовал вариационный ряд от 5,0 до 12,0 % лимфоцитов, для реакции «тренировка» вариационный ряд от 13,0 до 20,0 % и т.д.

Развитие адаптационных реакций не патологического, а физиологического типа характеризуется увеличением содержания лимфоцитов при нормальном уровне эозинофилов, моноцитов, лейкоцитов [8].

Данными авторами были выделены следующие состояния организма и соответствующие им процентные содержания лимфоцитов:

1. Реакция стресса – общая неспецифическая реакция адаптации организма на действие сильных (неадекватных) раздражителей, характеризуется процентным содержанием лимфоцитов ниже нормы.

Общие свойства реакции стресс: 1) лимфопения, анэозинофилия, лейкоцитоз; 2) угнетение деятельности тимико-лимфатической системы; 3) в эндокринной системе угнетена деятельность щитовидной и половых желез, на фоне стимуляции секреции АКТГ гипофиза, приводящая к повышению секреции глюкокортикоидных гормонов коры надпочечников, секреция минералокортикоидных гормонов снижена; 4) преобладание процессов катаболизма; 5) в ЦНС после резкого возбуждения развивается запредельное торможение; 6) снижается общая резистентность организма [4;7;8].

2. Реакция тренировки – общая неспецифическая реакция адаптации организма на действие слабых (пороговых) раздражителей, процентное содержание лимфоцитов в крови при этом находится в нижней половине зоны нормы.

Общие свойства реакции тренировка: 1) количество сегментоядерных нейтрофилов – в пределах верхней половины зоны нормы, количество остальных лейкоцитов варьирует; 2) изменения в тимико-лимфатической и эндокринной системе в пределах нижней половины зоны нормы (кроме более высокой секреции глюкокортикоидов - в пределах верхней половины зоны нормы); 3) умеренное преобладание глюкокортикоидов без элементов повреждения и угнетения в организме приводит к мягкому противовоспалительному действию; 4) процессы анаболизма и катаболизма в пределах нижней половины зоны нормы, однако процессы анаболизма

несколько преобладают; 5) неспецифическая резистентность организма начинает повышаться уже в первой стадии реакции тренировка - за счет снижения возбудимости ЦНС [4;7;8].

3. Реакции спокойной и повышенной активации – общие неспецифические реакции адаптации организма на действие средних по силе раздражителей (спокойной – на нижний диапазон средних величин, повышенной – на верхний), при этом содержание лимфоцитов при реакции спокойной активации соответствует верхней половине зоны нормы, при реакции повышенной активации – близки к верхней границе нормы и немного выше.

Свойства реакций спокойной и повышенной активации: 1) количество сегментоядерных нейтрофилов - в пределах нижней половины зоны нормы, остальные лейкоциты варьируют; 2) обе реакции сопровождаются умеренным повышением провоспалительного потенциала и препятствуют переходу острого воспалительного процесса в хронический; 3) реакции активации, особенно повышенной, характеризуются преобладанием процессов анаболизма и умеренными энергозатратами; 4) в ЦНС – преобладание умеренного возбуждения; 5) изменения в тимико-лимфатической и эндокринной системах при реакции спокойной активации – в пределах верхней половины зоны нормы, кроме секреции глюкокортикоидов, которая в пределах нижней половины зоны нормы.

Изменения при реакции повышенной активации как в тимико-лимфатической системе, так и в эндокринной (включая секрецию глюкокортикоидов) близки к верхней границе нормы и даже несколько выше; 6) неспецифическая резистентность организма при данных реакциях повышается быстро и значительно за счет истинной стимуляции активности защитных подсистем организма [4;7;8].

4. Существует еще одна реакция – переактивации, которая характеризуется чрезмерным повышением процентного содержания лимфоцитов. Так же, как и стресс, переактивация является основой предпатологии и патологии, но в

несколько иной форме. Характерно некоторое повышение глюко- и особенно минералокортикоидов, избыточная секреция щитовидной железы. В ЦНС отмечена тенденция к доминированию процессов возбуждения.

Наиболее благоприятными состояниями для организма являются реакции активации, при которых повышается активность регуляторных и защитных подсистем организма, а также реакция тренировки, биологический смысл которой заключается в защите организма от повторяющихся слабых раздражителей путем развития охранительного торможения в мозге [4;7;8].

Также для каждого этапа исследования на 2, 14 и 30 сутки был подсчитан коэффициент реакции (1), который равнялся отношению антистрессовых реакций (Ас): тренировка, спокойная активация, повышенная активация к реакции стресс (С).

(1)

$$K = A_c / C$$

2.4. Статистическая обработка результатов

Обработка полученного цифрового материала проводилась методами вариационной статистики с помощью пакета *Statsoft Statistica 6.0*. (StatSoftInc., США). В работе исследованные величины были представлены в виде выборочного среднего значения и стандартной ошибки средней величины ($M \pm m$). Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. При проведении статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости принимался равным 0,05.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Форменные элементы крови собак при стрессе

Одним из важных интегрирующих показателей гомеостаза организма является общий анализ крови, в котором отражены основные тенденции качественных и количественных компенсаторных реакций при действии стрессогенных факторов.

С тем, чтобы оценить состояние гемостаза к концу эксперимента (30 сутки) в сравнении с начальной точкой (2 сутки), был проведен общий анализ крови на анализаторе по общепринятой, стандартной методике (табл.1).

Результаты нашего исследования показали, что все отобранные для эксперимента животные на 2 сутки пребывания в школе были практически здоровы и содержание исследуемых показателей крови не выходило за пределы рефератных значений.

На 30 сутки изучаемые показатели оставались в пределах физиологической нормы. Следовательно, участие животных в эксперименте не отразилось на их здоровье. Однако нами было установлено некоторое различие между показателями первого и последнего дня эксперимента.

Так, на 2 сутки гематокрит и содержание эритроцитов в крови животных во всех трех группах было близко к верхней границе референтных значений. Вероятно, это вызвано изменением условий содержания, рациона питания (переходом на сухой корм), первыми физическими нагрузками на организм собак.

Таблица 1 – Показатели общего анализа крови у собак при изменении питания и условий содержания

| Показатели | 1 группа (Контроль) | | 2 группа (Пробиотический продукт) | | 3 группа (Energy) | | норма |
|---|---------------------|------------|--------------------------------------|--------------|-------------------|------------|---------|
| | 2 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 30 сутки | |
| эритроциты $10^{12}/л$ | 8,35±0,06 | 5,3±0,07* | 7,6±0,09 | 6,10±0,12 | 10,7±0,4 | 5,7±0,16* | 5,2-8,5 |
| гематокрит % | 41,3±0,56 | 38,5±0,53 | 43,80±0,5 | 37,52±1,5* | 49,25±0,5 | 33,37±0,3* | 37-56 |
| гемоглобин г/л | 152,2±1,2 | 159,8±0,86 | 151,08±1,8 | 184,85±1,31* | 166,09±1,34 | 160,8±0,6* | 110-190 |
| лейкоциты $10^9/л$ | 16,40±0,39 | 16,1±1,4 | 16,16±0,32 | 14,85±0,41 | 21,95±0,9 | 13,9±0,37* | 6-17 |
| лимфоциты $10^9/л$ | 2,8±0,3 | 2,97±0,2 | 2,26±0,14 | 5,92±1,1 | 2,85±0,7 | 4,45±0,12 | 0,8-6,8 |
| лимфоциты % | 17,00±0,8 | 20,00±0,7 | 14,0±0,8 | 35,0±1,7* | 13,0±1,4 | 32,0±0,7* | 12-40 |
| моноциты $10^9/л$ | 1,10±0,05 | 0,90±0,03 | 1,29±0,05 | 0,84±0,16 | 1,54±0,12 | 0,7±0,02 * | 0-3,4 |
| моноциты % | 7,00±0,27 | 6,00±0,12 | 8,0±0,2 | 5,0±0,16* | 7,0±0,32 | 5,0±0,1* | 1-15 |
| гранулоциты $10^9/л$ | 12,5±0,2 | 10,99±0,4 | 12,61±0,3 | 10,14±0,35 | 17,56±0,24 | 8,75±0,24 | 4-10,6 |
| гранулоциты % | 76,00±0,9 | 74,00±0,8 | 78,0±1,04 | 60,0±1,7* | 80,0±1,2 | 63,0±0,7* | 60-80 |
| тромбоциты $10^9/л$ | 263,80±12,1 | 282,38±7,1 | 163,25±8,9 | 234,33±7,9* | 300,0±10,0 | 188,36±11* | 117-550 |
| Примечание: * достоверные изменения по сравнению со 2 сутками, $p < 0,05$ | | | | | | | |

На 30 сутки было отмечено снижение содержания эритроцитов во всех группах (таблица 1). Очевидно, данные изменения связаны с восстановлением физиологического равновесия между плазмой крови и количеством форменных элементов крови. Концентрация эритроцитов во 2 группе на 15 % выше, чем в 1 группе, а у животных 3 группы на 7 %, что говорит о наиболее существенной активации эритропоэза в организме собак, принимавших пробиотический продукт (рис.5., рис.6., рис.7.). Повышение эритропоэза при приеме пробиотиков отмечают и другие исследователи в своих работах [10;29].

К концу исследования уровень эритроцитов у собак в 1 и 3 группах снизился до средних значений референтного интервала (рис. 5., рис.7.).

Гематокрит, являющийся показателем, отражающим долю эритроцитов в общем объеме крови, к концу исследования понижается у собак во всех

группах, что может быть связано с восстановлением водного баланса в организме животных.

Гемоглобин немного повысился в 1 и 2 группе, не выходя за границы референтного интервала.

Значимых различий между уровнем лейкоцитов в крови собак всех групп на 2 сутки не отмечено (рис.5., рис.6.). Однако их концентрация приближалась к верхней границе референтного интервала, что может являться следствием напряжения системы адаптации (рис.7.). На 30 сутки нами было отмечено снижение концентрации лейкоцитов в крови животных всех трех групп.

Концентрация лимфоцитов в крови собак, также не имеет значимых различий на 2 сутки после заезда в питомник, но находится при этом в пределах нижней границы референтного интервала. На 30 день исследования уровень лимфоцитов повысился во всех группах, но наиболее заметные изменения произошли во 2 и 3 группах, где показатель приблизился к верхней границе референтных значений (рис. 6., рис.7.).

Моноциты на 2 сутки у всех животных находятся в пределах средних значений референтного интервала, а на 30 сутки отмечается тенденция к снижению их уровня во всех группах. Наиболее заметное снижение показателя отмечено во 2 и 3 группах в среднем на 45% относительно показателей полученных на 2 сутки.

Уровень гранулоцитов имеет значимые различия в конце исследования во всех группах. Если рассматривать изменение концентрации гранулоцитов в течение исследования, то можно отметить тенденцию к их снижению. На 2 сутки гранулоциты находятся у верхней границы нормы во всех группах. На 30 день исследования во 2 и 3 группах отмечается тенденция к их снижению в крови животных.

Очевидно, показатель приходит к значению физиологической нормы, что может указывать на стабилизацию гомеостаза организма и снижение воздействия стресс-факторов на организм собак этих групп (рис.5., рис.6.,

рис.7.). В тоже время в 1 группе (контроль) также было отмечено снижение гранулоцитов, однако на 30 сутки их абсолютное количество все еще превышало верхнюю границу референтного интервала. Концентрация тромбоцитов в крови собак также имеет значимые различия к концу исследования, находясь при этом в пределах референтных значений. Концентрация тромбоцитов в 1 группе на 17% выше, чем во 2 группе и на 33% выше, чем в 3 группе. В 3 группе животных данный показатель стал наиболее низким, но все же находился в пределах референтных значений. Увеличение концентрации тромбоцитов в крови собак в данном случае является следствием восстановления гомеостаза организма. В некоторых случаях поступления в достаточном количестве в организм с пищей железа, фолиевой кислоты, витамина В₁₂, также способствует восстановлению уровня тромбоцитов в крови до физиологической нормы [26].

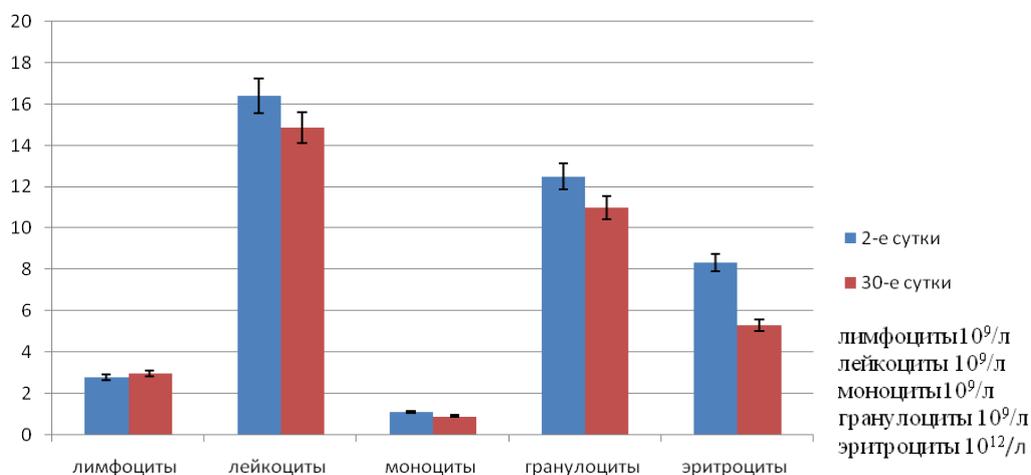


Рисунок 5 – Динамика уровня форменных элементов крови собак 1 группы (контрольной) в период исследования

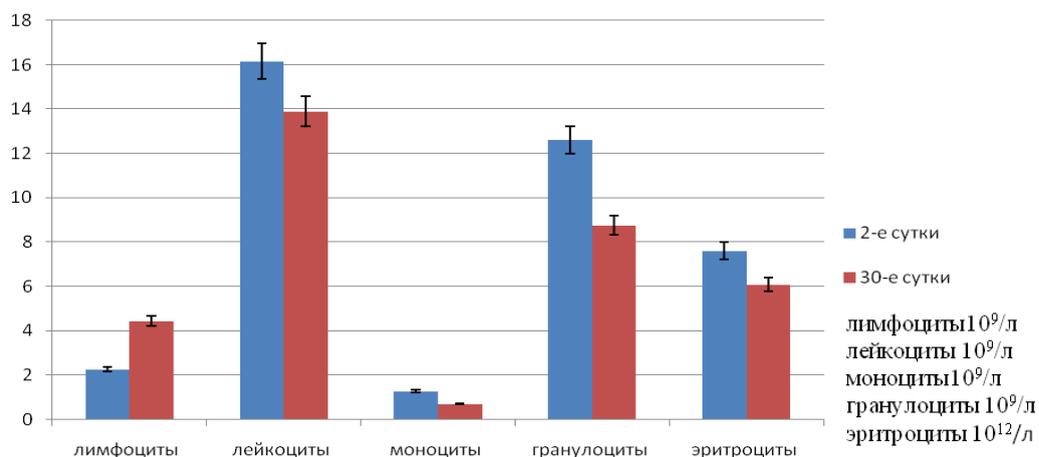


Рисунок 6 – Динамика уровня форменных элементов крови собак 2 группы (пробиотический продукт) в период исследования

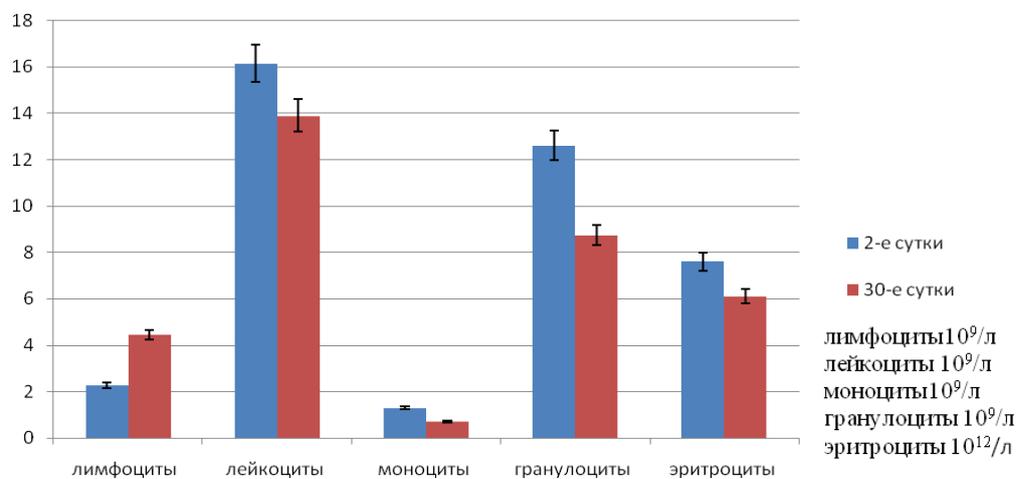


Рисунок 7 – Динамика уровня форменных элементов крови собак 3 группы (*Energy*) в период исследования

3.2. Оценка адаптационного потенциала собак по лейкоцитарной формуле крови

Чтобы оценить динамику адаптационных процессов изучали морфологический состав крови с расширенной лейкоцитарной формулой крови методом мазка на 2, 14 и 30 сутки.

Оценку характера адаптационной реакции собак рассчитывали по лейкоцитарной формуле крови в соответствии с методикой разработанной коллективом авторов - Гаркави Л.Х., Квакиной Е.Б., Уколовой М.А. (1990) [4;7;8]. Служебные собаки, прибывающие в школу служебно-розыскного собаководства, в период обучения проходят стадии адаптации, которые связаны с изменением условий содержания и питания.

Универсальным показателем адаптивного гомеостаза является лейкоцитарная формула, в которой отражены основные тенденции качественных и количественных компенсаторных реакций организма собак в этот период. По данным Гаркави Л.Х. и др. (1990, 2002) сложные нейроэндокринные, метаболические изменения, характеризующие каждую из адаптационных реакций, получают определенное отражение в морфологическом составе белой крови, что позволяет использовать простые показатели для каждой реакции, а следовательно, осуществлять контролируемую неспецифическую активационную терапию [4;7;8].

Большой интерес в изучении действия пробиотического продукта на основе штамма *B. subtilis* ВКПМ В-1895 и добавки «Energy» представляют сигнальные показатели процентного содержания лимфоцитов, которые являются определяющим критерием типа реакции [4;7;8]. Остальные форменные элементы белой крови и общее число лейкоцитов, являются дополнительными признаками реакции и свидетельствуют о физиологичности реакции, степени её напряжённости, неполноценности по отношению к общепринятым границам нормы. Все это определяет характерный для каждой

адаптационной реакции состав форменных элементов – моноцитоз, лимфопению, анэозинофилию, лейкоцитоз - при стрессе.

Изучение лейкоцитарного состава крови служебных собак проводилось в мазках крови сделанных на 2, 14 и 30 сутки. Для изучения структуры адаптационных реакций показатели лимфоцитов всех собак участвующих в эксперименте были распределены по четырем вариационным рядам, соответствующим стадии адаптации, интервалы всех реакций приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Диапазон изменения количества лимфоцитов для разных адаптационных реакций у собак, %

| Адаптационные реакции | Диапазон лимфоцитов для данного типа реакции, % | Норма, % |
|---------------------------|---|-----------|
| Стресс (С) | 5,0-12,0 | 12,0-30,0 |
| Тренировка (Т) | 13,0-20,0 | |
| Спокойная активация (СА) | 21,0-29,0 | |
| Повышенная активация (ПА) | 30,0-40,0 | |

В мазках крови, сделанных на 2 сутки после заезда животных, отмечены незначительное повышение лейкоцитов, снижение содержания лимфоцитов, эозинофилов, близких к нижней границе референтного интервала, а нейтрофилы – верхней. Результаты исследования мазков крови представлены в таблице 3.

Сдвиги в лейкоцитарной формуле свидетельствовали об определенных изменениях в организме. Повышение доли нейтрофилов было связано с возникновением стрессового состояния. Как нормальное явление, увеличение количества лейкоцитов в крови собак может отмечаться кратковременно, например, пищевой лейкоцитоз, возникающий после обильного кормления животного. Однако исследование крови проводилось нами до приема пищи собаками. Так уровень сегментоядерных нейтрофилов достигал верхней границы референтных значений и составлял в среднем 72%, количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов на данном этапе, как и на всех последующих, находится в пределах референтных значений (таблица 3).

Таблица 3 – Морфологический состав лейкоцитов у собак при изменении питания и условий содержания, %

| Вид лейкоцитов, (%) | 1 группа (Контроль) | | | 2 группа (Пробиотический продукт) | | | 3 группа (Energy) | | | норма |
|---|---------------------|----------|----------|-----------------------------------|----------|----------|-------------------|----------|----------|-------|
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 Сутки | 30 Сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | |
| Базофилы | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0-1 |
| Нейтрофилы: | 74±0,29 | 75±0,26 | 70±0,33* | 76±0,22 | 70±0,23* | 58±0,64* | 78±0,22 | 70±0,26* | 60±0,72* | 60-80 |
| сегментоядерные | 70±0,34 | 71±0,47 | 66±0,44* | 72±0,27 | 67±0,48* | 56±0,38* | 74±0,26 | 68±0,31* | 57±0,49* | 50-72 |
| палочкоядерные | 4±0,17 | 4±0,15 | 4±0,22 | 4±0,18 | 3±0,17 | 2±0,08 | 4±0,18 | 2±0,07 | 3±0,1 | 1-6 |
| Эозинофилы | 2±0,09 | 5±0,13* | 4±0,15 | 2±0,09 | 5±0,12* | 2±0,08 | 2±0,09 | 5±0,15* | 3±0,12 | 2-6 |
| Лимфоциты | 17±0,18 | 12±0,28 | 20±0,3 | 14±0,14 | 19±0,65* | 35±0,25* | 13±0,2 | 20±0,57* | 32±0,26* | 12-40 |
| Моноциты | 7±0,16 | 8±0,2 | 6±0,21 | 8±0,11 | 6±0,09 | 5±0,15 | 7±0,1 | 5±0,06 | 5±0,16 | 1-15 |
| Лейкоциты, всего: | 100% | | | 100% | | | 100% | | | |
| Примечание: * достоверные изменения по сравнению со 2 сутками, $p < 0,05$ | | | | | | | | | | |

Уровень лимфоцитов в крови животных на 2 сутки во всех трех группах находился в нижней границе зоны нормы, составляя в среднем 15% от общего количества клеток белой крови.

На 14 сутки уровень нейтрофилов снизился во 2 и 3 группах по отношению к 1 контрольной группе на 6,7% соответственно, количество сегментоядерных нейтрофилов снизилось во 2 группе на 5,6%, в 3 группе на 4,3% соответственно, относительно контрольной группы.

Динамика уровня лимфоцитов была иной, так во 2 и 3 группах, их концентрация на 14 сутки увеличилась, достигнув средних значений референтного интервала (таблица 3), остальные показатели (моноциты, эозинофилы, палочкоядерные нейтрофилы) варьировали, практически не меняясь и оставаясь в пределах референтных значений.

