
УДК636.2.033.087.8:547.5:612.017

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ БЫЧКАМ ЭПОФЕНА

Крапивина Е.В., Мартынова Е.В., Кривопушкина Е.А., Иванов Д.В.

Брянская государственная сельскохозяйственная академия, Россия

Известно, что многие положительные эффекты (в том числе антиоксидантный и антигипоксанта́нный), которые оказывают на организм человека и животных комплексные растительные экстракты, объясняются присутствием в них разнообразных полифенольных соединений, в том числе биофлавоноидов. Синтетическим препаратом, близким по биологическому действию к этим веществам, является эпофен, который может способствовать восстановлению антиоксидантной защиты организма. Ранее эпофен в животноводстве не применялся.

Целью исследования являлось изучение влияния скармливания эпофена на показатели естественной резистентности организма бычков.

Научно-производственный опыт проводили в элеваторе Федерального государственного предприятия по племенной работе «Брянское», Брянской области. По принципу парных аналогов (с учётом происхождения, живой массы и интенсивности роста) из ремонтных бычков черно-пестрой породы 11-12 - месячного возраста были сформированы две группы по пять голов в каждой. Содержание подопытных бычков соответствовало ветеринарно-зоогигиеническим требованиям. В период научно-хозяйственного опыта контрольной группе животных скармливали основной рацион (ОР), который был составлен с учетом живой массы и сбалансирован по всем компонентам питания в соответствии с нормами кормления животных (Нормы и рационы..., 2003). Животным опытной группы с 12-13-месячного возраста дополнительно к ОР скармливали эпофен сначала в дозе 2,0 г/гол. (5,00 – 5,40 мг/кг живой массы) в сутки в течение месяца, а затем – через месячный интервал в течение 2 недель бычкам скармливали эпофен в дозе 4,0 г/гол. (9,00-9,50 мг/кг живой массы) в сутки. Кровь для исследования брали из яремной вены до утреннего кормления у 4 животных из группы каждые две недели в течение опытного периода. Для контроля роста животных ежемесячно индивидуально взвешивали.

Количество лейкоцитов и эритроцитов в крови подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу – в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза. Фагоцитарный показатель (ФП) рассчитывали как процент нейтрофилов, способных к поглощению частиц латекса; фагоцитарный индекс (ФИ) – как среднее число частиц латекса, поглощенных одним активным нейтрофилом; абсолютный фагоцитоз крови (АФ, $10^9/\text{л}$) – как общее количество частиц латекса, поглощаемое нейтрофилами в 1 л крови (Чумаченко и др., 1990). Функционально-метаболическую активность нейтрофилов оценивали по результатам реакции восстановления нитросинего тетразолия (Шубич, Медникова, 1978; Шубич и др., 1980). Индекс активации нейтрофилов (ИАН) вычисляли согласно инструкции "Риакомплекс" по использованию НСТ-тест набора. Поглотительную способность нейтрофилов (ФП, %, ФИ, у.е., АФ, $10^9/\text{л}$) и активность их оксидазных систем (+НСТ, %, ИАН) оценивали в двух состояниях: базальном (баз.) - в свежеснятой крови, стабилизированной

гепарином, и стимулированном (стим.) - после внесения в пробы крови зимозана, что моделирует условия бактериального заражения и характеризует адаптационные резервы поглотительной и микробицидной способности нейтрофильных гранулоцитов (Хаитов и др., 1995). Кислородонезависимую микробицидность нейтрофилов периферической крови оценивали по содержанию в них катионных белков по методу В.И. Жибинова (1983), рассчитывая средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле, предложенной Н.А. Макаревичем (1988). Концентрацию свободного тироксина и кортизола в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Фактический материал подвергнут статистическому анализу с использованием компьютерной техники (Иванов, Крапивин, 1994). В качестве значений физиологической нормы принимали интервалы соответствующих показателей, приведенные в литературе (Чумаченко и др., 1990; Карпуть, 1986).

При изучении морфологического состава крови подопытных бычков было установлено, что показатели их гемограммы в течение всего опытного периода не выходили за пределы нормативных значений (табл. 1). Включение в рацион эпофена оказало различное влияние на картину крови у опытных животных в зависимости от дозы и продолжительности скармливания.