Таким образом, показатели лейкограммы в 1 (контрольной) группе говорят о низком адаптационном потенциале организма этих животных, что отчетливо видно по показателям лимфоцитов, количество которых на 14 сутки исследования немного снизилось, приблизившись к нижней границе референтного интервала, и нейтрофилов, число которых повысилось. Такие показатели характерны для стресса.

На 30 сутки тенденция к снижению уровня нейтрофилов в крови собак во всех группах продолжилась (оставаясь в пределах референтных значений), особенно это заметно в опытных группах. Так во 2 группе концентрация нейтрофилов снизилась на 17%, в 3 группе на 14,3%, в то время как в 1 группе только на 6,7% соответственно.

Повышение уровня лимфоцитов в крови животных на 30 сутки продолжилось, достигнув верхних значений референтного интервала, особенно во 2 и 3 группах (таблица 3).

В дальнейшем структура адаптационных реакции рассматривалась в каждой группе отдельно.

Также для каждого этапа исследования на 2, 14 и 30 сутки был подсчитан коэффициент ($K=A_c/C$) отношения антистрессовых реакций (тренировка, спокойная активация, повышенная активация) к реакции «стресс» (таблица 4).

Таблица 4 – Структура адаптационных реакций собак на этапах исследования

| Реакции активации | Количество животных, % | | | | | | | | |
|-------------------|------------------------|----------|----------|-----------------------------------|----------|----------|-------------------|----------|----------|
| | 1 группа (Контроль) | | | 2 группа (Пробиотический продукт) | | | 3 группа (Energy) | | |
| | n=28 | | | n=29 | | | n=29 | | |
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки |
| С | 17,86 | 14,3 | 10,7 | 20,68 | 13,79 | 6,89 | 20,68 | 10,34 | 10,34 |
| Т | 21,4 | 35,7 | 42,85 | 27,58 | 34,48 | 44,83 | 17,3 | 34,48 | 31,03 |
| СА | 32,14 | 28,57 | 25,0 | 31,0 | 31,03 | 24,14 | 31,03 | 34,48 | 31,03 |
| ПА | 28,57 | 21,4 | 21,4 | 20,68 | 20,68 | 24,14 | 31,03 | 20,68 | 27,58 |
| $K A_c/C$ | 4,59 | 5,9 | 8,34 | 3,83 | 6,25 | 13,5 | 3,84 | 8,67 | 8,67 |

По результатам исследования лейкоцитарного состава крови собак, участвующих в эксперименте, было установлено, что на 2 сутки после заезда их в питомник школы, количество стресс реакции во всех группах составляло в среднем по 20%, что говорит об одинаковых условиях эксперимента при стартовом этапе исследования (рис.8.).

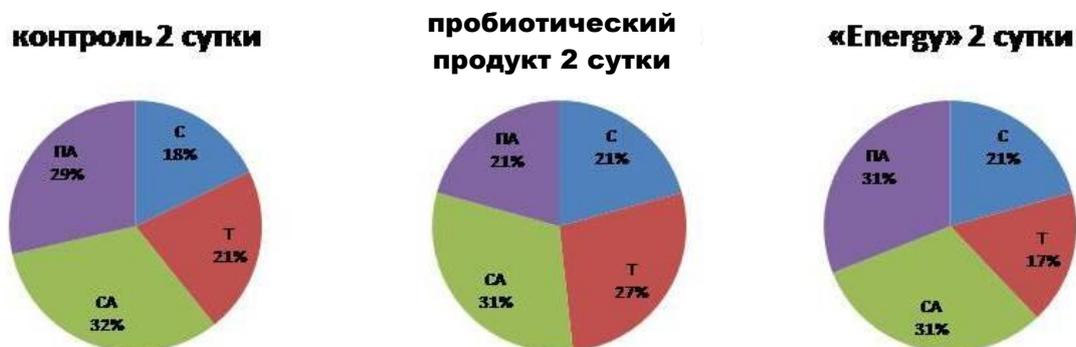


Рисунок 8 – Структура адаптационных реакций на 2 сутки

На основании результатов исследования представленных в таблице 4, было установлено следующее:

1) Первая группа - частота реакции стресс снизилась в 1 раз на 14 сутки, на 30 сутки в 1,7 раза; частота реакции тренировка увеличилась на 14 сутки в 1,7 раза, на 30 сутки в 2 раза; частота реакции спокойной активации на 14 сутки снизилась в 0,9 раз, на 30 сутки в 1,3 раза; частота реакции повышенной активации снизилась на 14 сутки в 1,3 раза и осталась в этих пределах до 30 суток (рис.10.). Коэффициент Ас/С на 14 сутки увеличился в 1,3 раза, на 30 сутки в 2 раза.

2) Вторая группа - частота реакции стресс снизилась на 14 сутки в 1,5 раз по сравнению с основным фоном (рис.8.). Т.е. в отличие от стресса, наблюдавшегося у 21% собак на первом этапе исследования, на 14 сутки отмечается тенденция к стабилизации показателей лейкоцитарного профиля вследствие повышения адаптационного потенциала организма у большей части животных (рис.9.). На 30 сутки частота случаев развития реакции стресс снизилась уже в 3 раза.

Частота случаев развития реакции тренировка на 14 сутки выросла в 1,3 раза, а на 30 сутки в 1,6 раз. Частота случаев развития реакции спокойной активации снизилась к 30 суткам в 1,3 раза. Частота реакции повышенной активации была иной, увеличившись к 30 дню исследования в 1,2 раза. Коэффициент Ас/С к 14 суткам увеличился в 1,6 раз, на 30 сутки в 3,5 раз.

3) Третья группа – частота случаев развития реакции стресс в этой группе снизилась на 14 сутки в 2 раза, оставаясь в этих границах до 30 суток. Частота случаев развития реакции тренировка на 14 сутки возросла в 2 раза, а на 30 сутки снизилась в 1,1 раза (рис.9.). Частота развития реакции спокойной активации на 14 сутки возросла в 1,1 раза, а на 30 сутки снизилась, вернувшись к прежним значениям. Частота случаев развития реакции повышенной активации на 14 сутки снизилась в 1,5 раз, а на 30 сутки повысилась на 1,2 раза.

Коэффициент Ас/С на 14 сутки вырос в 2,3 раза и оставался в этих границах до 30 суток.

Подводя итоги данного исследования, также следует отметить, что доля реакции стресс (С) на 30 сутки выявлялась со следующей частотой: 1 группа в 10,7% случаев, 2 группа в 6,89% случаев, 3 группа в 10,34% случаев (рис.10.).

Доля активационных реакций (СА и ПА) на 30 сутки составила: в 1 группе 46,4% случаев, во 2 группе 48,28% случаев, в 3 группе уровень данных реакций отмечен в 58,61% случаев (рис.10.). Коэффициент Ас/С на 30 сутки составил: в 1 группе 8,34%, во 2 группе 13,5%, в 3 группе 8,67%.

Таким образом коэффициент Ас/С во 2 группе оказался в 1,6 раз выше чем в остальных группах, что указывает на преобладание антистрессовых реакций над стрессом в этой группе животных.

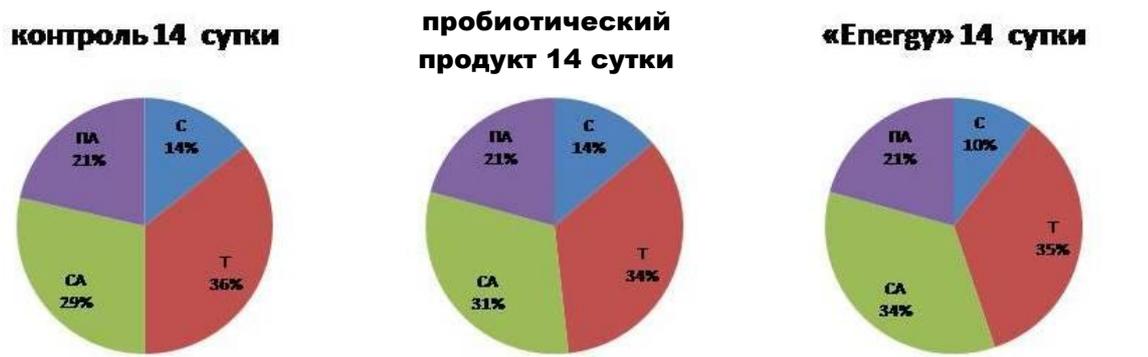


Рисунок 9 – Структура адаптационных реакций на 14 сутки

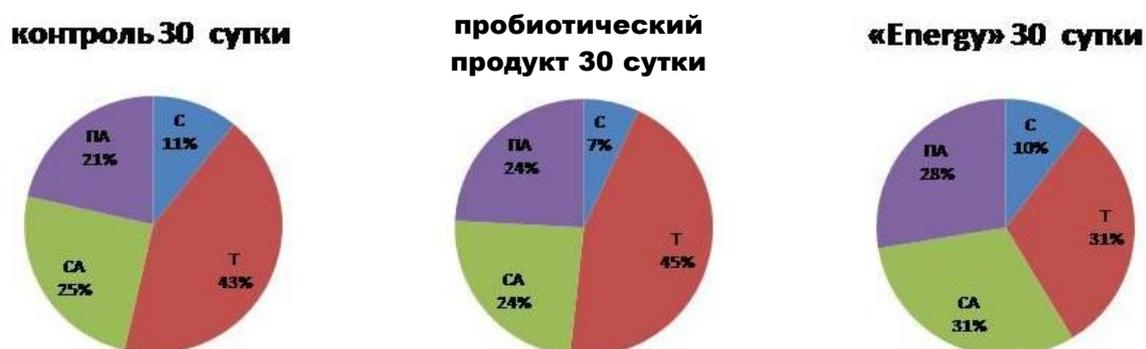


Рисунок 10 – Структура адаптационных реакций на 30 сутки

Таким образом, наибольшее количество животных с такими реакциями адаптации, как «реакция спокойной и повышенной активации» и «тренировка», являющиеся наиболее благоприятными для организма были отмечены на 30 сутки во 2 и 3 опытных группах. Это показывает повышение активной резистентности организма собак из этих групп. Вероятно за счет подъема активности защитных подсистем организма. Однако наиболее целенаправленное и плавное течение адаптации оказалось к 30 дню исследования во 2 группе собак, получавших пробиотический продукт. В контрольной группе к концу исследования, большинство собак все еще находилось в стадии стресса, а коэффициент Ас/с является самым низким. (Рис.11.).

Более наглядной динамика антистрессовых реакции в период адаптации собак к условиям питомника выглядит следующим образом (рис.11.).

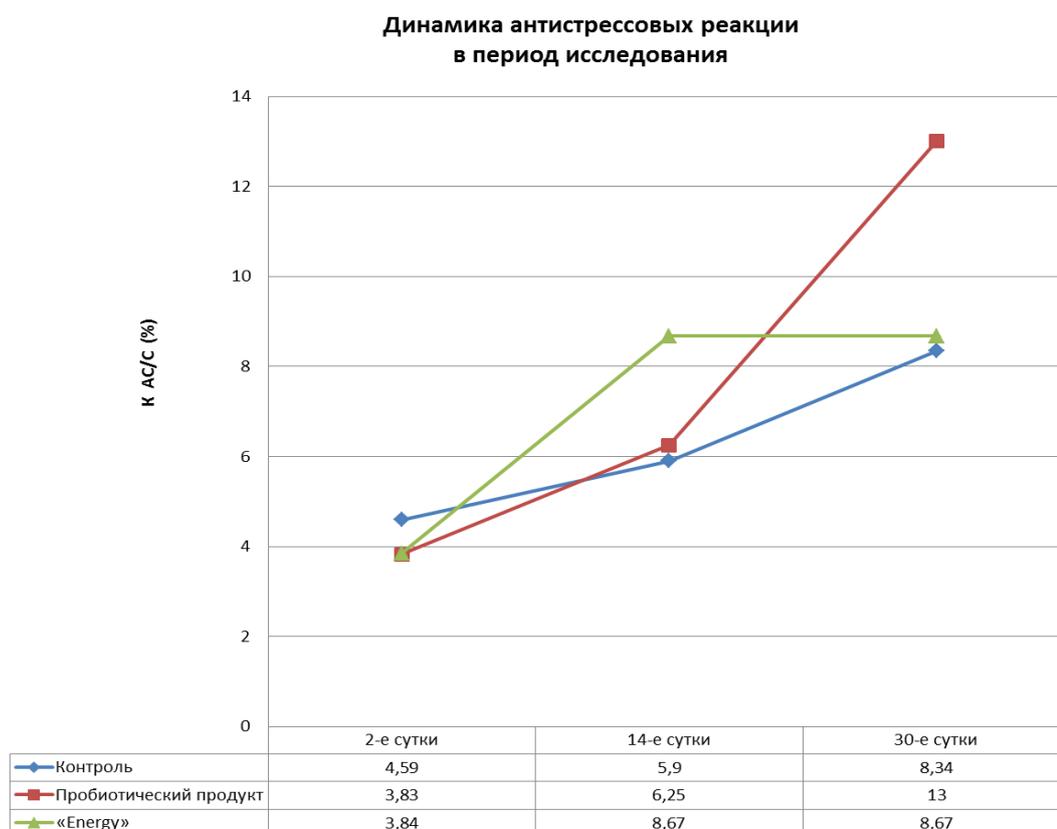


Рисунок 11 – Динамика антистрессовых реакций у собак в период адаптации к условиям питомника и новому рациону

На графике видно, что на стартовом этапе исследования животные находились примерно в одинаковых условиях эксперимента. На 14 сутки коэффициент A_c/C стал увеличиваться во всех группах, однако в 3 группе он был наиболее высокий, в 1 и 2 группах коэффициенты были практически одинаковыми. К 30 суткам коэффициент A_c/c во 2 группе продолжил свой рост. В 3 группе получавшей энергетическую добавку этот показатель больше не изменялся, начиная с 14 суток и до конца эксперимента. Следует отметить, что снижение соотношения антистрессовых реакций и стресса в группах животных может привести к риску срыва адаптации.

Таким образом, сигнальный показатель типа адаптационной реакции, определяемый по составу форменных элементов лейкоцитарной формулы крови – говорит о том, что использование пробиотического продукта в период адаптации способствует переходу организма собаки из состояния, близкого к стрессовому, к наиболее благоприятному для организма состоянию тренировки, спокойной активации, которые характеризуются высокой активностью, спокойствием, низкой тревожностью, низкой агрессивностью, хорошим сном и аппетитом, а также хорошей работоспособностью.

Использование нутрицевтиков (пробиотического продукта и кормовой добавки *Energy*) является необходимым условием профилактики стресса и поддержания антистрессовых реакций организма, как неспецифической основы повышения резистентности к высоким нагрузкам, которым подвергаются служебные собаки, выполняющие важные задачи по обеспечению общественной безопасности и охране общественного порядка при проведении крупных общественных мероприятий проводимых в различных субъектах нашей страны.

3.3. Исследование глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции гомеостаза собак в течение 30 суток

Ответная реакция организма на действие стресса носит индивидуальный характер, что во многом определяется потенциалом взаимодействия регуляторных систем. В связи с этим мы предположили, что реакции собак на изменение питания и условия содержания также будет носить индивидуальный характер, основанный на степени стресс-устойчивости организма.

В связи с тем, что в ответной реакции организма на стресс всегда принимает участие глюкокортикоидное звено гуморальной регуляции, то все животные, отобранные для участия в эксперименте, были разбиты на 3 подгруппы по уровню содержания в крови кортизола на начало исследования (таблица 5).

По результатам исследования плазмы крови собак полученной на 2 сутки после заезда их в питомник, было установлено, что содержание гормона в крови собак различалось: в 29,1% случаев оно было низким и составило в среднем $37,6 \pm 0,12$ нМоль/л. Этих животных мы объединили в первую подгруппу. Во вторую подгруппу вошли животные с содержанием кортизола соответствующего средним значениям нормы - $62,2 \pm 0,14$ нМоль/л, данный уровень гормона был отмечен 36,5% случаев.

Третью подгруппу составили животные, у которых содержание кортизола приближалось к верхним границам физиологической нормы для собак - $185,2 \pm 0,53$ нмоль/л, что было отмечено нами в 35% случаев.

Результаты исследования представлены в таблице 5 и рис.12.

Таблица 5 – Содержание кортизола в крови собак на 2-е сутки после пребывания в питомнике, $M \pm m$

| Показатель | 1 подгруппа | 2 подгруппа | 3 подгруппа | норма |
|---|-------------|-------------|-------------|----------------|
| Содержание кортизола в плазме крови (нМоль/л) | 37,6±0,12 | 62,2±0,14 | 185,2±0,53 | 25-175 нМоль/л |
| Кол-во животных (n) | 28 | 33 | 35 | |

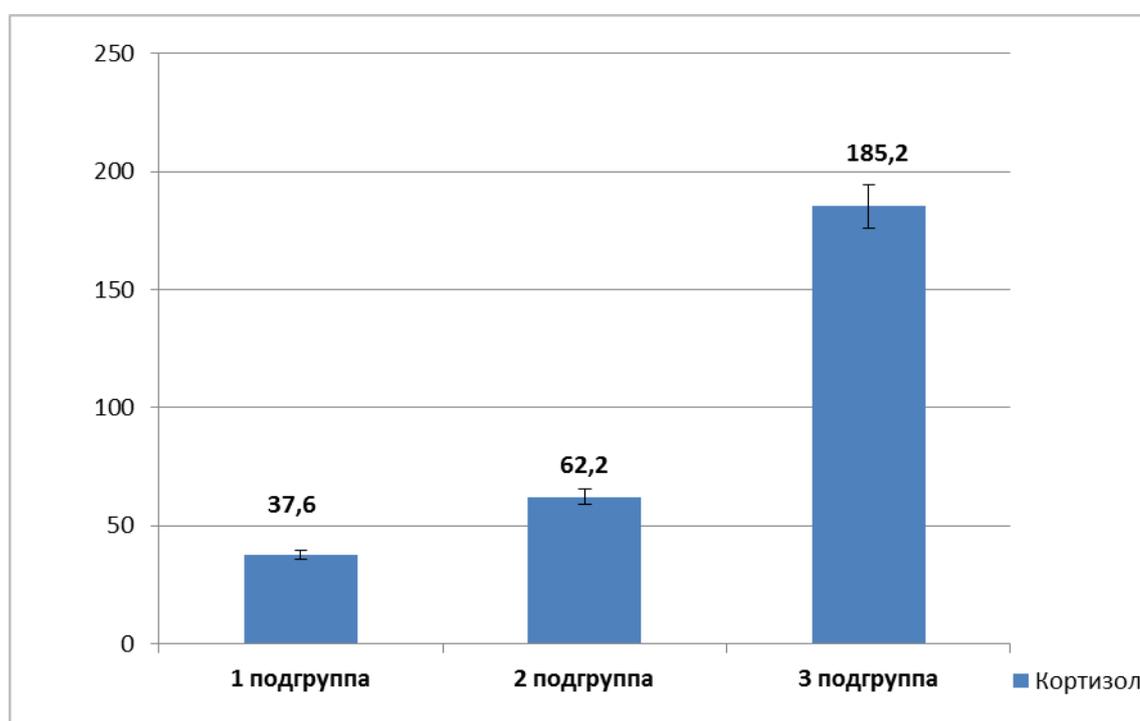


Рисунок 12 – Подгруппы собак по уровню *кортизола* в крови на 2 сутки

Однако в процессе исследования часть животных была выбракована из исследования по разным причинам (отъезд из питомника, травмы, болезни и т.д.), поэтому в эксперименте осталось 86 собак, у которых на протяжении всего исследования изучалась динамика уровня гормонов в крови в период адаптации. В каждую подгруппу были отобраны только те животные, у которых не было выраженных поведенческих реакций на изменение условий содержания и питания. Эти животные не отказывались от еды, могли

тренироваться, не проявляли агрессии и по результатам ветеринарного обследования были здоровы. В первую подгруппу вошло 27 собак, во вторую 28, а в третью подгруппу 31 собака в соответствии с уровнем кортизола в крови на первом этапе исследования.

Так как, клеточный метаболизм (в частности: глюконеогенез, липолиз, энергетический обмен) регулируется гормонами щитовидной железы, то большой интерес представляло изучение взаимодействия глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев регуляции метаболизма у собак в начальный период адаптации. Результаты сравнения двух звеньев регуляции метаболизма представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Содержание кортизола и тиреоидных гормонов в крови собак контрольной группы на 2 сутки пребывания в питомнике школы служебного собаководства, (n=28), M±m

| Гормоны | 1 подгруппа, n=9 | 2 подгруппа, n=9 | 3 подгруппа, n=10 | норма |
|--------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------|
| Кортизол (нМоль/л) | 37,4±0,12 | 62,2±0,10 | 185,1±0,59 | 25-175 |
| ТТГ (мЕд/л) | 0,85±0,10 | 0,15±0,012 | 0,06±0,012 | 0,02-0,45 |
| Т ₄ (нМоль/л) | 17,2±0,19 | 31,3±0,24 | 50,6±0,24 | 12-52 |

Результаты исследования показали, что у собак с низким уровнем кортизола усиливается активность центрального звена тиреоидной регуляции – т.к. уровень ТТГ в крови значительно превышал верхнюю границу референтных значений.

Между тем, содержание тироксина (Т4) приближалось к нижней границе референтных значений. Одним из вероятных предположений данной разнонаправленности, является повышение востребованности гормона клетками для регуляции метаболизма. Можно предположить, что при недостаточном уровне кортизола, регуляция обмена веществ, в клетках осуществляется в основном гормонами щитовидной железы.

Подтверждением данному предположению служат данные, полученные при обследовании животных 2 и 3 подгрупп.

Динамика содержания гормонов в крови собак контрольной группы в течение 30 суток адаптации к условиям школы представлена в таблице 7.

Таблица 7 – Динамика содержания гормонов в крови собак контрольной группы в течение 30 суток адаптации к условиям школы, ($M \pm m$)

| Подгруппа собак | 1 подгруппа, n=9 | | | 2 подгруппа, n=9 | | | 3 группа, n=10 | | | норма |
|--------------------|------------------|----------------|---------------|------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | |
| Кортизол (нМоль/л) | 37,6 ±0,12 | 40,3 ± 0,17 | 37,4 ±0,11 | 62,2 ±0,14 | 48,0 ±0,18 | 50,40 ±0,09 | 185,2 ±0,53 | 86,9 ±0,2 | 23,06 ±0,13 | 25- 175 |
| ТТГ (мЕд/л) | 0,88 ±0,01 | 0,47 ±0,01 | 0,46 ±0,01 | 0,10 ±0,01 | 0,18 ±0,014 | 0,07 ±0,011 | 0,09 ±0,014 | 0,18 ±0,01 | 0,31 ±0,01 | 0,02- 0,45 |
| Т4 (нМоль/л) | 16 ±0,19 | 25 ±0,26 | 32 ±0,43 | 38 ±0,23 | 30 ±0,28 | 46 ±0,18 | 51,5 ±0,26 | 44,3 ±0,18 | 41,0 ±0,2 | 12-52 |

Как видно из этой таблицы, в крови собак 2 подгруппы содержание всех изучаемых гормонов соответствовало средним значениям референтного интервала, тогда как в 3 подгруппе установлено высокое содержание тироксина, на фоне относительно низкого уровня ТТГ. Таким образом, можно предполагать, что регуляция активности щитовидной железы у собак этой

подгруппы осуществлялась не только со стороны гипофиза, но и продуктами клеточного метаболизма.

В острый период адаптации собаки имели разный исходный потенциал системы эндокринной регуляции метаболизма. Эти отличия, несомненно, послужили одной из причин формирования разного характера адаптации к изменению рациона питания и условий содержания.

Как следует из данных исследования, в 1 подгруппе животных содержание кортизола в крови оставалось практически неизменным в течение месяца, тогда как тиреоидное звено гормональной регуляции изменило свою активность (рис.13., рис.14., рис.15.)

При этом содержание ТТГ уже на 14 сутки снизилось до верхней границы нормы и не изменялось до 30 суток. Содержание тироксина напротив повысилось до средних значений (рис.14., рис.15.).

У животных 2 подгруппы значительных изменений изучаемых показателей не отмечалось, все значения находились в пределах референтных значений. Уровень кортизола в этой подгруппе на 30 сутки составлял $50,4 \pm 0,09$ нМоль/л (рис.13.).

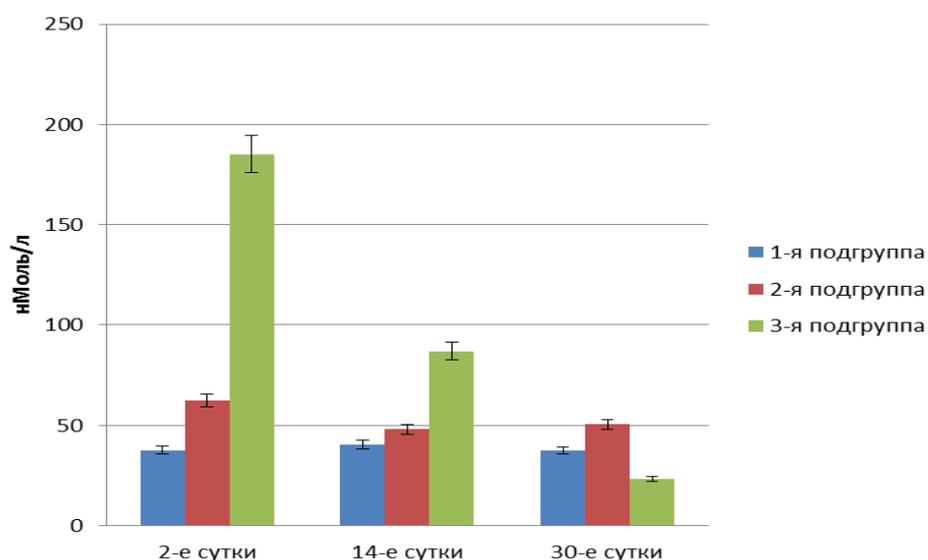


Рисунок 13 – Содержание **кортизола** в крови собак контрольной группы

Уровень ТТГ на 14 сутки повысился на 0,11 мЕд/л, однако на 30 сутки стал ниже исходного уровня на 0,03 мЕд/л (рис.14.). Уровень Т4 на 14 сутки понизился на 8 нМоль/л, а на 30 сутки стал выше исходного уровня на 8 нМоль/л (рис.15.). Таким образом, можно отметить, что напряжения глюкокортикоидной и тиреоидной осей нет, уровень ТТГ на 30 сутки понижается, что говорит об уменьшении активации щитовидной железы и установлению равновесия между секрецией гормонов эндокринными железами.

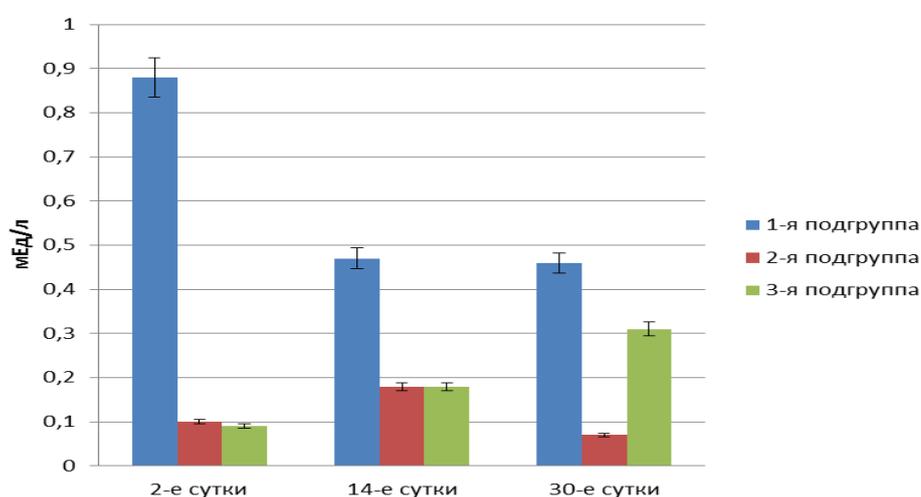


Рисунок 14 – Содержание ТТГ в крови собак контрольной группы

Отдельного внимания заслуживают результаты, полученные при исследовании 3 подгруппы собак. Содержание кортизола резко снижается в течение месяца и к 14 суткам становится в 2 раза ниже, чем в исходном состоянии. Еще большее снижение отмечалось к 30 суткам – содержание кортизола снизилось до $23,06 \pm 0,13$ нмоль/л (т.е. примерно еще в 3,6 раза), что соответствует нижней границе референтного интервала (рис.13.).

На фоне снижения содержания кортизола усиливается активность тиреоидной регуляции - уровень ТТГ постепенно повышается от $0,09 \pm 0,014$ до

0,31±0,01 нмоль/л к 30 суткам, что соответствует средним значениям референтного интервала (рис.14.).

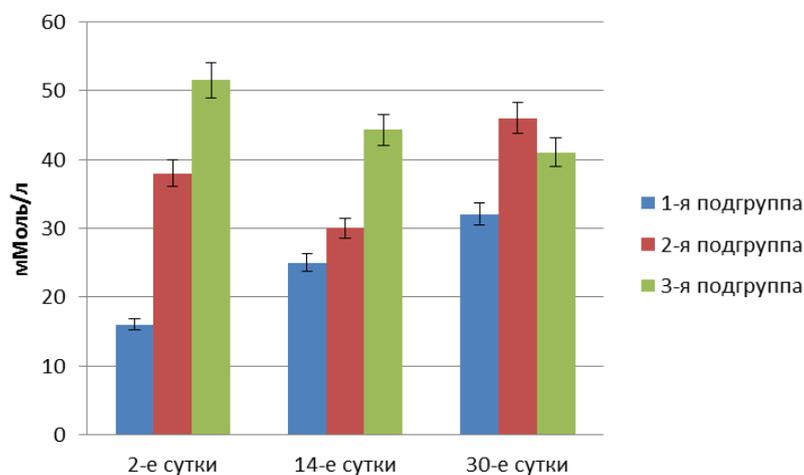


Рисунок 15 – Содержание Т4 в крови собак контрольной группы

Уровень тироксина снижается до средних значений. Такие изменения позволяют говорить о смещении гормональной регуляции клеточного метаболизма в сторону гормонов щитовидной железы, что вероятно позволяет не только поддерживать гомеостаз организма, но и поддерживать относительно высокий уровень работоспособности животных (рис.15.).

3.3.1. Изменение содержания гормонов в крови собак с низким уровнем кортизола при введении кормовой добавки «Energy» и пробиотического продукта на основе *B. subtilis*

Динамика содержания гормонов в крови собак с низкими значениями кортизола при адаптации к условиям пребывания в школе представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Изменение содержания гормонов в крови собак 1 подгруппы, получавших нутрицевтические добавки, (n=27), $M \pm m$

| ГРУППЫ | 1 (Контроль), n=9 | | | 2 (Пробиотический продукт), n=10 | | | 3 (Energy), n=8 | | | норма |
|-----------------------|-------------------|----------------|----------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|---------------|
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 Сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | |
| кортизол (нМоль/л) | 37,6 ±0,12 | 40,3 ± 0,17 | 37,4 ±0,11 | 37,2 ±0,08 | 46,59 ±0,09 | 32,12 ± 0,11 | 37,5 ±011 | 52,07 ±0,09 | 32,43 ±0, 02 | 25-175 |
| ТТГ (мЕд/л) | 0,88 ±0,01 | 0,47 ±0,01* | 0,46 ±0,01* | 0,85 ±0,14 | 0,26 ±0,01** | 0,43 ±0,01* | 0,83 ±0,01 | 0,40 ±0,01* | 0,42 ±0,012* | 0,02- 0,45 |
| Т4 общ. (нМоль/л) | 16 ±0,19 | 25 ±0,26* | 32 ±0,43* | 19 ±0,2 | 33 ±0,13** | 24 ±0,14* ** | 16,6 ±0,17 | 35 ±0,16* ** | 30 ±0,14* | 12-52 |

Примечание: * - достоверные изменения относительно вторых суток, при $p < 0,05$
 ** - достоверные изменения относительно контроля, при $p < 0,05$

Результаты исследования показали, что у собак с исходно низким уровнем кортизола как при приеме пробиотического продукта, так и добавки «Energy» содержание гормона в крови повышается на 14 сутки исследования (рис.16.).

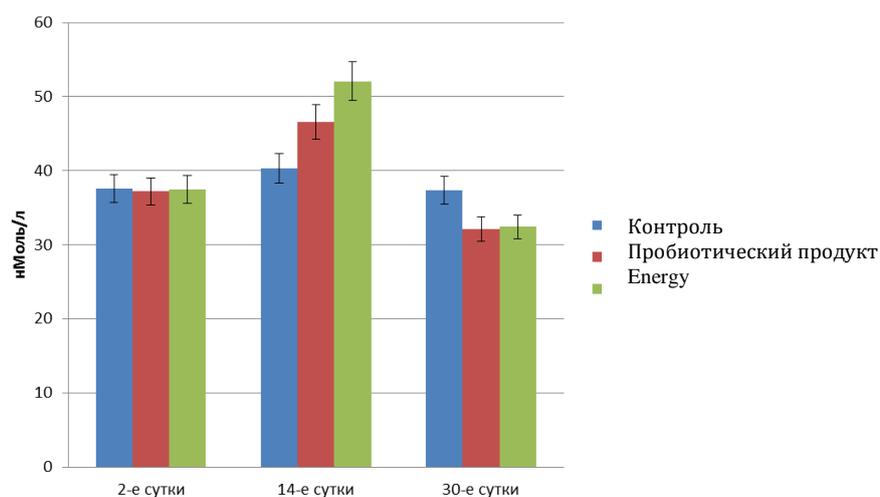


Рисунок 16 – Динамика уровня кортизола в крови собак 1 подгруппы

При этом у собак 3 группы, получавшей энергетическую добавку, повышение было более значительным $52,07 \pm 0,09$ нМоль/л, однако средних значений нормы показатель не достиг.

К 30 суткам уровень кортизола в крови опустился ниже исходного значения у собак получавших нутрицевтические добавки (рис.16.).

Вероятно, эти данные можно расценивать, как достаточно высокую стресс-устойчивость животных и быстрое формирование приспособительных реакций [42]. Основанием для данного предположения служит снижение напряжения тиреоидного звена регуляции жизнедеятельности организма собак в этот период (рис.17.).

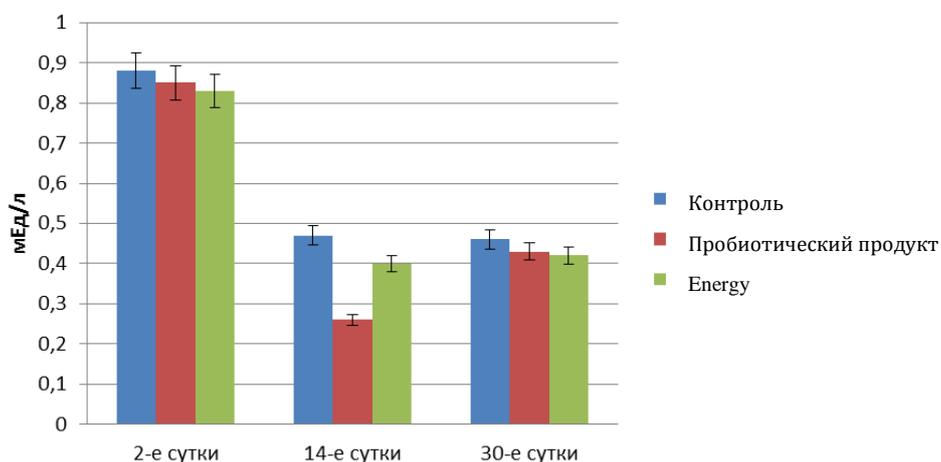


Рисунок 17 – Динамика уровня ТТГ в крови собак 1 подгруппы

При этом значительных различий в изменении содержания ТТГ и Т4 в крови собак контрольной группы и групп получавших пробиотический продукт и энергетическую добавку не было. Для животных трех групп характерно высокое содержание тиреотропного гормона в начале наблюдения, что указывает на вовлечение тиреоидной оси регуляции в ответ на стресс и последующее снижение уровня гормона до верхней границы нормы.

На 14 и 30 сутки пребывания собак в школе содержание ТТГ оставалось практически без изменений, как у собак контрольной группы и получавших кормовую добавку «Energy».

Изменение содержания Т4 несколько отличается у животных разных групп по степени выраженности повышения (рис.18.). Так в контрольной группе животных уровень гормона на 14 сутки повысился относительно 2 суток в 1,5 раза (на 56%) и к 30 суткам стал выше исходного значения в 2 раза.

У собак, получавших пробиотический продукт к 14 суткам содержание Т4 повысилось в 1,7 раза (на 73,6%), однако к 30 суткам снизилось фактически до начального значения.

Наибольшее увеличение изучаемого показателя на 14 сутки (в 2 раза) отмечалось у собак 3 группы, получавших кормовую добавку «Energy» (рис.18.).

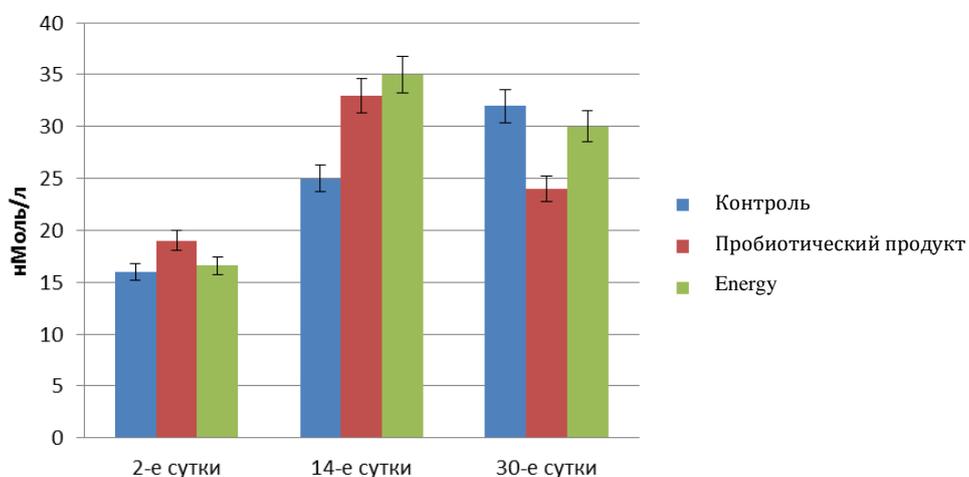


Рисунок 18 – Динамика уровня Т4 в крови собак 1 подгруппы

К 30 суткам содержание Т4 в крови собак этой группы несколько снизилось, но оставалось выше исходного значения на 80%.

Таким образом, полученные результаты показали, что у животных на фоне низкого содержания кортизола, отмечалась активация центрального звена

тиреоидной оси - уровень ТТГ был значительно выше нормальных величин в первые сутки у всех собак этой подгруппы [42].

К 14 суткам уровень ТТГ в крови становится ниже и достигает верхней границы референтного интервала у животных контрольной группы и получавших добавку «*Energy*».

Вместе с тем, у собак 2 группы получавшей пробиотический продукт, снижение уровня ТТГ в крови было самым низким и составляло 30% (рис.17.).

На 30 сутки уровень ТТГ у собак всех 3 групп был практически одинаковым и находился у верхних значений референтного интервала (рис.17.).

Несмотря на очевидное сходство изменений со стороны гипофизарной активности, ответ периферического звена тиреоидной системы был более разнообразным.

Так, у собак контрольной группы на 14 сутки отмечалось повышение уровня Т4 в крови на 56%, а к 30 суткам на 28%, соответственно (рис.18.).

У собак 2 и 3 групп напряжение регуляции со стороны щитовидной железы, было более значительным, что проявилось повышением уровня Т4 на 14 сутки в 2 раза.

К 30 суткам у животных этих групп в отличие от контрольной группы отмечается тенденция к снижению уровня гормона, наиболее достоверная у животных, получавших пробиотический продукт (рис.18.).

На значение тиреоидных гормонов в формировании адаптационных реакций показывает и то, что у собак, получавших пробиотический продукт и «*Energy*», отмечается синхронность изменений активности глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев [42].

3.3.2. Изменение содержания гормонов в крови собак со средним уровнем кортизола при введении кормовой добавки «Energy» и пробиотического продукта на основе *B. subtilis*

Динамика содержания гормонов в крови собак со средними значениями кортизола при адаптации к условиям пребывания в школе представлена в таблице 9.

Таблица 9 – Изменение содержания гормонов в крови собак 2 подгруппы, получавших нутрицевтические добавки, (n=28), M±m

| ГРУППЫ | 1 (Контроль), n=9 | | | 2 (Пробиотический продукт), n=9 | | | 3 (Energy), n=10 | | | норма |
|---|-------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|---------------|
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | |
| гормоны | | | | | | | | | | |
| кортизол (нМоль/л) | 62,2 ±0,14 | 48,0 ±0,18* | 50,40 ±0,09 | 62,8 ±0,08 | 61,99 ±0,14** | 43,29 ±0,1* | 61,6 ±0,09 | 65,26 ±0,09** | 54,25 ±0,08* | 25-175 |
| ТТГ (мЕд/л) | 0,10 ±0,01 | 0,18 ±0,014* | 0,07 ±0,011* | 0,19 ±0,016 | 0,20 ±0,012 | 0,14 ±0,01* | 0,15 ±0,012 | 0,29 ±0,01* | 0,44 ±0,01* | 0,02- 0,45 |
| Т4 общ. (нМоль/л) | 38 ±0,23 | 30 ±0,28* | 46 ±0,18* | 26 ±0,26 | 30 ±0,6 | 26,3 ±0,3 | 31 ±0,23 | 25,0 ±0,18 | 23,7 ±0,14* | 12-52 |
| Примечание: * - достоверные изменения относительно вторых суток, при $p < 0,05$ ** - достоверные изменения относительно контроля, при $p < 0,05$ | | | | | | | | | | |

Изменение содержания в крови кортизола у животных этой подгруппы несколько отличается от такового у животных с низким уровнем гормона.

В 1 (контрольной) группе, секреция кортизола надпочечниками снижается на 22,8 % к 14 суткам, оставаясь без изменения до конца месяца (рис.19.).

У собак из 2 и 3 группы содержание кортизола в крови достоверно не изменялось, однако к 30 суткам отмечалась тенденция к снижению этого показателя, наиболее выраженная у собак 2 группы (на 30%/), в 3 группе животных снижение показателя составило 16,8%. (рис. 19.).

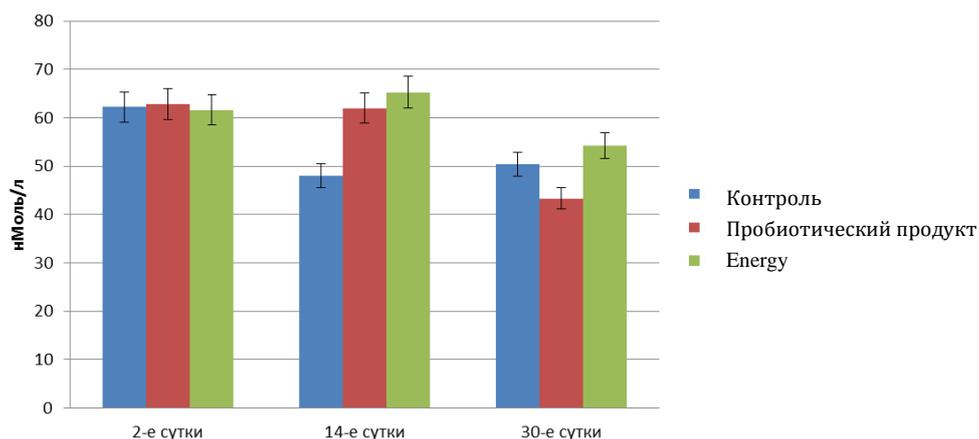


Рисунок 19 – Динамика уровня **кортизола** в крови собак 2 подгруппы

Самое низкое содержание гипофизарного гормона отмечалось у собак 1 группы (контрольной), количество ТТГ в крови этих животных снижалось в течение всего фона наблюдения, приблизившись к нижней границе нормы [15]. У собак 2 группы, получавших пробиотический продукт содержание ТТГ не изменялось в течение первых двух недель, но к 30 суткам его уровень снизился на 26% (рис.20.).

Противоположная направленность изменения содержания ТТГ была у животных 3 группы - содержание гормона у них повышалось до верхней границы референтного интервала (рис.20.). У животных 1 группы на фоне низкого уровня ТТГ повысился уровень Т4 (рис.21.).