После 2-недельного скармливания эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки в гемограмме у бычков опытной группы установлен достоверно более низкий уровень базофилов и эозинофилов по сравнению с животными контрольной группы, что может быть связано с активизацией функциональной активности щитовидной железы и надпочечников. Некоторые ученые связывают снижение количества в лейкоформуле базофилов и эозинофилов с активизацией функциональной активности щитовидной железы (Чумаченко и др., 1990; Кассирский, Алексеев, 1970; Бузлама, 1996). При этом уровни в крови $СТ_4$ и кортизола у бычков обеих групп существенно не различались и составляли $10,10 \pm 1,32$ и $11,03 \pm 1,60$ пмоль/л, $30,38 \pm 9,09$ и $24,45 \pm 1,69$ нмоль/л соответственно.

Дальнейшее использование в рационе препарата (2 г/гол. в сутки) обусловило к концу месячного курса сохранение тенденции к более низкому (но без достоверно значимой разницы) содержанию в лейкоформуле у бычков опытной группы базофилов и эозинофилов, чем у контрольных животных. Кроме того, скармливание препарата в течение месяца обусловило, по сравнению с предыдущим периодом исследования, достоверное повышение в лейкоформуле уровня нейтрофилов и снижение содержания лимфоцитов за пределы, характерные для физиологической нормы, что свидетельствует о развитии стрессорного синдрома организма животных опытной группы.

Через 2 недели после окончания скармливания эпофена тенденция к изменению содержания базофилов, эозинофилов, нейтрофилов и лимфоцитов в лейкоформуле усилилась до достоверно значимых величин этих показателей у опытных животных по сравнению с контролем.

Через месяц после окончания скармливания эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки достоверно значимые различия показателей гемограммы у бычков контрольной и опытной групп уже не обнаруживались. Однако сохранялась тенденция к более высокому числу нейтрофилов и низкому – лимфоцитов в лейкограмме, что свидетельствует об остаточных явлениях стрессорной реакции организма бычков. При этом

Таблица 1. Влияние уровня эпофена в рационе на гемограмму у молодняка крупного рогатого скота

Группы	Эритроциты, $10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $10^9/л$	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %
В конце 2-х недельного скормливания эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	7,56±0,75	94,68±5,08	10,49±1,41	27,36±2,69	5,72±1,68	1,46±0,22	2,20±0,36	63,68±2,70
2	7,61±0,50	99,30±2,55	8,33±0,87	22,99±1,20	1,56±0,08*	0,79±0,15*	2,90±0,28	70,98±1,95
В конце месячного скормливания эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	7,64±0,48	91,30±3,04	11,84±1,83	26,99±0,97	5,51±1,33	1,12±0,31	2,38±0,35	63,94±1,62
2	7,03±0,19	84,93±1,63	10,19±1,13	38,35±5,21■	3,43±0,40■	0,48±0,14	1,59±0,49	56,22±4,77■
Через 2 недели после окончания скормливания (в течение месяца) препарата в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	7,31±0,32	113,88±2,85	11,27±1,34	24,57±2,77	2,98±0,52	1,02±0,13	2,15±0,31	69,37±3,30
2	7,53±0,44	99,04±6,50	9,29±1,65	39,93±2,36*	1,31±0,26*	0,60±0,10*	1,63±0,13	56,37±2,34*
Через 1 месяц после окончания скормливания (в течение месяца) препарата в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	8,55±0,51	109,45±4,12	8,60±0,37	29,94±6,05	2,51±1,06	0,83±0,06	2,38±0,26	64,29±5,54
2	7,87±0,45	109,43±4,29	8,65±1,09	33,82±4,36	2,39±0,59	1,29±0,35	3,17±0,40	61,00±2,95
Через 2 недели скормливания препарата в дозе 4 г/голову в сутки (n=4)								
1	7,73±0,20	103,86±3,19	8,84±0,78	25,71±2,43	4,58±1,28	1,04±0,10	1,89±0,55	66,21±1,33
2	7,72±0,37	102,97±2,49	8,09±0,52	28,03±4,08	4,32±1,38	1,13±0,34	1,59±0,17	65,55±2,32

Примечание. ■ $P < 0,05$ по отношению к предыдущему исследованию.