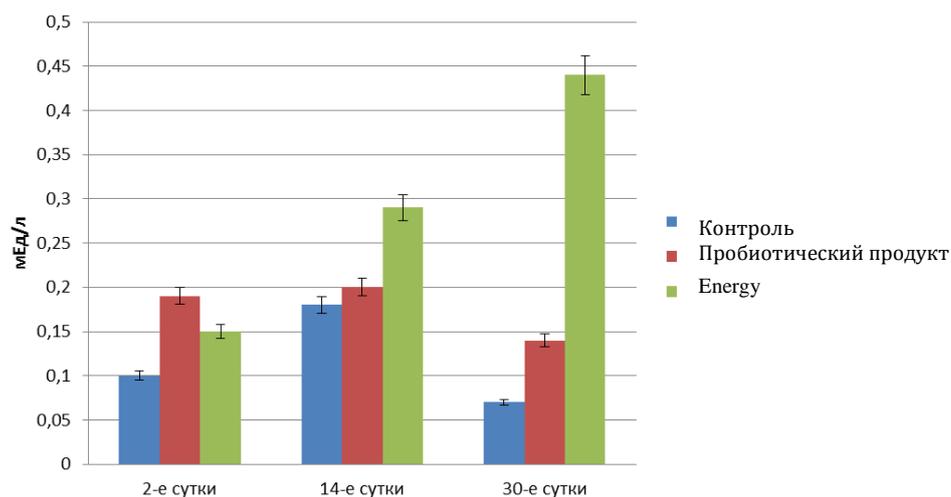


Рисунок 20 – Динамика уровня ТТГ в крови собак 2 подгруппы

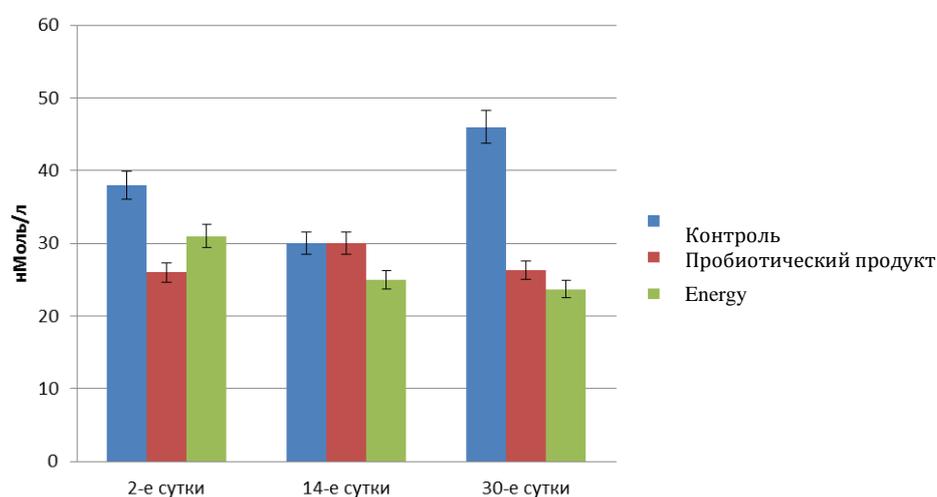


Рисунок 21 – Динамика уровня Т4 в крови собак 2 подгруппы

Как известно, длительное избыточное действие тиреоидных гормонов может привести к истощению коры надпочечников. Это обусловлено тем, что тиреоидные гормоны способны значительно увеличивать секрецию глюкокортикоидов, усиливая превращение кортизола в кортизон и тетрагидрокортизон, которые в метаболических процессах менее активные. Вследствие этого в организме может ощущаться дефицит кортизола даже тогда, когда его синтез усилен. На основании полученных результатов можно отметить, что у животных всех трех групп (контрольной группы, групп получавших пробиотический продукт и кормовую добавку «Energy»)

содержание глюкокортикоидных и тиреоидных гормонов сохранялось в средних пределах нормы до конца эксперимента. Это позволяет предполагать, что сохранение функционального баланса гормональной регуляции при средней норме активности эндокринной системы, обеспечивает формирование высокого адаптационного потенциала и сбалансированности всех видов клеточного метаболизма [42].

3.3.3. Изменение содержания гормонов в крови собак с высоким уровнем кортизола, получавших добавку «Energy» и пробиотический продукт на основе *B. subtilis*

Динамика содержания гормонов в крови собак с высокими значениями кортизола при адаптации к условиям пребывания в школе представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Изменение содержания гормонов в крови собак 3 подгруппы, получавшей нутрицевтические добавки, (n=31), $M \pm m$

| ГРУППЫ | 1 (Контроль), n=10 | | | 2 (Пробиотический продукт), n=10 | | | 3 (Energy), n=11 | | | норма |
|---|--------------------|----------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------------|-------------------|---------------|
| | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | |
| гормоны | | | | | | | | | | |
| кортизол (нМоль/л) | 185,2± 0,53 | 86,9± 0,2* | 23,06± 0,13* | 184,6± 0,6 | 75,6± 0,24* | 89,7± 0,18** | 185,5± 0,65 | 140,3± 0,17** | 122,7± 0,15** | 25-175 |
| ТТГ (мЕд/л) | 0,09± 0,014 | 0,18± 0,01* | 0,31± 0,01* | 0,05± 0,012 | 0,10± 0,01** | 0,15± 0,01** | 0,03± 0,011 | 0,10± 0,01* ** | 0,19± 0,01* ** | 0,02- 0,45 |
| Т4 общ. (нМоль/ л) | 51,5± 0,26 | 44,3± 0,18 | 41,0± 0,2* | 49,2± 0,13 | 45,5± 0,13 | 44,0± 0,36 | 51,0± 0,32 | 47,0± 0,14 | 45,3± 014 | 12-52 |
| Примечание: * - достоверные изменения относительно вторых суток, при $p < 0,05$ ** - достоверные изменения относительно контроля, при $p < 0,05$ | | | | | | | | | | |

Концентрация кортизола в крови этих животных на 2 сутки после заезда в школу составляла в среднем $185,1 \pm 0,53$ нМоль/л, что несколько выше физиологической нормы для собак. Повышение уровня кортизола может быть следствием напряжения адаптационных процессов при действии стрессогенных факторов. На 14 сутки во всех трех группах отмечается существенное снижение концентрации кортизола: в 1 (контрольной) группе на 53%, во 2 группе (получавшей пробиотический продукт) на 59%, в 3 группе (получавшей пищевую добавку «Energy») на 24%, соответственно (рис.22.). На 30 день исследования уровень гормона в крови собак всех 3 групп продолжил снижаться (рис.22.). Наиболее сильное и резкое снижение содержания кортизола к 30 суткам в крови собак 1 и 3 группы, указывает на истощение адаптационного резерва организма этих животных [42].

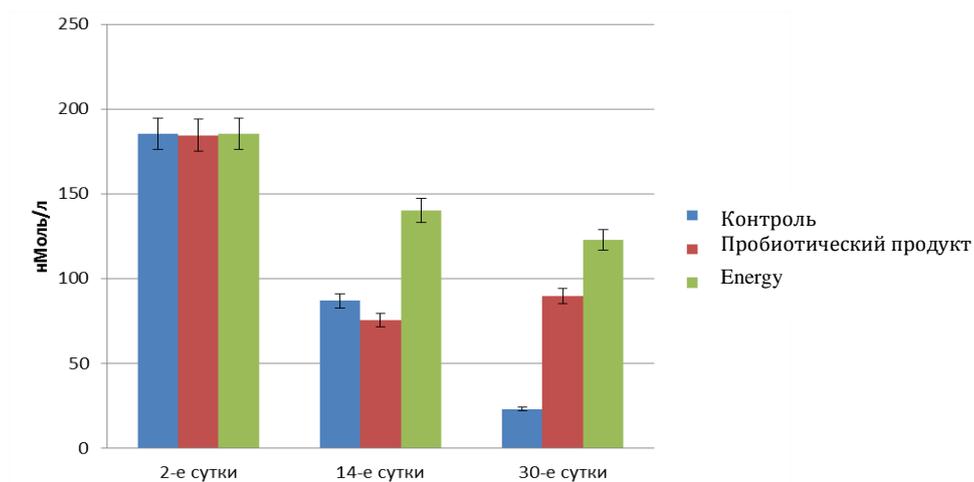


Рисунок 22 – Динамика уровня **кортизола** в крови собак 3 подгруппы

В тоже время, в группе животных, получавших пробиотический продукт, уровень кортизола несколько повысился, оставаясь в пределах физиологической нормы (рис.22.).

Таким образом, полученные результаты указывают, на то, что наиболее неблагоприятная ситуация по количеству кортизола в крови, была у животных из контрольной группы, так как именно здесь было резкое снижение его

уровня, что является следствием истощения глюкокортикоидного звена и приводит к нарушению системы адаптации организма [42].

Концентрация тиреотропного гормона (ТТГ) на 2 сутки у собак всех групп в среднем составляла $0,056 \pm 0,012$ мЕд/л. Уровень ТТГ в крови животных из 1 и 2 групп на 14 день исследования повысился в 2 раза, а в 3 группе (получавшей пищевую добавку «Energy») в 3,3 раз, соответственно (рис. 23.).

На 30 сутки в 1 группе (контрольной) на фоне снижения концентрации кортизола в крови, уровень ТТГ повысился в 1,7 раза, а в 3 группе (получавшей «Energy») показатель повысился в 2 раза. В крови животных получавших пробиотический продукт уровень ТТГ стал выше в 1,5 раза, по сравнению с начальными значениями (рис.23.).

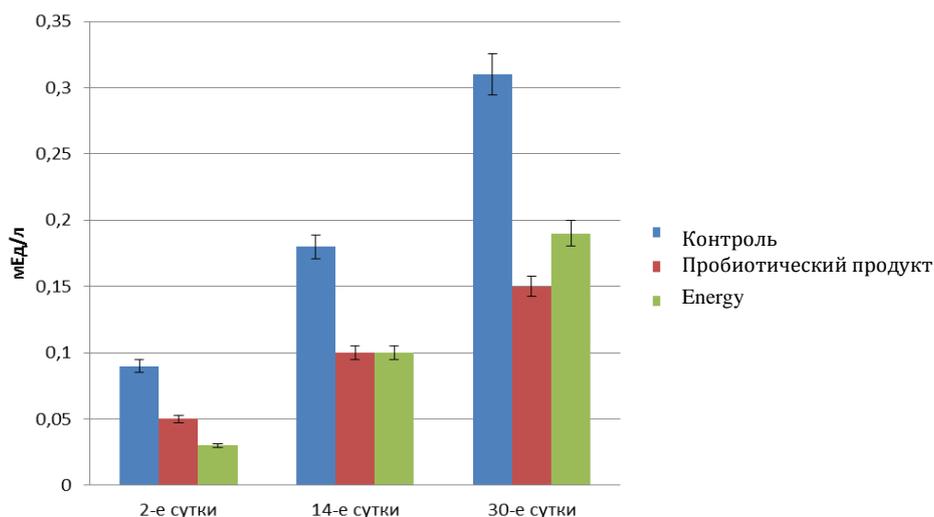


Рисунок 23 – Динамика уровня ТТГ в крови собак 3 подгруппы

Повышение уровня тиреотропного гормона, на фоне снижения концентрации глюкокортикоидов, может являться следствием усиления метаболической регуляции тиреоидного звена, что особенно выражено в 1 и 3 группах. Уровень тироксина (Т4) в крови животных на 2 сутки составлял в среднем $50,56 \pm 0,24$ нМоль/л, что выше физиологической нормы для собак.

На 14 день исследования концентрация тироксина достоверно снизилась в пределах референтных значений у всех собак, оставаясь в этих пределах до конца всего исследования (рис.24.).

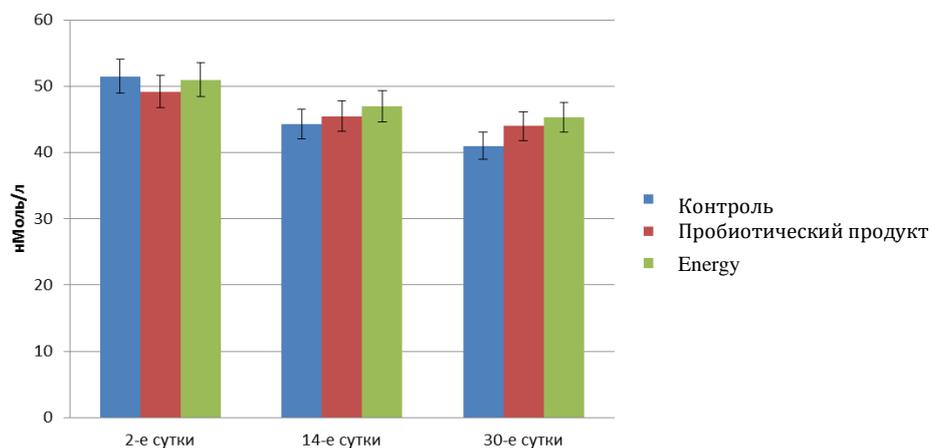


Рисунок 24 – Динамика уровня Т4 в крови собак 3 подгруппы

Также следует отметить, что высокая концентрация тироксина в крови собак 1 (контрольной) группы отмечалась на фоне высокой концентрации ТТГ.

Таким образом, на основании полученных результатов можно отметить, что у животных с изначально высокими показателями кортизола процесс адаптации протекает с большим напряжением гормональной регуляции, что повышает риск срыва адаптации животных в новых условиях. Введение пробиотического продукта и добавки «Energy» способствует поддержанию адаптационного потенциала у собак всех групп.

У животных получавших пробиотический продукт или добавку «Energy» в этой подгруппе в течение исследования происходило наиболее плавное восстановление гормональной регуляции, а также гомеостаза организма в целом, что отчетливо видно по показателям их гормонов в крови [42].

3.4. Влияние пробиотического продукта на основе *B. subtilis* и кормовой добавки «*Energy*» на микрофлору кишечника собак

Случайной выборкой для исследования было отобрано 60 собак. Качественный и количественный состав микробиоты толстого кишечника определяли на 2 и 14 сутки эксперимента.

Животные были разделены на три группы:

1 группа (контрольная) содержалась и кормилась стандартно;

2 группа (опытная) в течение 30 дней получала дополнительно пробиотический продукт на основе *Bacillus subtilis*;

3 группа (опытная) получала одновременно с кормом пищевую добавку «*Energy*».

Исследование микрофлоры толстого кишечника служебных собак было выбрано в качестве маркера стресса.

Адаптогенами для животных попавших в непривычные условия (как резкая смена рациона питания, новая окружающая обстановка и т.д.) были выбраны: пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 и сбалансированная высокоэнергетическая добавка «*Energy*».

Результаты микробиологического исследования содержимого кишечника собак до – и после приема пробиотического продукта и «*Energy*» представлены в таблицах 11 и 12.

В данных таблицах представлены средние значения по количественной оценке микрофлоры толстого кишечника в КОЕ/г и частота обнаружения представителей микрофлоры до и после эксперимента.

Таблица 11 – Количественная характеристика и частота обнаружения (%) микрофлоры толстого кишечника собак контрольной группы и группы получавшей пробиотический продукт

| Микрофлора, КОЕ/Г | | Контроль (n=20) | | | | Пробиотический продукт (n=20) | | | |
|-------------------------------------|----------------|-----------------|-------|---------|---------------|-------------------------------|---------------|-----------|---------------|
| | | Облигатная | норма | 2 сутки | % обнаружения | 14 сутки | % обнаружения | 2 сутки | % обнаружения |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 10^6-10^9 | 10^5 | 100% | 10^5 | 100% | 10^5 | 90% | 10^7 | 100% |
| <i>Bifidobacterium spp.</i> | 10^8-10^{12} | 10^9 | 80% | 10^9 | 90% | 10^9 | 90% | 10^{11} | 100% |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | до 10^3 | 10^2 | 10% | 10^2 | 10% | 10^3 | 30% | 10^2 | 10% |
| <i>Escherichia coli</i> | 10^6-10^7 | 10^6 | 90% | 10^6 | 90% | 10^6 | 90% | 10^6 | 100% |
| Факультативная | | | | | | | | | |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 10^3-10^4 | 10^3 | 50% | 10^3 | 50% | 10^4 | 50% | 10^2 | 50% |
| <i>Staphylococcus saprophiticus</i> | 10^3-10^4 | 10^3 | 40% | 10^3 | 40% | 10^3 | 40% | 10^2 | 30% |
| <i>Proteus spp.</i> | 10^3-10^4 | 10^2 | 20% | 10^2 | 30% | 10^3 | 10% | 10^2 | 10% |
| <i>Clostridium spp.</i> | $0-10^4$ | 10^4 | 80% | 10^4 | 80% | 10^4 | 80% | 10^2 | 70% |
| <i>Candida spp.</i> | 10^6-10^9 | 10^3 | 10% | 10^2 | 0 | 10^2 | 10% | | 0 |

Таблица 12 – Количественная характеристика и частота обнаружения (%) микрофлоры толстого кишечника собак контрольной группы и группы получавшей пищевую добавку «Energy»

| Микрофлора, КОЕ/Г | | Контроль (n=20) | | | | «Energy» (n=20) | | | |
|-------------------------------------|----------------|-----------------|-------|---------|---------------|-----------------|---------------|---------|---------------|
| | | Облигатная | норма | 2 Сутки | % обнаружения | 14 сутки | % обнаружения | 2 сутки | % обнаружения |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 10^6-10^9 | 10^5 | 100% | 10^5 | 100% | 10^6 | 100% | 10^6 | 100% |
| <i>Bifidobacterium spp.</i> | 10^8-10^{12} | 10^9 | 80% | 10^9 | 90% | 10^9 | 90% | 10^9 | 100% |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | до 10^3 | 10^2 | 10% | 10^2 | 10% | 10^2 | 10% | 10^2 | 10% |
| <i>Escherichia coli</i> | 10^6-10^7 | 10^6 | 90% | 10^6 | 90% | 10^6 | 100% | 10^6 | 100% |
| Факультативная | | | | | | | | | |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 10^3-10^4 | 10^3 | 50% | 10^3 | 50% | 10^2 | 20% | 10^2 | 10% |
| <i>Staphylococcus saprophiticus</i> | 10^3-10^4 | 10^3 | 40% | 10^3 | 40% | 10^2 | 40% | 10^2 | 40% |
| <i>Proteus spp.</i> | 10^3-10^4 | 10^2 | 20% | 10^2 | 30% | 10^2 | 10% | 10^2 | 10% |
| <i>Clostridium spp.</i> | $0-10^4$ | 10^4 | 80% | 10^4 | 80% | 10^5 | 100% | 10^4 | 100% |
| <i>Candida spp.</i> | 10^6-10^9 | 10^3 | 10% | 10^2 | 0 | - | 0 | - | 0 |

При первичном исследовании фекалий животных всех групп (2 сутки после заезда в питомник) в 46,6% случаев были выявлены дисбиотические нарушения в облигатном звене микрофлоры. Следует отметить, что для собак отсутствует отраслевой стандарт по дисбактериозу, поэтому результаты исследования сопоставлялись с данными периодической литературы [9;42;43].

По результатам бактериологического исследования фекалий полученных на 2 сутки после заезда животных в питомник, в 1 группе было выявлено 50% собак с формально-нормативными показателями микробиоты, у 50% был выявлен дисбиотический сдвиг. Во 2 группе, было 40% собак без отклонений нормофлоры кишечника и 60% с дисбиотическими нарушениями. В 3 группе – выявлено 30% собак с нарушением облигатного звена микрофлоры толстого кишечника.

У всех собак с дисбиотическими нарушениями, количество кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью варьировало, превысив в некоторых случаях норму в 100 и 1000 раз. Гемолитическую активность *E. coli* регистрировали у собак в 7% случаев, *S. epidermidis* в 3 % случаев. Гемолитические штаммы *E.coli* высевались в количестве 10^4 - 10^7 колониеобразующих единиц на 1г фекалий, *S. epidermidis* – 10^2 - 10^4 КОЕ/г.

Факультативная группа микроорганизмов толстого кишечника была представлена: *Proteus spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida spp.*, *Actinomycetales spp.* (количество данных микроорганизмов у собак не превышало 10^2 - 10^4 КОЕ/г).

В 7% случаев у животных из всех групп в фекалиях были обнаружены дрожжеподобные грибы *Candida spp.* представленные видами: *C.kruzei* и *C.tropicalis* в количестве в количестве 10^2 - 10^3 КОЕ/г соответственно.

Наличие факультативных микроорганизмов *Proteus spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida spp.*,

Actinomycetales spp.) на фоне пониженного содержания представителей облигатной микрофлоры кишечника, таких как бифидо- и лактобактерии, повышает риск возникновения и развития дисбактериоза кишечника [43;62].

Исследование фекалий на 2 сутки показало, что в 53,3% случаев у собак лактобактерии составляли 10^4 - 10^5 КОЕ/г (23,3 % в 1 группе, 13,3% во 2 группе, 16,7% в 3 группе), в 43,3% случаев количество лактобактерий находилось в пределах 10^6 - 10^8 КОЕ/г. По литературным данным, нормой у здоровых собак принято считать количество лактобактерий в пределах 10^6 - 10^9 КОЕ/г соответственно [11;72].

Частота обнаружения лактобактерий в пределах нормы на 2 сутки составляла: в 1 группе 30% случаев, во 2 и 3 группах по 50% случаев (рис.25.).

Второй по численности значимой группой флоры желудочно-кишечного тракта собак являются бифидобактерии. По данным исследований нормой у здоровых собак принято считать количество бифидобактерий в пределах 10^8 - 10^{12} КОЕ/г.

Бифидобактерии высеивали (до применения пробиотика и «Energy») из кишечника 86,7% животных всех групп. Из них в 40% случаев у животных в начале исследования в 1 г содержимого толстого кишечника бифидобактерии присутствовали в количестве 10^6 - 10^8 КОЕ/г соответственно (13,4% в 1 группе; 10% во 2 группе; 16,6% в 3 группе). В 46,7% случаев у собак бифидобактерии были выделены в количестве 10^9 - 10^{11} КОЕ/г (13,3% в 1 группе, 20% во 2 группе, 13,3% в 3 группе). У остальных животных бифидобактерии отсутствовали [43;62].

Частота обнаружения бифидобактерий в пределах нормы на 2 сутки: в 1 и 2 группах была отмечена в 80% случаев, в 3 группе в 90% случаев (рис.25.).

На 14 сутки во 2 группе животных было отмечено достоверное увеличение количества лактобактерий от 10^5 до 10^7 КОЕ/г соответственно. Следует отметить, что количество лактобактерий у животных с дисбиотическими нарушениями (в группе получавшей пробиотический продукт) возросло с 10^4

КОЕ/г до 10^6 - 10^7 КОЕ/г соответственно. В 1-й и 3-й группе показатели практически не изменились (10^4 - 10^5 КОЕ/г).

В 1 и 3 группе значительных изменений на 14 сутки по количеству лактобактерий не отмечали.

Частота обнаружения лактобактерий в пределах нормы на 14 сутки составила: в 1 группе 40% случаев, во 2 группе в 100% случаев, в 3 группе 70% случаев (рис.25.). Следовательно, частота обнаружения лактобактерий в пределах физиологической нормы выросла в 1 группе в 1,3 раза, в 3 группе в 1,4 раза, в то время как во 2 группе (получавшей пробиотический продукт) она возросла в 2 раза (рис.25., рис.26).

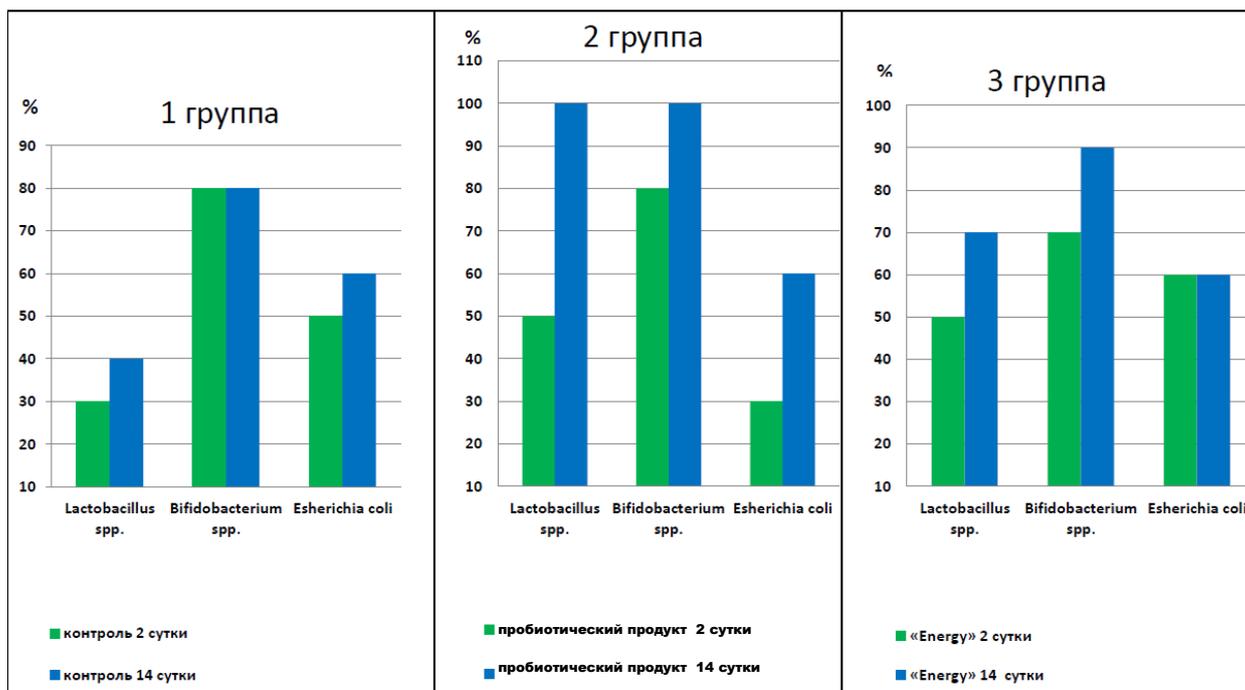


Рисунок 25 – Частота обнаружения облигатной микрофлоры толстого кишечника (в пределах физиологической нормы) в контрольной группе и группе получавшей пробиотический продукт

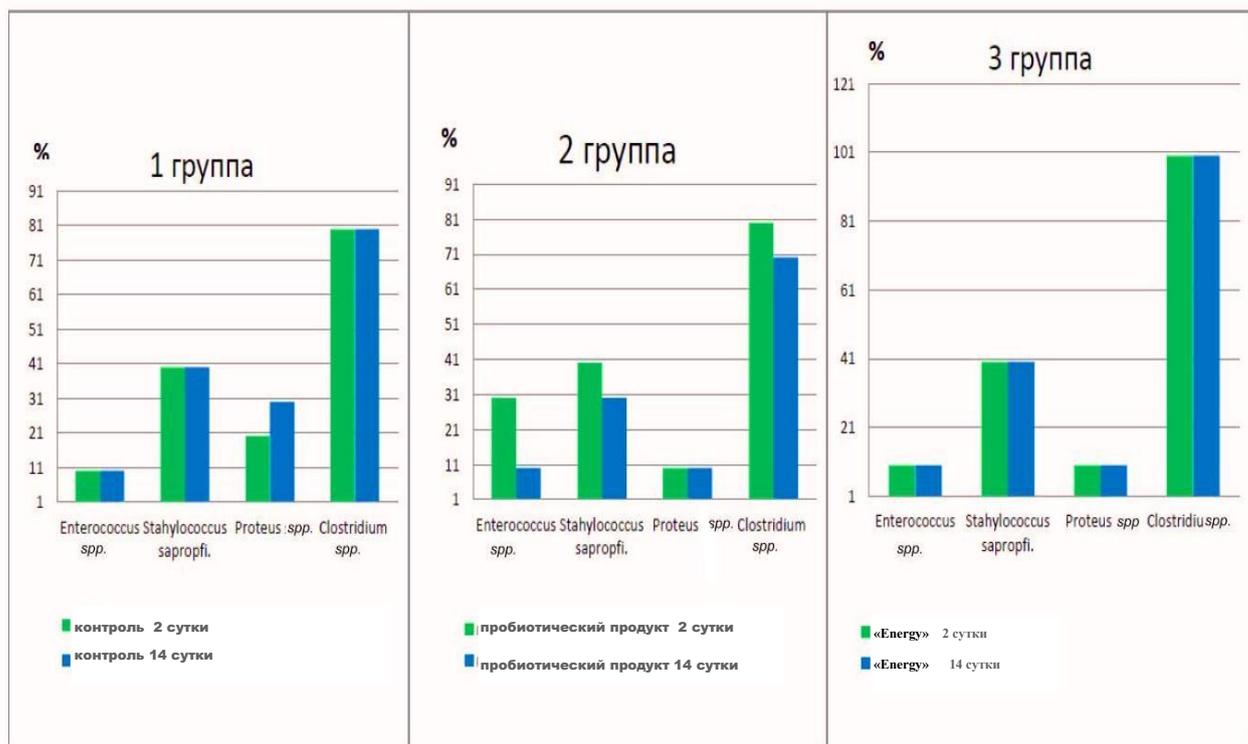


Рисунок 26 – Частота обнаружения факультативной микрофлоры толстого кишечника в контрольной группе и группе получавшей пробиотический продукт

Во 2 и 3 группах, также была отмечена тенденция в сторону увеличения количества бифидобактерий в фекалиях собак (полученных на 14 сутки), количество которых возросло от 10^9 до 10^{11} КОЕ/г соответственно. В 1 группе достоверных изменений не отмечено.

У животных с дисбиотическим сдвигом количество бифидобактерий во 2 группе возросло до 10^9 - 10^{12} КОЕ/г соответственно, в 1 и 3 группе количество бифидобактерий практически не изменилось. На 14 сутки в пределах нормы количество бифидобактерий в 1 группе выявлено в 80% случаев, во 2 группе - 100% случаев, в 3 группе - 90% случаев (рис.25.). Следовательно, частота обнаружения бифидобактерий на 14 сутки возросла во 2 и 3 группе в среднем в 1,3 раза, в то время, как в 1 группе изменений не отмечено.

На 14 сутки во 2 группе отмечено достоверное увеличение количества лакто- и бифидобактерий, а количество, таких представителей факультативных микроорганизмов, как *Enterococcus spp.*, *S. saprophyticus*, *Clostridium spp.* на фоне роста облигатной микрофлоры снизилось (рис.26.). В 1 и 3 группе существенных изменений со стороны факультативной микрофлоры не выявлено (рис. 26.).

Пробиотические бактерии р. *Bacillus* во 2 группе через 14 дней эксперимента высевались в количестве 10^2 - 10^3 КОЕ/г.

Таким образом, экспериментальные данные исследования содержимого кишечника собак через 14 дней после начала приема пробиотического продукта показали, что *Bacillus subtilis* (ВКПМ) В-1895 способствует нормализации микробиоценоза кишечника, подавляет рост таких микроорганизмов как, *Ps. alcaligenes*, гемолитических *E. coli* и *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, грибов рода *Candida*.

У животных 2 группы в фекалиях отсутствовали гемолитические *E.coli*, *S. epidermidis* и *S. aureus*.

Состав микрофлоры толстого кишечника собак после приема пробиотического продукта был представлен в основном лактозопозитивными кишечными палочками и не обладающей гемолизом *E. coli*. Кроме этого из состава микрофлоры высевали культуру пробиотического продукта в количестве 10^2 - 10^3 КОЕ/г.

Доминирующими ассоциантами микробиоты толстого кишечника были бифидо- и лактобактерии, что является косвенным показателем здоровья организма. Также установлено, что у половины собак во 2 группе количество *Clostridium spp.* снизилось в 100 раз, у 30% животных их численность в микрофлоре не изменилась, но была в пределах нормы, у остальных 20% - клостридии отсутствовали [43;62].

Применение пробиотического продукта в определенной мере способствовало улучшению клинических симптомов, что было отмечено и по

внешним признакам: хорошее состояние шерсти, здоровый аппетит, сформированность каловых масс и т.д.

В 1 группе животных состав микрофлоры кишечника к 14 дню исследования оставался практически без изменений. У некоторых здоровых животных этой группы регистрировали кратковременное нарушение пищеварения, тогда как у собак из 2 группы такие отклонения от нормы были менее выраженными. Полученные данные свидетельствуют о положительном эффекте использования пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* (ВКПМ) В-1895 на организм животных с целью коррекции микрофлоры макроорганизма в условиях пищевого стресса в периоде адаптации и возможности применения его кинологаическими подразделениями [43;62].

Пищевая добавка «*Energy*», также может в определенной мере повлиять на количественный состав облигатной кишечной микрофлоры, однако менее выражено, по сравнению с пробиотическим продуктом.

3.5. Показатели биохимического анализа крови собак

Кровь для биохимического анализа была взята у всех собак, участвовавших в исследовании. Изменения биохимических показателей крови у служебных собак в первый месяц адаптации к условиям пребывания в школе служебного собаководства представлены в таблицах 13, 14, 15.

Результаты исследования, полученные на 2 сутки пребывания животных в школе, показали, что у всех собак изучаемые показатели крови не выходили за пределы референтного интервала, однако существенно различались у отдельных особей, что может свидетельствовать о разном уровне адаптационного потенциала.

В начале нашего исследования (на 2 сутки после заезда собак в школу служебно-розыскного собаководства) показатель общего белка в крови всех собак соответствовал средним значениям референтного интервала.

Концентрация общего белка в плазме крови отражает полноценность протеинового питания животных. Следовательно, уровень белка в биохимической картине крови собак в целом свидетельствует о сохранении белкового гомеостаза, который поддерживается умеренным биосинтезом. Подтверждением этому служит концентрация азота мочевины в плазме крови, которая имела в этот период средние значения.

В тоже время было отмечено высокое содержание креатининкиназы в крови собак, которая в среднем составила $261,32 \pm 4,6$ Ед/л превысив референтные значения на 20%.

Вероятно, что сохранение белкового обмена в пределах физиологической нормы у собак на данном этапе обеспечивается интенсификацией энергозатратных процессов, вовлекающих в биохимические реакции фермент креатининкиназу, катализирующую из АТФ и креатина высокоэнергетическое соединение креатинфосфат.

Креатинфосфат интенсивно расходуется организмом, как правило, при увеличении физических нагрузок (основной запас этого фермента находится в сердечной и скелетной мускулатуре).

Несколько высокое содержание билирубина, которое в среднем у собак составило $11,01 \pm 0,66$ ммоль/л, можно считать не критичным для печени, т.к. основные показатели состояния печени, такие как печеночные трансферазы - АЛТ, АСТ и щелочная фосфатаза имеют средние значения у собак в этот период и не выходят за пределы физиологической нормы.

Через 14 дней во всех исследуемых группах была отмечена заметная тенденция к повышению концентрации общего белка плазмы крови, наиболее выраженная у животных в 3 группе, получавшей кормовую добавку «*Energy*» (на 25,4%). Результаты биохимического исследования плазмы крови собак на всех этапах исследования представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Изменения показателей белкового обмена у служебных собак в первый месяц адаптации к условиям пребывания в школе служебного собаководства, ($M \pm m$)

| Группы животных | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | норма |
|---|------------|-----------------|-------------------|---|
| Общий белок, г/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 64,13±0,71 | 74,68 ± 2,81 | 66,24 ± 0,48 | 50-72 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 73,86 ± 1,49* | 66,94 ± 1,14* | |
| 3 (Energy) | | 80,42 ± 1,16 | 71,46 ± 0,37 | |
| Альбумин г/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 30,14±0,46 | 32,2 ± 0,5 | 34,5 ± 0,52 | 31-45 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 30,3 ± 0,31** | 32,71 ± 0,60* *** | |
| 3 (Energy) | | 32,87 ± 0,8* | 34,23 ± 0,43 | |
| Азот мочевины ммоль/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 6,12±0,08 | 4,9 ± 0,26 | 6,25 ± 0,08 | 3,5-9,2 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 4,40 ± 0,24 | 5,67 ± 0,09* | |
| 3 (Energy) | | 4,86 ± 0,5* | 5,55 ± 0,09 | |
| Креатининкиназа Ед/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 261,32±4,6 | 156,74 ± 0,9 | 262,5 ± 3,17 | 8-216 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 212,54 ± 1,9** | 266,9 ± 5,24 | |
| 3 (Energy) | | 166,63 ± 1,25** | 254,75 ± 0,7*** | |
| АЛТ Ед/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 48,4±0,59 | 27,08 ± 1,8 | 57,52 ± 0,74 | 6-70 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 48,65 ± 0,82** | 48,78 ± 0,54*** | |
| 3 (Energy) | | 35,27 ± 0,8** | 43,36 ± 1,32* | |
| АСТ Ед/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 38,1±0,79 | 30,14 ± 0,7 | 43,9 ± 0,65 | 10-43 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 27,0 ± 0,4** | 38,44 ± 1,26 | |
| 3 (Energy) | | 20,17 ± 0,3** | 40,29 ± 0,57* *** | |
| коэффициент де Ритиса (АСТ /АЛТ) | | | | |
| 1 (Контроль) | 0,79±1,3 | 1,1±0,3 | 0,76±0,87 | АСТ/АЛТ < 1 – уровень анаболизма АСТ/АЛТ>1 – уровень катаболизма |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 0,55±0,5 | 0,78±2,3 | |
| 3 (Energy) | | 0,57±0,4 | 0,93±0,4 | |
| Примечание: * - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно 2-х суток; ** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 14-е сутки; *** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 30-е сутки | | | | |

В 1 (контрольной) и во 2 группе собак (получавшей пробиотический продукт), показатели общего белка превышали исходные значения, полученные на 2 сутки на 15,2% и 16,5 % соответственно. На 30 день исследования, содержание общего белка крови собак 1 и 2 группы снизилось до исходных значений, в то время как в 3 группе (получавшей кормовую добавку «Energy») его уровень оставался высоким (рис.27.).

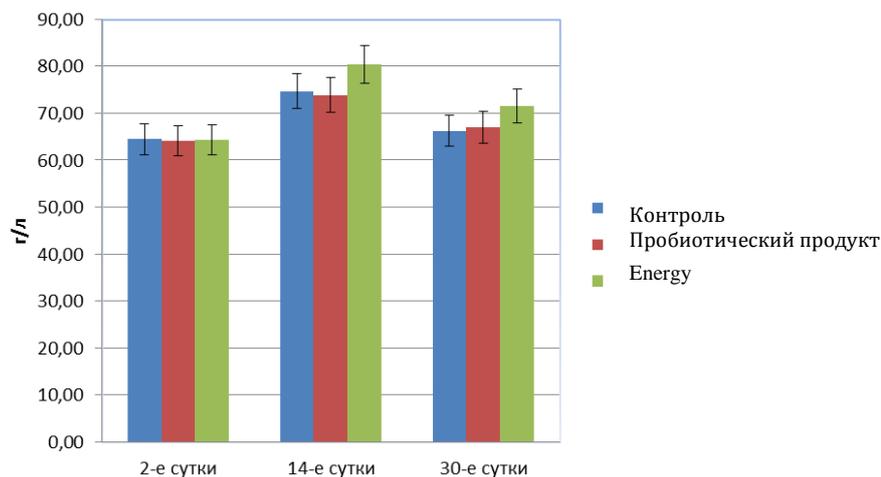


Рисунок 27 – Изменение уровня **общего белка** в плазме крови собак в период адаптации

В литературных источниках отмечается, что физиологические колебания общего белка в сыворотке крови зависят в большинстве случаев от изменения объема жидкой части крови и в меньшей степени от синтеза или потери белка. Вероятно, что перевод собак на сухие корма повлиял на водный баланс организма, который требует соответствующих приспособительных реакций. Однако следует отметить, что снижение уровня белка, на фоне повышения азота мочевины может быть следствием интенсификации белкового обмена [53].

Наиболее выраженные изменения уровня общего белка у собак в 3 группе дает основание предположить, что введение дополнительных липидных компонентов содержащихся в кормовой добавке делает этот процесс более длительным.

Уровень альбумина в плазме крови, являющегося одной из фракций общего белка, на всех этапах исследования находилось в пределах физиологической нормы и значительных различий по этому показателю между группами не отмечалось. Очевидно, что метаболическая адаптация животных к смене рациона питания проходила без использования резервного белка организма [53].

Показатель метаболизма белков - азот мочевины также находился в пределах физиологической нормы на всех этапах исследования у собак во всех трёх группах, однако на 14 день исследования его концентрация была снижена, относительно показателей полученных на 2 сутки. На 30 сутки концентрация азота мочевины в плазме крови животных во всех группах стала возвращаться к исходным значениям (рис.28.).

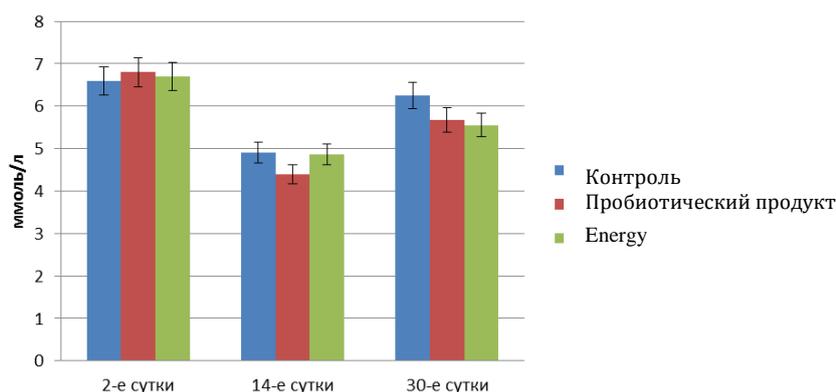


Рисунок 28 – Изменение уровня азота мочевины в плазме крови собак в период адаптации

Таким образом, можно предположить, что сохранение белкового метаболизма в пределах физиологической нормы, обеспечивается интенсификацией энергозатратных процессов, вовлекающих фермент креатининкиназу, обеспечивающую ресинтез АТФ за счет взаимодействия АДФ с креатинфосфатом. На 2 сутки после заезда собак в питомник активность фермента превышала верхние границы референтного интервала на 20% (таб.13). Однако уже на 14 день исследования была отмечена слабо выраженная тенденция к снижению активности фермента креатининкиназы до верхних значений физиологической нормы. У собак 2 группы было отмечено снижение активности фермента на 18,6%, наиболее выраженное снижение отмечено у собак 1 (контрольной) и 3 группы (получавшей добавку «Energy») на 40% и 36,4% с последующим повышением практически до исходных значений на 30 сутки (рис.29.).

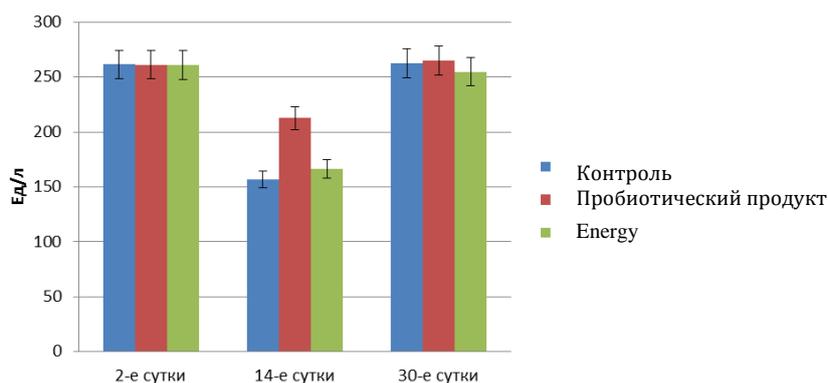


Рисунок 29 – Изменение уровня **креатининкиназы** в плазме крови собак в период адаптации

Наиболее заметные различия между тремя исследуемыми группами животных были установлены по показателям трансаминаз (АЛТ и АСТ). Известно, что трансаминазы являются жизненно необходимыми ферментами для обеспечения углеводного и белкового обмена во всех активно функционирующих тканях организма и являются одними из показателей приспособительных реакций организма. В частности соотношение ферментов АСТ и АЛТ (коэффициент де Ритиса): где АЛТ показывает уровень анаболизма, а АСТ — уровень катаболизма [17;120].

При нормальном обновлении гепатоцитов концентрация АСТ и АЛТ в плазме крови практически одинаковая (30-40 Ед/л), что связано с особенностями выведения АСТ (18 против 36 ч у АЛТ). В тоже время известно, что в организме животных с избыточной массой тела активность и АСТ, и АЛТ повышается, однако в большей степени АЛТ. Все остальные компоненты метаболического синдрома также коррелируют с повышением АЛТ. Более неблагоприятные изменения по трансаминазам были зарегистрированы у собак 1 группы (контрольной).

Активность АЛТ на 14 сутки у них снизилась практически в 2 раза (на 44%) по сравнению со вторыми сутками пребывания в школе с последующим повышением к 30 суткам в 2 раза (на 52%).

В 3 группе животных также были отмечены колебания активности АЛТ, но менее выраженные по сравнению с 1 группой (контрольной). У собак 2 группы, получавших пробиотический продукт активность АЛТ оставалась неизменной в течение всего срока наблюдения (рис.30.).

Очевидно, введение пробиотического продукта на основе *B. subtilis* способствовало сохранению активности метаболизма гепатоцитов за счет продуктов жизнедеятельности симбиотических бактерий кишечника в виде аминокислот и витаминов [53].

Неустойчивая активность АСТ отмечалась у собак всех трех групп, но наиболее выражена у собак 3 группы, получавших добавку «Energy».

Снижение коэффициента де Ритиса на 14 сутки происходит за счет повышенной активности АЛТ, что говорит о преобладании анаболических процессов, наиболее выражено это у собак 2 и 3 группы (рис.31., рис.32.).

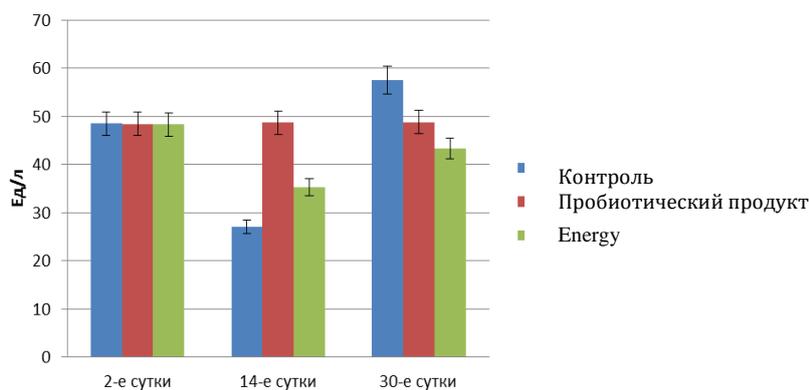


Рисунок 30 – Изменение уровня АЛТ в плазме крови собак в период адаптации

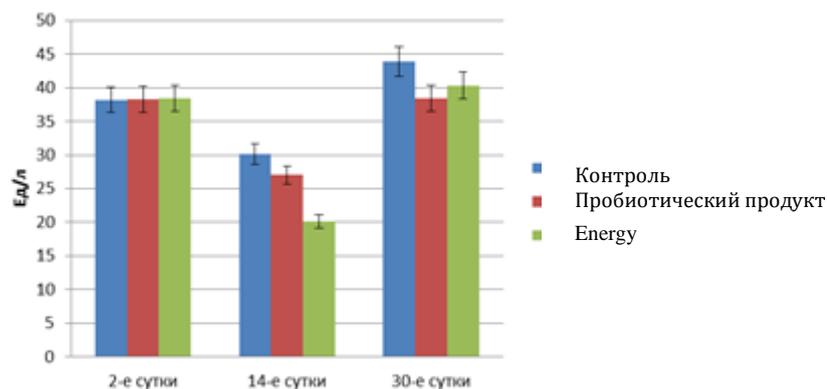


Рисунок 31 – Изменение уровня АСТ в плазме крови собак в период адаптации

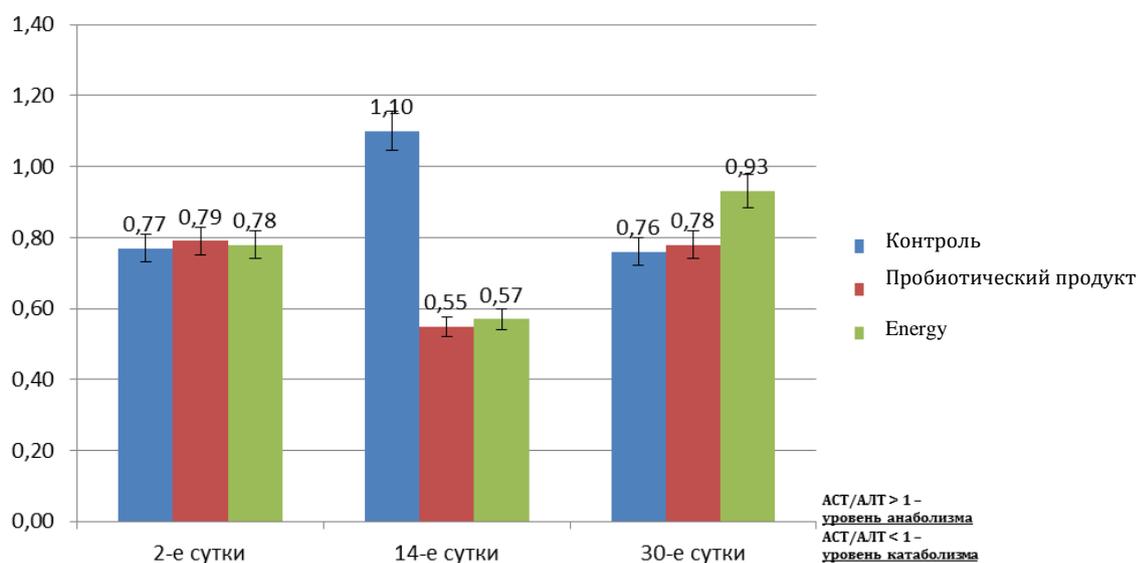


Рисунок 32 – Изменение коэффициента де Ритиса (АЛТ/АСТ) в период адаптации собак

На 30 сутки уровень АСТ и АЛТ во всех группах в целом повышается и выравнивается и не выходит за пределы референтных значений. Коэффициент де Ритиса также немного увеличился, вероятно, это связано с установлением динамического равновесие в обмене веществ в организме собак к этому периоду исследования [53].

Изучение показателей липидного и углеводного обмена также показало существенные различия между группами. Так, содержание триглицеридов в крови животных всех групп в начале исследования имело сдвиг в сторону нижней границы референтного интервала. Результаты исследования липидного и углеводного обменов у собак в первый месяц адаптации представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Показатели липидного и углеводного обмена у служебных собак в первый месяц адаптации в школе служебного собаководства, $M \pm m$

| Группы животных | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | норма |
|--|---------------|-----------------|----------------|----------|
| Глюкоза ммоль/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 3,58 ± 0,06 | 5,91 ± 0,34 | 3,12 ± 0,06 | 3,3-6,38 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 4,76 ± 0,24* ** | 3,39 ± 0,18 | |
| 3 (Energy) | | 3,86 ± 0,05** | 3,24 ± 0,06 | |
| Амилаза Ед/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 696,03 ± 10,4 | 503,04 ± 7,7 | 809,25 ± 8,3 | 350-1650 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 522,57 ± 6,9 | 745,36 ± 9,4* | |
| 3 (Energy) | | 477,86 ± 3,3** | 740,28 ± 5,3* | |
| Триглицериды ммоль/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 0,55 ± 0,02 | 0,56 ± 0,05 | 0,6 ± 0,02 | 0,2-1,3 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 0,45 ± 0,02* ** | 0,5 ± 0,01* | |
| 3 (Energy) | | 0,61 ± 0,04 | 0,52 ± 0,02*** | |
| Холестерин ммоль/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 5,04 ± 0,15 | 5,26 ± 0,24 | 5,94 ± 0,08 | 2,9-6,5 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 5,44 ± 0,29 | 6,31 ± 0,09*** | |
| 3 (Energy) | | 5,24 ± 0,43 | 6,16 ± 0,04*** | |
| Примечание: | | | | |
| * - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно 2-х суток; | | | | |
| ** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 14-е сутки; | | | | |
| *** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 30-е сутки | | | | |

У собак 1 группы этот показатель оставался практически без изменений в течение всего исследования. На 14 день исследования во 2 группе отмечалось снижение уровня триглицеридов в плазме крови, в то время, как у животных из 3 группы этот показатель повысился. На 30 день исследования у собак во 2 группе (получавших пробиотический продукт) уровень триглицеридов повысился до исходного значения, а у собак в 3 группе (получавших «Energy») отмечалось снижение уровня триглицеридов почти до исходного значения. Это дает нам основание полагать, что данный пул липидов используется как основной энергетический субстрат в первые дни адаптации, но, дальнейшее вовлечение триглицеридов в адаптационные механизмы существенно зависит от количества липидов в рационе питания собак. Очевидно, что дополнительное поступление жиров с пищей требует адаптации ферментов пищеварительной системы собак.

Концентрация холестерина в плазме крови собак всех трех групп мало отличалась и практически не менялась в течение месяца, однако этот показатель оставался достаточно высоким и приближался к верхней границе

референтных значений. Очевидно, в период адаптации собак разных групп к условиям школы клеточный обмен протекал с разной степенью вовлечения углеводных субстратов, на что указывает последующая различающаяся динамика. Концентрация глюкозы в плазме крови собак на 2 сутки приближался к нижней границе референтного интервала, что, может быть связано с активным поглощением ее молекул клетками тканей. Последующая динамика глюкозы в группах различалась. Так, в 1 группе к 14 суткам уровень глюкозы приблизился к верхней границе референтного интервала, что, согласно литературным данным [31], можно расценивать как напряжение адаптационного потенциала собак в этот период. Во 2 группе (получавшей пробиотический продукт) уровень глюкозы также стал выше исходного на 33 %, но соответствовал средним значениям физиологической нормы. У животных 3 группы уровень глюкозы оставалось практически без изменения в течение всего месяца [53].

Вероятно, значительное содержание энергетических компонентов в кормовой добавке «*Energy*» поддерживает использование углеводов в энергетическом обмене на постоянном уровне, тогда как в 1 и 2 группах животных, вовлечение углеводов в энергетический обмен зависит от степени адаптационного напряжения.

Активность фермента щелочной фосфатазы (таблица 15) на 2 сутки после заезда в школу была в пределах средних значений физиологической нормы. Однако на 14 сутки было отмечено резкое понижение ее активности у собак 1 и 2 группы (на 63% и 37% соответственно).

В 3 группе показатель также незначительно снизился (на 22%), однако относительно других групп он был самым высоким. На 30 сутки отмечалось резкое повышение активности фермента щелочной фосфатазы в плазме крови животных 1 группы, которая достигла верхней границы референтных значений.

Вероятно, это связано с усилением катаболизма углеводов и направленностью аминокислотно-белкового обмена в сторону анаболических

процессов. К исходным значениям вернулась активность щелочной фосфатазы в плазме крови собак 2 и 3 группы (таблица 15).

Фермент щелочная фосфатаза может служить маркером, отражающим состояние цитоплазматических мембран. Увеличение активности щелочной фосфатазы служит показателем, отражающим структурные и функциональные перестройки в мембранном аппарате клеток. Вполне очевидно, что умеренная активация фермента к концу месяца является следствием благоприятного течения адаптации животных к новым условиям содержания и структуре питания во 2 и 3 группе [53].

Таблица 15 – Показатели щелочной фосфатазы и билирубина

| Группы животных | 2 сутки | 14 сутки | 30 сутки | норма |
|---|--------------|---------------|----------------|----------|
| Щелочная фосфатаза Ед/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 54,33 ± 0,5 | 25,13 ± 0,5 | 76,48 ± 0,48 | 8-76 |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 34,6 ± 0,3** | 54,18 ± 0,65 | |
| 3 (Energy) | | 43,00 ± 0,5** | 57,83 ± 0,4 | |
| Билирубин общий ммоль/л | | | | |
| 1 (Контроль) | 11,01 ± 0,66 | 5,18 ± 0,2 | 5,84 ± 0,05 | 0-10,26. |
| 2 (Пробиотический продукт) | | 2,7 ± 0,04** | 5,39 ± 0,13*** | |
| 3 (Energy) | | 4,28 ± 0,54 | 5,82 ± 0,09 | |
| Примечание: * - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно 2-х суток; ** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 14-е сутки; *** - уровень значимости критерия достоверности $P < 0,05$ относительно контроля на 30-е сутки | | | | |

Общий билирубин в начале исследования находился у верхней границы референтного интервала. Вероятно это связано с изменением активности метаболизма гепатоцитов, в следствие перевода собак на сухой корм. На 14 сутки концентрация билирубина резко снизился во всех трех групп и приближается к средним значениям в 1 и 3 группе, тогда как во 2 группе этот показатель приблизился к минимальным значениям. На 30 день исследования концентрация билирубина практически не изменилась, за исключением 2 группы, где показатель приблизился к средним значениям физиологической нормы. Значимых различий между группами на 30 сутки отмечено не было [53].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время показатели крови как морфологические, так и биохимические используются в качестве индикатора функционального состояния организма и его взаимодействия с окружающей средой. Наряду с этим все больше внимания уделяется микробиому кишечника, поскольку эндогенный биоценоз организма может меняться под действием процессов обеспечивающих адаптацию организма к факторам окружающей среды [54]. Эти представления легли в основу нашего исследования.

По данным авторов (Гаркави Л.Х., Квакиной Е.В, Уколовой М.А., 1990) универсальным показателем адаптивного гомеостаза является лейкоцитарная формула крови, в которой отражены основные тенденции качественных и количественных компенсаторных реакций организма в различные периоды. Именно поэтому, в качестве индикаторного показателя типа адаптационной реакции, исследовалась лейкоцитарная формула крови.

На основании полученных результатов было установлено, что использование пробиотического продукта на основе *B. subtilis* в период адаптации способствует переходу организма собак из состояния близкого к стрессовому к наиболее благоприятным для организма состояниям, таким как, тренировка или спокойная активация, характеризующиеся высокой активностью, спокойствием, низкой тревожностью, низкой агрессивностью, хорошим сном и аппетитом, а также высокой работоспособностью. Такая реакция отмечалась у 65% собак 2 группы на 14 сутки и у 69% собак на 30 сутки.

Доля реакции стресс (С) на 30 сутки выявлялась в группах со следующей частотой: 1 группа в 10,7% случаев, 2 группа в 6,89% случаев, 3 группа в 10,34% случаев.

Доля активационных реакций (СА и ПА) на 30 сутки составила: в 1 группе 46,4% случаев, во 2 группе 48,28% случаев, в 3 группе уровень данных реакций

отмечен в 58,61% случаев. Коэффициент Ас/С на 30 сутки составил: в 1 группе 8,34%, во 2 группе 13,5%, в 3 группе 8,67%.

Таким образом, коэффициент Ас/С во 2 группе оказался в 1,6 раза выше чем в остальных группах, что указывает на преобладание антистрессовых реакций над стрессом у животных получавших пробиотический продукт. Наибольшее количество животных с реакциями: спокойная, повышенная активация и тренировка, являющихся наиболее благоприятными для организма отмечались на 30 сутки во 2 и 3 опытных группах. Это показывает, что нутрицевтические добавки повышали резистентность организма собак этих групп, при этом наиболее плавное течение адаптации отмечалось во 2 группе, получавшей пробиотический продукт. В 1 (контрольной) группе к концу исследования, большинство животных все еще находилось в стадии стресса, а коэффициент Ас/с был самым низким.

Следовательно, нутрицевтические добавки (пробиотический продукт и «*Energy*») можно использовать для профилактики стресса и поддержания антистрессовых реакций организма, как неспецифической основы повышения резистентности к высоким нагрузкам, которым подвергаются служебные собаки.

Исследование уровня гормонов в крови собак в период адаптации показало, что при снижении секреции корой надпочечников - кортизола, ведущую роль в формировании адаптационных реакций берут на себя тиреоидные гормоны, что приводит к напряжению этого звена регуляции.

Однако, следует подчеркнуть, что введение в рацион собак с низкой адренкортикотропной активностью пробиотического продукта или пищевой добавки «*Energy*», снижает степень напряжения гипофизарно-тиреоидного звена, активируя глюкокортикоидное звено, чего не отмечалось в контрольной группе. Подгруппа животных с изначально средними значениями кортизола оказалась более приспособленной к воздействию неблагоприятных факторов (смене рациона питания и окружающей обстановки), поэтому в целом не

попала в группу риска в отличие от 1 и 3 подгруппы. У всех животных 2 подгруппы содержание гормонов в крови сохранялось в средних пределах физиологической нормы до конца эксперимента. Это позволяет предполагать высокую эффективность пластических реакций и достаточную сбалансированность всех видов клеточного метаболизма у собак с функциональной уравновешенностью гормональной регуляции [41].

Первичная активация гипоталамо-гипофизарно-адренкортикоидной и гипофизарно-тиреоидной систем у всех животных (на начало исследования) была связана с первой стадией общего адаптационного синдрома («реакция тревоги по Г.Селье, 1977 г.») [44], что можно заметить по синергическому повышению функциональной активности обеих осей. Наиболее отчетливо это прослеживается в подгруппе собак с изначально высоким уровнем кортизола (в частности во 2 и 3 группе). На 14 сутки животные из 2 и 3 группы переходят в следующую стадию стабилизации показателей – «реакцию резистентности», которая характеризуется снижением функционального напряжения надпочечниковой оси, проявляющегося более низким содержанием кортизола в крови животных. В 1 группе также отмечается снижение активности тиреоидной оси, однако оно происходит синхронно со снижением активности коры надпочечников, о чем свидетельствует снижение уровня кортизола в крови. Следует отметить, что у собак 1 группы на фоне истощения глюкокортикоидного звена регуляции, повышается тиреоидная активность и в качестве основного звена регуляции выступают гормоны щитовидной железы.

Характеристика изменений содержания тироксина в крови собак позволяет предполагать, что периферическое звено тиреоидной оси является ведущим звеном в формировании адаптации к действию основного стрессора в начальный период адаптации - пищевого фактора, обусловленного сменой рациона питания.

Таким образом, можно говорить о том, что в первый месяц пребывания в школе у собак формируются адаптационно-приспособительные реакции к

стрессорным факторам, среди которых пищевой фактор по нашему мнению, является ведущим. Количество Т4 в крови животных на 2 сутки во всех трех группах приближается к верхней границе нормы. На 14 сутки уровень Т4 несколько снижается у всех собак, оставаясь в этих пределах до 30 суток, при этом значительной разницы между группами не было. Стоит отметить, что в группах животных получавших пробиотический продукт и добавку «Energy» с изначально высокими показателями кортизола отмечается положительное восстановление гормонального звена резистентности. Что касается животных контрольной группы, то у них уровень кортизола изменялся в течение всего исследования. Исследования Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. (2002), также показали, что стадия истощения хронического стресса протекает волнообразно и характеризуется скачкообразным изменением уровня глюкокортикоидов, т.е. признаки истощения секреции глюкокортикоидов то нарастают, то уменьшаются [4;7;8].

Таким образом, наши данные позволили установить, что различная выраженность изменения содержания основного стресс-адаптирующего гормона кортизола у собак подчеркивает значимость гормональной регуляции организма животных в период адаптации и указывает на необходимость создания технологии повышения адаптационного потенциала, ориентированного на индивидуальные особенности организма.

Результаты исследования показали, что животные с высоким содержанием кортизола хуже адаптируются к смене питания, что свидетельствует о необходимости профилактики адаптационного износа их организма.

Нами были получены положительные результаты при введении в корм пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 и добавки «Energy», способствовавшие восстановлению и поддержанию функциональной активности гипофизарного и надпочечникового звеньев системы регуляции у собак с изначально высокими значениями кортизола [41].

Одним из главных компонентов кормовой добавки «*Energy*» оказался *L*-карнитин, который по данным литературных источников способен сокращать клинические проявления когнитивных расстройств у собак вызванных стрессогенными факторами среды. Так, по данным авторов, собаки, получавшие рацион, обогащенный карнитином, демонстрировали более высокие спортивные результаты, чем собаки из контрольной группы [31]. Очевидно, что и в нашем случае данный компонент оказал свой положительный эффект на собак в состоянии стресса, что можно проследить в подгруппах животных при исследовании уровня гормонов в плазме крови.

Результаты биохимических исследований показали, что в начальный период адаптации животных к смене рациона питания и условиям содержания биохимические показатели плазмы крови у всех собак не выходили за пределы референтных значений, однако существенно различались у отдельных особей, что может свидетельствовать о разном уровне адаптационного потенциала в этот период. На 14 сутки во всех трех группах была отмечена тенденция к повышению общего белка, наиболее выраженная у животных 3 группы, что обусловлено активизацией пластического обмена связанного с накоплением белка в организме, на фоне снижающегося азота мочевины (показателя уровня распада белков). В литературных источниках указывается, что повышение концентрации общего белка в плазме крови может быть связано со многими факторами: 1) снижением уровня жидкости в крови; 2) увеличением количества белков участвующих в транспорте молекул различных веществ, в том числе за счет альбуминовой фракции; 3) за счет белков острой фазы воспаления; 4) увеличение физических нагрузок на организм. Очевидно, в нашем случае все эти факторы сыграли определенную роль в белковом обмене собак в ранние сроки адаптации к условиям содержания в школе служебного собаководства. На 30 сутки концентрация белка в 1 и 2 группе снижается до исходных значений, что может быть обусловлено адаптацией животных к новому питанию и ежедневным физическим нагрузкам во время тренировок.

Наиболее высокое содержание белка в 3 группе, вероятно, связано с введением в рацион этих животных пищевой добавки «*Energy*», дающей дополнительные липидные компоненты, расходующиеся на энергетические затраты, в силу чего восстановление прежнего уровня белка становится более длительным. В тоже время, входящий в состав добавки «*Energy*» *L*-карнитин, обладает анаболическим эффектом, проявляющимся в повышении секреции и ферментативной активности желудочного и кишечного соков, в связи, с чем повышается усвояемость пищи, в частности белка.

Таким образом, поступление *L*-карнитина привело к снижению основного обмена, замедляющего распад белковых и углеводных молекул у собак 3 группы [6]. Уровень альбумина в плазме крови всех групп в течение исследования, находился в пределах физиологической нормы и существенных различий, не отмечалось, как между группами, так и на разных этапах наблюдения. Следовательно, можно полагать, что метаболическая адаптация собак к смене рациона питания проходила без использования резервного белка организма. Вероятно и то, что сохранение белкового обмена в пределах физиологической нормы обеспечивалось интенсивными энергозатратными процессами, вовлекающими в биохимические реакции креатинкиназу, катализирующую из АТФ и креатина высокоэнергетические соединения, а также активизацией процесса гликолиза.

На 2 сутки после заезда собак в питомник школы, активность фермента креатининкиназы превышала верхнюю границу референтного интервала на 20%, но на 14 сутки в энергетический процесс интенсивно включились липидный и углеводный обмен. На фоне этого была отмечена слабая, но все же выраженная тенденция к снижению активности креатининкиназы до верхней границы нормы.

Неблагоприятная обстановка по активности аминотрансфераз была зарегистрирована в 1 (контрольной) группе, наиболее резким было изменение активности АЛТ, которая снизилась на 14 сутки почти в 2 раза и стала

возвращаться к нормальным значениям лишь к 30 суткам. У животных 2 группы, получавших пробиотический продукт, активность АЛТ оставалась неизменной в течение всего наблюдения. Очевидно, что введение пробиотического продукта на основе *B.subtilis* способствовало сохранению активности метаболизма гепатоцитов за счет продуктов жизнедеятельности симбиотических бактерий кишечника в виде аминокислот и витаминов. В 3 группе получавших добавку «*Energy*», также отмечалось колебание активности АЛТ, но менее выраженное по сравнению с контрольной группой.

Известно, что при нормальном обновлении гепатоцитов концентрация АСТ и АЛТ в плазме крови практически одинаковая (30-40 Ед/л), что связано с особенностями выведения АСТ (18 ч против 36 ч у АЛТ). В тоже время известно, что в организме животных с избыточной массой тела активность и АСТ, и АЛТ повышается, однако в большей степени АЛТ. Все остальные компоненты метаболического синдрома также коррелируют с повышением АЛТ. Нестабильная активность АСТ отмечалась у собак всех трех групп, но наиболее выражена у собак 3 группы, получавших добавку «*Energy*». Согласно литературным данным изменение показателей аминотрансфераз и креатининкиназы в ту или иную сторону может быть следствием изменения белкового обмена или физической активности животных. При действии стресс-факторов также отмечается активация АЛТ или АСТ, что способствует стимуляции глюконеогенеза и перераспределению энергетических ресурсов организма в сторону компенсаторно-приспособительных реакций. В нашем случае оба этих фактора могли повлиять на активность изучаемых ферментов, что подтверждается результатами исследования липидного и углеводного обмена. Так, содержание триглицеридов в крови собак всех групп в начале исследования имело сдвиг в сторону нижней границы референтного интервала, следовательно, триглицериды активно использовались для энергии. У собак контрольной группы этот показатель оставался практически без изменений в течение всего исследования. На 14 день исследования у животных во 2 группе

отмечалось снижение уровня триглицеридов в плазме крови, в то время, как у собак в 3 группе отмечалось их повышение. На 30 день во 2 группе (получавших пробиотический продукт) уровень триглицеридов повысился до исходного значения, а в 3 группе (получавших кормовую добавку «*Energy*») отмечалось снижение показателя почти до исходного уровня. Это дает нам основание полагать, что данный пул липидов используется как основной энергетический субстрат в первые дни адаптации, но дальнейшее вовлечение триглицеридов в адаптационные механизмы существенно зависит от количества липидов в рационе питания собак.

Концентрация глюкозы в плазме крови собак на 2 сутки приближался к нижней границе референтного интервала, что связано с активным поглощением ее молекул клетками тканей для восполнения энергозатрат организма. Последующая динамика содержания глюкозы в группах различалась. Так, в контрольной группе к 14 суткам уровень глюкозы приблизился к верхней границе референтного интервала, что, согласно литературным данным [98], можно расценивать как напряжение адаптационного потенциала животных в этот период. Во 2 группе получавшей пробиотический продукт, уровень глюкозы также стал выше исходного на 33 %, но соответствовал средним значениям физиологической нормы. В 3 группе значимых изменений отмечено не было. Следовательно, введение в рацион собак пробиотического продукта и кормовой добавки «*Energy*», способствовало более рациональному вовлечению углеводов в обеспечение энергетических ресурсов организма при адаптации к новым условиям.

Полученные результаты дают основание предполагать, что изменение рациона питания собак в первый месяц пребывания в школе приводит к незначительному дефициту энергии, что связано с необходимостью адаптации ферментов пищеварительной системы к изменению количества и качества субстратов расщепления. Дополнительное ведение «*Energy*» привело к незначительному напряжению липидного обмена у собак, однако четкого

превышения анаболических реакций над катаболическими реакциями с активным использованием белковых субстратов отмечено не было. Биохимические показатели крови собак, в рацион которых входил пробиотический продукт изменяются в меньшей степени, чем у собак контрольной группы и группы получавшей кормовую добавку «*Energy*», что указывает на возможность ее применения в качестве адаптогена в служебной кинологии.

Состав микробиоценоза организма, также является важным интегрирующим показателем состояния организма в соответствующий период.

Ещё в начале XX века И.И. Мечников отметил, что причиной многих заболеваний может являться изменение состава кишечной флоры. Он предложил использовать кисломолочные продукты для омоложения и продления жизни и обосновал благоприятное влияние лактобактерий на микрофлору и двигательную активность пищеварительного тракта. В исследованиях Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. (2002) при изучении развития стресс-реакций также проводились бактериологические исследования, но не кишечника, а кожных покровов и отмечали изменения ее состава в зависимости от напряжения организма. Результаты исследования авторов показали, что микрофлора может служить индикаторным показателем всех процессов происходящих в организме собак.

Данные нашего исследования показали, что у собак при стрессе изменяется состав микрофлоры, а использование пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 способствует ее восстановлению. Однако, процесс восстановления нормофлоры требует времени, поэтому конечный эффект, полученный при применении пробиотического продукта менее быстрый, чем при использовании адаптогена в виде пищевой добавки «*Energy*». На основании этого пробиотические продукты можно рекомендовать применять в качестве профилактических средств с нутрицевтическим эффектом

воздействия на организм, а добавку «*Energy*» - при непосредственном воздействии стрессорных факторов на организм служебных собак.

Рекомендации, основанные на полученных нами данных, указывают на следующий положительный эффект при приеме пробиотического продукта на основе *B. subtilis* :

Во-первых, введение в рацион питания пробиотического продукта не оказывало отрицательного воздействия на показатели обмена веществ в плазме крови животных во время адаптации к условиям школы. Биохимические показатели крови изменялись не так сильно и являлись более стабильными по сравнению с показателями крови собак других групп;

Во-вторых, пробиотический продукт на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 оказал положительное влияние на сигнальный показатель адаптационных реакций – лейкоцитарную формулу крови, в частности на процентное содержание лимфоцитов, что говорит о том, что его можно использовать с целью повышения неспецифической резистентности организма животных;

В-третьих, использование пробиотического продукта в период адаптации способствует более быстрому переходу организма собаки из состояния, близкого к стрессовому, к наиболее благоприятному для организма состоянию спокойной, повышенной активации, тренировки, которые характеризуется высокой активностью, спокойствием, низкой тревожностью, низкой агрессивностью, хорошим сном и аппетитом, а также хорошей работоспособностью;

В-четвертых, по результатам проведенного микробиологического исследования фекалий, нами были получены данные, показывающие возможность применения пробиотического продукта на основе *B. subtilis* для коррекции и восстановления микрофлоры кишечника у собак. До применения пробиотического продукта у значительного большинства животных отмечалось нарушение баланса кишечной микрофлоры со смещением в сторону повышения факультативных микроорганизмов [43;113;62]. Состав

микрофлоры кишечника после приема пробиотического продукта был представлен в основном полноценной в ферментативном и количественном отношении кишечной палочкой, культурой пробиотического продукта, доминирующее положение занимали, такие представители облигатной микрофлоры кишечника, как бифидо- и лактобактерии, что является косвенным показателем здоровья организма [113].

Очевидно, положительное действие на организм собак пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 обусловлено биосинтезом аминокислот и витаминов симбиотическими бактериями в кишечнике, а также адгезией на стенке кишечника, что приводит к вытеснению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Таким образом, правильный подбор метода алиментарного воздействия на организм может иметь если не решающую, то, во многом, определяющую роль в поддержании здоровья служебных собак.

ВЫВОДЫ:

1. При изменении условий содержания и рациона собак, состав лейкоцитов в крови изменялся в сторону повышения общего числа сегментоядерных нейтрофилов до верхних границ физиологической нормы, при снижении количества лимфоцитов до нижней границы физиологической нормы. При введении пробиотического продукта коэффициент Ас\С увеличился в 3,5 раза за счет повышения числа лимфоцитов в крови этих собак.

2. Функциональное взаимодействие глюкокортикоидного и тиреоидного звена гуморальной регуляции определяло характер адаптации собак и эффективность нутрицевтического воздействия.

У собак с низким и средним уровнем содержания глюкокортикоидов адаптация протекала за счет повышения активности как глюкокортикоидного, так и тиреоидного звеньев регуляции. Введение пробиотического продукта и добавки «Energy» не влияло на межгормональные связи.

У собак контрольной группы с высоким уровнем кортизола, составляющим в среднем $185,1 \pm 0,53$ нМоль/л, происходит снижение его секреции ниже нормы до $23,06 \pm 0,13$ нМоль/л к 30 суткам и повышение секреции тиреотропина до верхней границы референтных значений. Введение пробиотического продукта и «Energy» способствовало сохранению уровня кортизола в пределах физиологической нормы в течение 30 суток.

3. При адаптации собак к условиям питомника и рациону на фоне низкой активности углеводного обмена катаболизм белков преобладал над анаболизмом (повысился коэффициент де Ритиса). Введение пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 способствовало сохранению белкового и углеводного обмена в пределах физиологической нормы, анаболические процессы преобладали над катаболическими по показателям коэф. де Ритиса в течение 30 суток.

4. Введение пробиотического продукта на основе *B. subtilis* поддерживало микробиоценоз кишечника собак, подавляло рост факультативных микроорганизмов: *Ps. alcaligenes*, гемолитических *E. coli* и *S. epidermidis*, *S. saprophiticus*, *S. epidermidis*, грибов рода *Candida*, что способствовало снижению напряжения адаптационных процессов.

5. При использовании кормовой добавки «Energy» состав факультативной микрофлоры кишечника не изменяется и положительные эффекты добавки при низком адаптационном потенциале животных носят кратковременный характер, основанные на содержании высокоэнергетических субстратов и антиоксиданта *L*-карнитина.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ:

1. На основании полученных результатов можно рекомендовать пробиотический продукт на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 и кормовую добавку «*Energy*» производства «*Royal Canin*» в период стресса и адаптации, показавшие положительный эффект направленный в сторону нормализации микрофлоры кишечника, тем самым снизив риск срыва адаптации у собак с высокой секрецией кортизола.

2. Пробиотический продукт рекомендуется применять в качестве превентивного средства в периоде адаптации и стресса, а пищевую добавку «*Energy*» кратковременно и только в период сильных физических нагрузок с целью поддержания активности собак и рабочих качеств.

3. Пробиотический продукт и пищевую добавку «*Energy*» рекомендуется также применять для животных (с высокой степенью напряжения системы адаптации) с изначально высокими показателями кортизола, т.к у этих животных после приема данных адаптогенов в течение исследования происходило наиболее плавное восстановление гомеостаза организма, что отчетливо видно по показателям уровня гормонов в крови.

4. Пробиотический продукт, созданный на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, рекомендуется применять при действии на собак различных стрессовых факторов (физическое перенапряжение, чрезмерные нагрузки при дрессировке, смена обстановки, смена хозяина, резкие изменения в кормлении, ветеринарные мероприятия, транспортировка и др.), в комплексной терапии при желудочно-кишечных заболеваниях, в том числе дисбактериозе кишечника различного генеза.

Экспериментальные данные исследования содержимого кишечника собак через 14 дней после начала приема пробиотического продукта показали, что *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 способствует нормализации микробиоценоза кишечника, подавляет рост таких микроорганизмов как, *Ps. alcaligenes*,

гемолитических *E. coli* и *S. epidermidis*, *S. saprophiticus*, *S. epidermidis*, грибов рода *Candida*. Доминирующими ассоциантами микробиоты толстого кишечника были бифидо- и лактобактерии, что является косвенным показателем здоровья организма.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКПМ – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов.

РСА, РПА – реакции активации (спокойной и повышенной) – общие неспецифические реакции адаптации организма на действие средних по силе раздражителей

РП – реакция переактивации, общая неспецифическая реакции адаптации организма

ФНО- α , *IL-1 β* , *IL-6* – провоспалительные цитокины.

NF- κ B - универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла.

ПНЖК - полиненасыщенные жирные кислоты

HLA-главный комплекс гистосовместимости или человеческий лейкоцитарный антиген

КЦЖК - короткоцепочечные жирные кислоты

АКТГ- адренкортикотропный гормон гипофиза

ДГЭА - (DHEA) полифункциональный стероидный гормон оказывает действие на андрогеновые рецепторы

ТТГ-тиреотропный гормон гипофиза

ЩЖ - щитовидная железа

Т3 - трийодтиронин, гормон щитовидной железы

rТ3 - неактивный трийодтиронин

Т4 - тироксин, гормон щитовидной железы

мРНК- матричная рибонуклеиновая кислота

ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота

АЛТ - фермент аланинаминотрансфераза.

АСТ - фермент аспартатаминотрансфераза

ЩФ-щелочная фосфатаза

ИФА - иммуноферментный анализ.

КОЕ - колониеобразующие единицы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адлер, Г. Болезнь Крона и язвенный колит / Г. Адлер: пер. с нем. – М.: ГЭОТАР–Мед, 2001. – 527 с.
2. Алешукина, А.В. Патогенез дисбактериоза кишечника / А.В. Алешукина // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2012. – № 3. – С. 74–78.
3. Алиев, М.Г. Влияние хронического стресса в период беременности на тиреоидный статус матери и потомства // М.Г. Алиев, Л.В. Ржаева, О.И. Рыбакова // Пробл. эндокринологии. – 1987. – Т. 33, № 5. – С. 74–78.
4. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко, А.И. Шихлярова. – Екатеринбург: Филантроп, 2002. – Ч. 1. – 196 с.
5. Белякова, Е.И. Адренкортикальная и тиреоидная системы крыс в начальный период ноцицептивного воздействия / Е.И. Белякова, А.М. Менджерицкий // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91, № 6. – С. 611–615.
6. Влияние карнитина на функционирование различных систем организма // РВЖ. – 2014. – № 4. – С. 30.
7. Гаркави, Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. – Ростов н/Д: Феникс, 1990. – 224 с.
8. Гаркави, Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко. – М.: ИМЕДИС, 1998. – 656 с.
9. Голиков, П.П. Рецепторные механизмы антиглюкокортикоидного эффекта при неотложных состояниях / П.П. Голиков. – М.: Знание-М., 2002. – 312 с.
10. Данилевская, Н.В. Проблема метаболического синдрома у мелких домашних животных в современной зарубежной литературе /

- Н.В. Данилевская, Е.В. Иовдальская // РВЖ. МДЖ. – 2013. – № 2. – С. 31–33.
11. Данилевская, Н.В. Физиологическая роль основных представителей нормальной микрофлоры мелких домашних животных / Н.В. Данилевская // РВЖ. МДЖ. – 2008. – № 1. – С. 28–31.
 12. Дедов, И.И. Недостаточность надпочечников / И.И. Дедов, В.В. Фадеев, Г.А. Мельниченко. – М.: Знание–М., 2002. – 320 с.
 13. Дильман, В.М. Четыре модели медицины / В.М. Дильман. – Л.: Медицина, 1987. – 288 с.
 14. Емельянов, Н.А. Кортикостероиды и обмен веществ в мозгу / Н.А. Емельянов, И.А. Герасимова. – Л.: Наука, 1990. – 124 с.
 15. Залесский, В.Н. Особенности проатерогенной составляющей постпрандиального окислительного стресса и пути его нутриент-ассоциированной стратификации / В.Н. Залесский, Т.И. Гавриленко // Аутоиммунные и иммуновоспалительные процессы при атеросклерозе, его нутриентофилактика и терапия. – Киев: Віпол, 2008. – Вып.1: Этюды современной иммунологии и нутриентологии. – С. 416–420.
 16. Залесский, В.Н. Роль фактического питания при дисрегуляции воспалительного ответа на стресс, депрессию и нарушение настроения / В.Н. Залесский // Проблемы харчування. – 2012. – № 1 (2). – С. 10–18.
 17. Заметки биохимика. Часть 1. Метаболический анализ ферментемии. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.my-volga.ru/content/zametki-biokhimika-chast-1-metabolicheskii-analiz-fermentemii>. – 11.03.16.
 18. К вопросу о применении иммуномодулирующих препаратов при вирусных инфекциях / С.В. Ожерелков, А.В. Санин, И.К. Васильев [и др.] // Матер. XII междунар. Моск. Конгр. по болезням мелких домашних животных. – М., 2004. – С. 9–11.

19. Карпенко, Л.Ю. Частная физиология: в 3 ч. Ч. 3: Физиология собак и кошек / Л.Ю. Карпенко, В.Г. Скопичев, Т.А. Эйсымонт. – М.: КолосС, 2008.– 463 с.
20. Клиническая эффективность энтерального питания при воспалительных заболеваниях кишечника / В.А. Осина, Т.Н. Кузьмина, С.Ю. Сильвестрова, А.В. Петраков // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2006. – № 6. – С. 99–139.
21. Колесниченко, Б.О. Мембранное пищеварение у собак при паразитарном энтерите: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01 / Колесниченко Борис Олегович. – СПб., 1997. – 19 с.
22. Конспекты лекций по нормальной физиологии – 2010/2011 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.mmf.spb.ru/05_mmf /conspect/05-endo.pdf. – 10.03.16.
23. Кубассов, Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды / Р.В. Кубассов // Вестник РАМН. – 2014. – № 9–10. – С. 102–109.
24. Маколкин, В.И. Метаболический синдром / В.И. Маколкин. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 144 с.
25. Малкоч, А.В. Функциональные нарушения моторики желудочно-кишечного тракта и кишечная микрофлора / А.В. Малкоч, С.В. Бельмер, М.Д. Ардатская // Педиатрическая фармакология. – 2009. – Т. 6, № 5. – С. 70–75.
26. Метаболические эффекты и их роль в функционировании желудочно-кишечного тракта у больных целиакией / Л.С. Орешко, М.С. Балагаева, Ю.С. Крылова [и др.] // Гастроэнтерология. – 2012. – № 1.– С. 27–28.
27. Морфофункциональные изменения щитовидной железы при различных вариантах хронического экспериментального стресса / Р.А. Красноперов, В.А. Глумова, В.В. Трусов [и др.] // Пробл. эндокринологии.–1992. – Т. 38, № 3. – С. 38–41.

28. Надольник, Л.И. Стресс и щитовидная железа / Л.И. Надольник // Биомедицинская химия. –2010. – Т. 56, вып. 4. – С.443–456.
29. Назаренко, Л. И. Питание и воспалительные заболевания кишечника / Л. И. Назаренко, А. Ю. Барановский // Мед. академический журн. – 2012. – Т. 12, № 2. – С. 28–34.
30. Немцов, В.И. Нарушение состава кишечной микрофлоры и метаболический синдром / В.И. Немцов // Клинико - лабораторный консилиум. – 2010. – № 1 (32). – С. 4–12.
31. Нотова, С.В. Оценка влияния пищевого стресса на психофизиологические и метаболические показатели / С.В. Нотова, А.Х. Дускаева, С.В. Мирошников // Вестник ОГУ. – 2012. – № 10. – С. 54–57.
32. Нутрицевтический метод как средство адаптации собак к алиментарному стрессу / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, А.А. Яковенко, А.К. Логвинов // Обмен веществ при адаптации и повреждении: сб. материалов XIV межвуз. биохимической науч-практ. конф. с междунар. участием. – Ростов н/Д, 2015. – С. 110–113.
33. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты: руководство для врачей / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 456 с.
34. Осипова, И.Г. Коррекция экспериментального дисбактериоза пробиотиками / И.Г. Осипова, В.Ф. Евлашкина, Н.В. Терешкина // Вестник РУДН. Серия: Медицина. –2008. – № 1.– С. 91–95.
35. Особенности функционального состояния коры надпочечников и щитовидной железы при метаболическом синдроме / И.В. Мадянов, В.А. Кичигин, Т.Н. Маркова // Ожирение и метаболизм. – 2011. – № 3(28). – С. 46–50.
36. Парфенов, А.Н. Использование новых пробиотических регуляторов метаболизма в спорте высших достижений (на примере препарата

- «БИЛАКТИН») – результаты и перспективы / А.Н. Парфенов, Т.А. Яшин, С.Н. Португалов // Вестн. спортивной науки. – 2009. – № 5.– С. 23–26.
37. Похиленко, В.Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность / В.Д. Похиленко, В.В. Перельгин // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – № 2–3. – С. 20–41.
38. Роль абдоминального ожирения в патогенезе синдрома инсулинорезистентности / В.А. Алмазов, Я.В. Благосклонная, Е.В. Шляхто, Е.И. Красильникова // Терапевтический архив. – 1999. – Т. 71, № 10. – С. 18–22.
39. Романова, М.М. Особенности пищевого статуса и пищевого поведения у больных с синдромом диспепсия в сочетании с метаболическим синдромом / М.М. Романова // Традиционная медицина. – 2011. – № 5. – С. 381–382.
40. Санин, А.В. Стресс у собак и его коррекция [Электронный ресурс] / А.В. Санин // Ветеринарная клиника. – 2006. – № 6–7. – Режим доступа: <http://vetanimals.ru/flash/vet/shatc20.htm>. – 10.03.16.
41. Севрюков, А.В. Пробиотические препараты как средства адаптации организма животного к стрессу / А.В. Севрюков // Профессия кинолог. – 2012. – № 4. – С. 12–15.
42. Севрюков, А.В. Содержание гормонов в крови служебных собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 6. – С. 20–22.
43. Севрюков, А.В. Спорообразующие пробиотические бактерии в ветеринарии и медицине / А.В. Севрюков // Валеология. – 2013. – № 2. – С. 49–55.
44. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М., 1960. – 254с.

45. Соколов, Е.И. Гормональная дезинтеграция При метаболическом синдроме / Е.И. Соколов, Е.К. Миронова, А.А. Зыкова // Клиническая медицина. – 2008. – Т. 86, № 2. – С. 52–56.
46. Солошен, Э.Н. Клинические разновидности алопеций: патогенез, дифференциальная диагностика, терапия / Э.Н. Солошен // Междунар. мед. журн. – 2009. – № 1. – С. 102–109.
47. Споры пробиотики / И.Г. Осипова, Н.А. Михайлова, И.Б. Сорокулова [и др.] // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2003. – № 3. – С. 113–119.
48. Стресс и патология: методическое пособие / сост.: Л.И. Зеличенко, Г.В. Порядин. – М.: РГМУ, 2009. – 23 с.
49. Субботин, В.В. Микрофлора кишечника собак: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы, коррекция / В.В. Субботин, Н.В. Данилевская // Ветеринар. – 2002. – № 1. – С. 40–44.
50. Субботин, В.В. Микрофлора кишечника собак: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы, коррекция [Электронный ресурс] / В.В. Субботин, Н.В. Данилевская // Ветеринар. – 2002. – № 4. – Режим доступа: http://www.bf-component.ru/library/Microflora_d_p2.pdf. – 10.03.16.
51. Терещенко, И.А. Трудности и ошибки при оценке тиреоидного статуса / И.А. Терещенко // Мед. газ. – 2004. – № 45 (16 июня). – С.10-11. – (Конспект врача; Вып. 36 (1039)).
52. Уголев, А.М. Теория адекватного питания и трофология / А.М. Уголев. – СПб.: Наука, 1991. – 140 с.
53. Физиолого-биохимические показатели крови собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, Ю.И. Левченко, В.А. Чистяков // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 11. – С. 42–48.
54. Хугер, Е.Блюм Современные вызовы и пути развития фундаментальной и прикладной медицины / Хугер, Е.Блюм // Механизмы функционирования нервной, эндокринной и висцеральной систем в процессе онтогенез: сб.

- материалов пленарных докл. междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию АГУ. – Майкоп, 2015. – С. 5–12.
55. Чазова, Е.И. Метаболический синдром / Е.И. Чазова, В.Б. Мычка. – М.: Медиа Медика, 2008. – 319 с.
56. Шендеров, Б.А. Базовые механизмы регуляции гомеостаза и их модуляция нутриентами / Б.А. Шендеров // Клиническое питание. –2004. – № 3. – С. 14–19.
57. Шендеров, Б.А. Пробиотики, пребиотики и синбиотики. Общие и избранные разделы проблемы / Б.А. Шендеров // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2.– С. 23–26
58. Шендеров, Б.А. Функциональное питание и его роль в профилактике метаболического синдрома / Б.А. Шендеров. – М.: ДеЛиПринт, 2008. – 319с.
59. Шинкаренко, А.Н. Экология паразитов собак и меры борьбы с вызываемыми ими заболеваниями в Нижнем Поволжье: автореф. дис. ... д-ра. вет. наук: 03.00.19, 16.00.03 / Шинкаренко Александр Николаевич. – Иваново, 2005.– 53 с.
60. Шипстоун, М. Генерализованный демодекоз у собак, клинические перспективы / М. Шипстоун // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2008. – № 1. – С. 33–35.
61. Шульпекова, Ю.О. Кишечные бактерии, пробиотики и перспективы их применения для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта / Ю.О. Шульпекова // Фарматека. – 2008. – № 2.– С. 46–52.
62. Эффективность применения синбиотического препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* B1895 в аквакультуре и ветеринарии / А.В. Севрюков, М.А. Морозова, Ю.И. Левченко [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – № 4 (20). – С. 49–56.
63. Яковлев, М.Ю. “Эндотоксиновая агрессия” как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных /

- М.Ю. Яковлев // Успехи современной биологии. – 2003. – Т. 123, № 1. – С. 31-40.
64. Яковлев, М.Ю. Роль кишечной микрофлоры и недостаточности барьерной функции печени в развитии эндотоксинемии и воспаления / М.Ю. Яковлев // Казанский мед. журн. – 1988. – Т. 69, № 5. – С. 353-358.
65. Adrenocortical response to stress and thyroid hormone status in free-living nestling white storks (*Ciconia ciconia*) exposed to heavy metal and arsenic contamination / R. Baos, J. Blas, G.R. Bortolotti [et al.] // Environ Health Perspect. – 2006. – Vol. 114, N 10. – P. 1497–1501.
66. Amiragova, M.G. Correlations of central nervous system and thyroid function under chronic emotional stress / M.G. Amiragova, M.I. Arkhangel'skaia // Biull Eksp Biol Med. – 1982. – Vol. 93. – P. 24–27.
67. Ariza-Traslavina, G.A. The CRH-R₁ receptor mediates luteinizing hormone, prolactin, corticosterone and progesterone secretion induced by restraint stress in estrogen-primed rats / G.A. Ariza-Traslavina, C.R. Franci // Brain Research. – 2011. – Vol. 1421, N 3. – P. 11–19.
68. Azpiroz, F. Intestinal Microflora and Intraluminal Gas / F. Azpiroz // Gut Microflora. – Paris, 2006. – P. 81–96.
69. Baker, L.D. Cognitive response to estradiol in postmenopausal women is modified by high cortisol / L.D. Baker, S.Asthana // Neurobiology of Aging. – 2012. Vol. 33, N 4 – P. 829. e9–829. e20.
70. Besedovsky, H.O. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones / H.O. Besedovsky, A. del Rey, E. Sorkin, C.A. Dinarello // Science. – 1986. – Vol. 233, N 4764. – P. 652–654.
71. Bierhaus, A. Mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation / A. Bierhaus, J. Wolf, M. Andrassy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 4. – P. 1920–1925.

72. Björntorp, P. Hypothalamic arousal, insulin resistance and type 2 diabetes mellitus / P. Björntorp, J. Holm, R. Rosmond // *Diab. Med.* – 1999. – Vol. 16, N 5. – P. 373–383.
73. Brouha, L. Blood-sugar variations in normal and in sympathectomized dogs / L. Brouha, W.B. Cannon, D.B. Dill // *J. Physiol.* – 1939. – Vol. 95, N 4. – P. 431–438.
74. Cani, P.D. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance / P.D. Cani, J. Amar, M.A. Iglesias // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56, N 7. – P. 1761–1772.
75. Canine and Feline Diabetes Mellitus: Nature or Nurture? / J.S. Rand, L.M. Fleeman, H.A. Farrow [et al.] // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134, N 8. – P. 2072S–2080S.
76. Cannon, W.B. The argument for chemical mediation of nerve impulses / W.B. Cannon // *Science.* – 1939. – Vol. 90, N 2345. – P. 521–527.
77. Chronic stress influences the immune system through the thyroid axis / G.A. Cremaschi, G. Gorelik, A.J. Klecha [et al.] // *Life Sci.* – 2000. – Vol. 67, N 26. – P. 3171–3179.
78. Cortesy, B. Cross-Talk between Probiotic Bacteria and the Host Immune System / B. Cortesy, H.R. Gaskins, A. Mercenier // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137, N 3. Suppl. 2. – P. 781S–790S.
79. Daza, F.J. Influence of thyroid status on hepatic alpha 1-adrenoreceptor responsiveness / F.J. Daza, R. Parrilla, A. Martín-Requero // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 273, Iss. 6. Pt. 1. – P. 1065–1072.
80. Decuyper, E. Effects of glucocorticoids on circulating concentrations of thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) and on peripheral monodeiodination in pre- and post-hatching chickens / E. Decuyper, C.G. Scanes, E.R. Kühn // *Horm. Metab. Res.* – 1983. – Vol. 15. – P. 233–236.
81. Differential effects of maternal dexamethasone treatment on circulating thyroid hormone concentrations and tissue deiodinase activity in the pregnant ewe and

- fetus / A.J. Forhead, J.K. Jellyman, D.S. Gardner [et al.] // *Endocrinology*. – 2007. – Vol. 148, N 2. – P. 800–805.
82. Dinan, T.G. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology / T.G. Dinan, J.F. Cryan // *Psychoneuroendocrinology*. – 2012. – Vol. 37, N 9. – P. 1369–1378.
83. Edgson, V. *The food doctor: healing foods for mind and body* / V. Edgson, I. Marber. – London: Collins & Brown, 1999. – 160 p.
84. Effect of long-distance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in Limousin cattle: influence of body weight decrease / E. Fazio, P. Medica, D. Alberghina [et al.] // *Vet. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 29, N 8. – P. 713–719.
85. The effect of major trauma on the pathways of thyroid hormone metabolism / F. Aun, G.A. Medeiros-Neto, R.N. Younes [et al.] // *J. Trauma*. – 1983. – Vol. 23. – P. 1048–1051.
86. Effect of surgery on the level of total and free thyroid hormones, reverse T3 and TSH / J.L. Schlienger, J.P. Kauffmann, F. Bur [et al.] // *Ann. Endocrinol. Paris*. – 1982. – Vol. 43, N 4. – P. 259–268.
87. The effects of acute stress and pubertal development on metabolic hormones in the rat / R.D. Romeo, I.N. Karatsoreos, F.S. Ali, B.S. McEwen // *Stress*. – 2007. – Vol. 10. – P. 101–106.
88. Effects of chronic mild stress (CMS) on thyroid hormone function in two rat strains / N. Kioukia, S. Bekris, K. Antoniou [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2000. – Vol. 25, N 3. – P. 247–257.
89. Effects of marital transitions on changes in dietary and other health behaviours in US male health professionals / M. Eng, I. Kawachi, G. Fitzmaurice, E.B. Rimm // *J. Epidemiol. Community Health*. – 2005. – Vol. 59, N 1. – P. 56–62.
90. The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels / N. Kioukia-Fougia, K. Antoniou,

- S. Bekris [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 26, N 5. – P. 823–830.
91. Epel, E.S. Accelerated telomere shortening in response to life stress / E.S. Epel, E.H. Blackburn, J. Lin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101, N 49. – P. 17312–17315.
92. Estrogen suppresses the stress response of prolactin-releasing peptide-producing cells / S. Adachi, A. Mochiduki, H. Nemoto [et al.] // *Neuroscience Letters.* – 2005. – Vol. 380, Iss. 3. – P. 311–315.
93. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects / N. Ben-Jonathan, J.L. Mershon, D.L. Allen, R.W. Steinmetz // *Endocr Rev.* – 1996. – Vol. 17, N 6. – P. 639–669.
94. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women / S. Bansal, J.E. Buring, N. Rifai [et al.] // *JAMA.* – 2007. – Vol. 298, N 3. – P. 309–316.
95. Forchielli, M. The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence / M. Forchielli, W. Walker // *Br. J. Nutr.* – 2005. – Vol. 93, Suppl. 1. – P. 41–48.
96. German, A.J. The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats / A.J. German // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136, N 7. – P. 1940S–1946S.
97. Gill, H.S. Probiotics and human health: a clinical perspective / H.S. Gill, F. Guarner // *Postgrad Med. J.* – 2004. – Vol. 80, N 947. – P. 516S–526S.
98. Glycogen storage capacity and de novo lipogenesis during massive carbohydrate overfeeding in man / K.J. Acheson, Y. Schutz, T. Bessard [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1988. – Vol. 48, N 2. – P. 240–247.
99. Gobello, C. Noninfectious prostatic diseases in dogs / C. Gobello, V. Corrada // *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* – 2002. – Vol. 24, N 2. – P. 99–107.
100. Hartman, C. Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases / C. Hartman, R. Eliakim, R. Shamir // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15, N 21. – P. 2570–2578.

101. Hintze, G. The effect of surgical stress on the in vitro metabolism of thyroxine by rat liver, kidney, and brain / G. Hintze, L.E. Braverman, S.H. Ingbar // *Endocrinology*. – 1991. – Vol. 128, N 1. – P. 146–152.
102. HPA- and HPT-axis alterations in chronic posttraumatic stress disorder / M. Olf, Y. Guzelcan, G.J. de Vries [et al] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2006. – Vol. 31, N 10. – P. 1220–1230.
103. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition / P.C. Calder, R. Albers, J.M. Antoine [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2009. – Vol. 101, Suppl. 1. – P. S1–S45.
104. The influence of stress on thyroid hormone production and peripheral deiodination in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / C.N. Walpita, S.V. Grommen, V.M. Darras, S. Van der Geyten // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 150. – P. 18–25.
105. Joffe, R. T. Thyroid hormones, the brain, and affective disorders / R. T. Joffe, S.T. Sokolov // *Crit. Rev. Neurobiol.* – 1994. – Vol. 8, N 2. – P. 45–63.
106. Khansari, D.N. Effets of stress on the immune system / D.N. Khansari, A.J. Murgo, R.E. Faith // *Immunol. Today*. – 1990. – Vol. 11, N 5. – P. 170–175.
107. Kohler, B. Пищевой гипертиреозидизм у собак / B. Kohler, C. Stengel, R. Neiger // *J. Small Animal Practice*. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 35–37.
108. Krammer, H. Reizdarmsyndrom: Welche Rolle spielen Darmflora und Probiotika? / H. Krammer, P. Enck // *Verdauungskrankheiten*. – 2008. – Bd 26, N 4. – S. 187–197.
109. Krawiec, D. R. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986) / D. R. Krawiec, D. Heflin // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 1992. – Vol. 200, N 8. – P. 1119–1122.
110. Lairon, D. Methodology for studying postprandial lipid metabolism / D. Lairon, J. Lopez-Miranda, C. Williams // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 61, N 10. – P. 1145–1161.

111. McEwen, B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain / B.S. McEwen // *Physiol Rev.* – 2007. – Vol. 87, N 3. – P. 873–904.
112. McGinnis, J.F. Cell surfacemodulation of gene expression in brain cells by down regulation of glucocorticoid receptors / J.F. McGinnis, J. de Vellis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1981. – Vol. 78. – P. 1288–1292.
113. Meunier, L.D. Selection, acclimation, training, and preparation of dogs for the research setting / L.D. Meunier // *ILAR J.* – 2006. – Vol. 47, N 4. – P. 326–347.
114. Nutritional status in patients with active inflammatory bowel disease: prevalence of malnutrition and methods for routine nutritional assessment / D. D. Mijac, G. L. Jankovic, J. Jorga, M. N. Krstic // *Europ. J. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 21, N 4. – P. 315–319.
115. Paclikova, K. Diagnostic possibilities in the management of canine prostatic disorders / K. Paclikova, P. Kohout, M. Vlasin // *Vet. Medicina.* – 2006. – Vol. 51, N 1. – P. 1–13.
116. Peripheral triiodothyronine (T(3)) levels during escapable and inescapable footshock / D.L. Helmreich, M. Crouch, N.P. Dorr, D.B. Parfitt // *Physiol. Behav.* – 2006. – Vol. 87, N 1. – P. 114–119.
117. Plasma thyroid hormone levels and iodothyronine deiodinase activity following an acute glucocorticoid challenge in embryonic compared with posthatch chickens / V.M. Darras, S.P. Kotanen, K.L. Geris [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 104, N 2. – P. 203–212.
118. Pollard, I. Plasma thyroid hormone and glucocorticosteroid concentrations in the male rat following prolonged exposure to stress / I. Pollard, J.R. Bassett, K.D. Cairncross // *Aust. J. Biol. Sci.* – 1979. – Vol. 32, N 2. – P. 237–242.
119. Possible inhibitory role of prolactin-releasing peptide for ACTH release associated with running stress / N. Ohiwa, H. Chang, T. Saito [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – Vol. 292 N 1. – P. 497–504.

120. Poultry-beneficial solid-state *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895 fermented soybean formulation / V. Chistyakov, V. Melnikov, M.L. Chikindas, M. Khutsishvili // *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. – 2015. – Vol. 34, N 1. – P. 25–28.
121. Probiotics: effects on immunity / E. Isolauri, Y. Sutas, P. Kankaanpaa [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2001. – Vol. 73, N 2. – P. 444S–450S.
122. Pruett, S.B. Quantitative aspects of stress-induced immunomodulation / S.B. Pruett // *Int. Immunopharmacol.* – 2001. – Vol. 1, N 3. – P. 507–520.
123. Psychological and endocrine abnormalities in refugees from East Germany: Part I. Prolonged stress, psychopathology, and hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity / M. Bauer, S. Priebe, I. Kurten [et al.] // *Psychiatry.Res.* – 1994. – Vol. 51, N 1. – P. 61–73.
124. Reduced prolactin release during immobilization stress in thyrotoxic rats: role of the central serotonergic system / M.J. Ramalho, L.C. Reis, J. Antunes-Rodrigues [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 1995. – Vol. 27, Iss. 3. – P. 121-125.
125. Relation between the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during repeated stress / D.L. Helmreich, D.B. Parffit, X.Y. Lu [et al.] // *Neuroendocrinology*. – 2005. – Vol. 81, N 3. – P. 183–192.
126. The role of glucocorticoids in the stress-induced reduction of extrathyroidal 3,5,3'-triiodothyronine generation in rats / A.C. Bianco, M.T. Nunes, N.S. Hell, R.M. Maciel // *Endocrinology*. – 1987. – Vol. 120, N 3. – P. 1033–1038.
127. Roles of thyroid, adrenal and pancreatic hormones on thyroid activity of the soft-shelled turtles *Lissemys punctata punctata* Bonnoterre / P.P. Ray, S. Sarkar, A. Sengupta [et al.] // *Folia Biol. Krakow*. – 2006. – Vol. 54, N 3-4. – P. 93–102.
128. Selye, H. Stress, cancer and the mind / H. Selye // *Cancer, stress and death*. – N.Y.; L., 1981. – P. 11–21.

129. Servatius, R.J. A comparison of the effects of repeated stressor exposures and corticosterone injections on plasma cholesterol, thyroid hormones and corticosterone levels in rats / R.J. Servatius, J.E. Ottenweller, B.H. Natelson // *Life Sci.* – 1994. – Vol. 55. – P. 1611–1617.
130. Steptoe, A. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: a review and meta-analysis / A. Steptoe, M. Hamer, Y. Chida // *Brain Behav. Immun.* – 2007. – №21(7). – P. 901–912.
131. Stress and testicular germ cell apoptosis / I. Sasagawa, H. Yazawa, Y. Suzuki, T. Nakada // *Arch. Androl.* – 2001. – Vol. 47, N 3. – P. 211–216.
132. Tafet, G.E. Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression / G.E. Tafet, R. Bernadini // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2003. – Vol. 27, N 6. – P. 893–903.
133. Tchernof, A. Reduced testosterone and adrenal C19 steroid levels in obese men / A. Tchernof, A.S. Deaspers, A. Belanger [et al.] // *Metabolism.* – 1995. – Vol. 44, N 4. – P. 513–519.
134. Thyroid and hypoxic stress in the newt *Triturus carnifex* / G. Frangioni, A. Atzori, M. Balzi [et al.] // *Exp. Zoolog. A Comp. Exp. Biol.* – 2006. – Vol. 305, N 3. – P. 225–232.
135. Wodzicka-Tomaszewska, M. Stress by immobilization, with food and water deprivation, causes changes in plasma concentration of triiodothyronine, thyroxine and corticosterone in poultry / M. Wodzicka-Tomaszewska, T. Stelmasiak // *Aust. J. Biol. Sci.* – 1982. – Vol. 35, N 4. – P. 393–401.
136. Yang, E.V. Stress-induced immunomodulation and the implications for health / E.V. Yang, R. Glaser // *Int. Immunopharmacol.* – 2002. – Vol. 2, N 2-3. – P. 315–324.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Публикации в научных журналах, рецензируемых ВАК:

1. Севрюков, А.В. Спорообразующие пробиотические бактерии в ветеринарии и медицине / А.В. Севрюков // Валеология. – 2013. – № 2. – С. 49–55.
2. Севрюков, А.В. Эффективность применения синбиотического препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* B1895 в аквакультуре и ветеринарии / А.В. Севрюков, М.А. Морозова, Ю.И. Левченко, Т.С. Колмакова, В.А. Чистяков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – №4. – С.49–56.
3. Севрюков, А.В. Содержание гормонов в крови служебных собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков // Ветеринария Кубани. – 2014. – №6. – С.20–22.

Материалы, опубликованные в других научных журналах и конференциях:

4. Севрюков, А.В. Низкозатратная технология получения пробиотических препаратов / А.В. Севрюков, В.А. Чистяков, М.А. Сазыкина, М.А. Коленко // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы II междунар. науч–практ. конф. – (Ростов–на–Дону, 8–10 октября 2008 г.). – Ростов–на–Дону, 2008. – С.165–166
5. Севрюков, А.В. Применение пробиотического препарата на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 в ветеринарной практике / А.В. Севрюков, Е.В. Колмакова, М.А. Сазыкина, В.А. Чистяков // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы III междунар. науч–практ. конф. – (Ростов-на-Дону, 1–4 октября 2009 г.). – Ростов–на–Дону, 2009. – С.190.
6. Севрюков, А.В. Применение пробиотического препарата на основе бактерии *Bacillus subtilis* при алиментарном стрессе у собак / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, Ю.И. Левченко // Высокие технологии, исследования,

- образование в физиологии, медицине и фармакологии : сб. науч. раб. с материалами трудов участников III междунар. науч-практ. конф. по физиологии и медицине. – (Санкт-Петербург, 26-28 апреля 2012 г.). – Санкт-Петербург, 2012. – Т.2. – С.49–51.
7. Севрюков, А.В. Пробиотические препараты как средства адаптации организма животного к стрессу / А.В. Севрюков // Профессия кинолог // Журнал ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России. – 2012 г. – № 4. – С.12–15.
 8. Севрюков, А.В. Оценка адаптационного потенциала служебных собак в условиях алиментарного стресса / А.В. Севрюков, Ю.И. Левченко, А.А. Яковенко // Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе // Материалы 3-й науч-практ. конф., ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России, Ростов-на-Дону. –2014. – С.3–13.
 9. Севрюков, А.В. Физиолого-биохимические показатели крови собак при алиментарном стрессе / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, Ю.И. Левченко, В.А. Чистяков // Успехи современного естествознания. – 2014.– №.11.– С.42–48.
 10. Севрюков, А.В. Применение пробиотических препаратов и высокоэнергетических пищевых добавок «ENERGY» при алиментарном стрессе у собак / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, С.А. Емельянцева, А.И. Панина // Лабораторные животные в медицинских и нутрицевтических исследованиях: сб. материалов региональной межвузовской науч-практ. конф. – (Ростов-на-Дону, 27 февраля 2015 г.). – Ростов-на-Дону, 2015.– С.54–58.
 11. Севрюков, А.В. Нутрицевтический метод как средство адаптации собак к алиментарному стрессу / А.В. Севрюков, Т.С. Колмакова, А.А. Яковенко, А.К. Логвинов // Обмен веществ при адаптации и повреждении: сб. материалов XIV межвузовской биохимической науч-практ. конф. с междунар. участием. – (Ростов-на-Дону, 15-16 мая 2015 г.). – Ростов-на-Дону, 2015.– С.110–113.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1 (справочное)

«Утверждаю»
Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО «Донецкой государственной
аграрный университет»
д.с.-х.н., профессор Фетюхин И.В.

« 20 » декабря 2015

СПРАВКА

о внедрении результатов научных исследований Себрякова А.В.

Материалы кандидатской диссертации Себрякова А.В. на тему: «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак».

Кем предложено: ассистентом кафедры медицинской биологии и генетики РостГМУ Себряковым Антоном Васильевичем

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Где внедрено: В учебный процесс кафедры терапии и пропедевтики для студентов факультета ветеринарной медицины.

Результаты применения: Внедрены новые данные по диагностике морфологического состава крови и показателей метаболизма у собак при стрессе. Используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по курсам «Внутренние незаразные болезни», «Патофизиология».

Заведующая кафедрой терапии и пропедевтики
ФГБОУ ВО «Донецкой государственной
аграрный университет», д.в.н., профессор



Дерезина Т.Н.

**Приложение 2
(справочное)**

«УТВЕРЖДАЮ»

ИП Ермакова И.А.
Ветеринарная клиника
«Центр»



«15» июля 2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Севрюкова А.В. на тему: «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак».

Кем предложено: ассистентом кафедры медицинской биологии и генетики РостГМУ Севрюковым Антоном Васильевичем

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Центр» г. Ростов-на-Дону

Результаты применения: Внедрены новые данные по диагностике морфологического состава крови и показателей метаболизма у собак при стрессе.

Эффективность внедрения. Улучшилась на 45% эффективность диагностики показателей метаболизма у собак при стрессе.

Ответственные за внедрение,

кандидат биологических наук, ветеринарный врач

ветеринарный врач

И.В.Колодий

О.Н.Хорошунова

Приложение 3 (справочное)

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИП Карташова Е.В.



Бутенков А.И.

«15» мая 2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Севрюкова А.В. на тему: «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак».

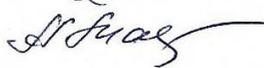
Кем предложено: ассистентом кафедры медицинской биологии и генетики РостГМУ Севрюковым Антоном Васильевичем

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Вита» г. Ростов-на-Дону

Результаты применения: Внедрены новые данные по диагностике морфологического состава крови и показателей метаболизма у собак при стрессе.

Эффективность внедрения. Улучшилась эффективность диагностики показателей метаболизма у собак при стрессе.

Ответственные за внедрение,
кандидат ветеринарных наук
ветеринарный врач

 А.Г.Ключников
 А.В. Макрицкая

АКТ ВНЕДРЕНИЯ
научной, научно-технической продукции

1. Наименование ННТП: Пробиотический препарат Б-92
2. Вид выходного результата: 2.1. Аналитические материалы (отчет)
3. Заказчик ННТП – подразделение МВД России: -
4. Исполнитель (и) работ: ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России,
Академия биологии и биотехнологии ЮФУ,
Ростовский государственный медицинский университет
5. Основание выполнения научного исследования (НИОКР): инициатива
(пункт 2 Плана научной деятельности ФГКОУ ДПО РШ СРС МВД России на
2014 г.)

(номер позиции плана, заявка (подразделение, исх. дата и номер), инициатива)

6. Дата и сведения о приемке результатов научного исследования (НИОКР): -
Поставленные задачи решены в достаточной мере. Результаты исследования
показали, что пробиотический препарат Б-92 способствует более быстрому
приспособлению животных к новым условиям содержания и
питания.

(исх. номер и дата направления акта приемки исполнителю, характеристика работы)

7. Сведения о внедрении ННТП: форма внедрения - образовательная
деятельность образовательных учреждений МВД России, деятельность
кинологических подразделений МВД России; метод внедрения - доведение
НП до сотрудников (руководителей) ветеринарных служб, кинологических
подразделений МВД России; ведется изготовление пробиотического
препарата на базе РШ СРС МВД России

(формы и методы внедрения, в какие подразделения, другая информация о внедрении)

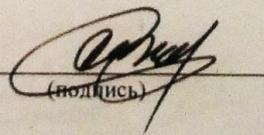
8. Сведения об эффективности внедрения ННТП в оперативно-служебную (служебно-боевую) деятельность подразделений (категорий сотрудников и военнослужащих), а также в образовательный процесс образовательных учреждений МВД России: пробиотический препарат
используется ветеринарной службой школы, филиала, кинологическими
подразделениями, в том числе ЦКС УТ МВД России по СКФО, ФКОУ ДПО
Учебный центр ГУФСИН России по Ростовской области, имеются
положительные отзывы (ЦКС УМВД России по Орловской области)

Начальник ФГКОУ ДПО
РШ СРС МВД России

подполковник полиции



20 13 г.


(подпись)

А.В. Сюсюкин

СПРАВКА

о внедрении результатов научных исследований А.В. Севрюкова

Кем предложено: ассистентом кафедры медицинской биологии и генетики РостГМУ Севрюковым Антоном Васильевичем.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Результаты применения:

Результаты диссертационного исследования А.В. Севрюкова на тему «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак» были использованы для разработки инновационной технологии получения пробиотических продуктов на основе иммобилизованных на растительных субстратах биопленок бактерий рода *Bacillus* по государственному контракту № 16.512.11.2017. Исследование выполнено ООО "Центр биомедтехнологий Южного федерального университета" совместно с кафедрой медицинской биологии и генетики ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет».

Директор ООО "Центр биомедтехнологий ЮФУ»



 Брень А.Б.