содержание базофилов и эозинофилов в лейкоформуле у животных подопытных групп практически не различалось. Следовательно, 2-недельное скармливание эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки, судя по косвенным данным (увеличению числа базофилов и эозинофилов в лейкоформуле), способствовало повышению функциональной активности щитовидной железы и коры надпочечников бычков. Более длительное (в течение месяца) скармливание этого препарата обусловило не только повышение функциональной активности щитовидной железы и коры надпочечников бычков, но и развитие стресс-реакции адаптационного синдрома организма, сохранявшееся на протяжении 2 недель после прекращения скармливания препарата.

Месячный интервал в скармливании эпофена и последующее введение его в рацион в течение 2 недель в дозе 4 г/гол. сутки не оказали существенного влияния на показатели гемограммы у опытных животных.

Изучение влияния режима скармливания эпофена на способность к поглощению чужеродного материала нейтрофилами крови у молодняка крупного рогатого скота показало, что 2-недельное и 30-суточное скармливание эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки не вызывает немедленных изменений в способности этих клеток поглощать чужеродный материал как в базальных условиях, так и после стимуляции проб крови зимозаном (табл. 2). И только через 2 недели после окончания месячного курса скармливания эпофена у животных опытной группы реактивность нейтрофилов крови повышалась. Об этом свидетельствует достоверное увеличение поглотительной способности нейтрофилов крови в базальных условиях по сравнению с контролем: фагоцитарного показателя - на 53,84%, абсолютного фагоцитоза - на 154,56%, фагоцитарного числа - на 78,41%. Через месяц после этого курса указанные изменения не наблюдались и поглотительная способность нейтрофилов крови животных контрольной и опытной групп существенно не различались. Использование эпофена в дозе 4 г/гол. в сутки в течение 2 недель также не оказало существенного влияния на поглотительную способность нейтрофилов.

Следовательно, положительное влияние скармливания эпофена бычкам проявлялось в виде повышения реактивности нейтрофилов крови через 2 недели после окончания месячного курса применения препарата в дозе 2 г/гол. в сутки, которое через месяц после окончания курса уже не обнаруживалось.

При изучении влияния режима использования эпофена на микробицидную активность нейтрофилов крови у молодняка крупного рогатого скота установлено (табл. 3), что после 2-недельного скармливания препарата в дозе 2 г/гол. в сутки кислородозависимая микробицидность нейтрофилов крови у бычков, получавших с кормом этот препарат, была выше, чем у животных контрольной группы как в базальном состоянии (увеличение числа НСТ-позитивных нейтрофилов на 59,26% и индекса активации нейтрофилов на 103,70%, $P > 0,05$), так и после стимуляции проб крови зимозаном (увеличение числа НСТ-позитивных нейтрофилов на 41,29% и индекса активации нейтрофилов на 41,82%, $P < 0,05$). По окончании месячного курса скармливания эпофена (2 г/гол. в сутки) сохранялась тенденция к более высокой кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови у бычков опытной группы по сравнению с контролем, но без достоверно значимой разницы. Через 2 недели после окончания месячного курса скармливания эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки при практически не различавшихся у животных 1 и 2 групп значениях

Таблица 2. Влияние режима скармливания эпофена на способность к поглощению чужеродного материала нейтрофилами крови у молодняка крупного рогатого скота

Группы	ФП баз., %	ФП стим., %	ФИ баз., у.е.	ФИ стим., у.е.	АФ баз., 10 ⁹ /л	АФ стим., 10 ⁹ /л	ФЧ баз, у.е.	ФЧ стим, у.е.
В конце 2-х недельного скормливания эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	14,08±1,42	14,04±3,19	4,60±1,18	3,85±0,34	1,75±0,39	1,45±0,32	0,66±0,20	0,57±0,18
2	16,00±1,14	11,38±1,66	3,43±0,32	3,39±0,11	1,02±0,09	0,76±0,16	0,55±0,07	0,39±0,06
В конце месячного скормливания эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	37,50±7,67	43,67±2,86	5,62±0,46	5,54±0,34	7,31±2,29	7,65±1,17	2,20±0,60	2,44±0,30
2	29,96±3,04	39,83±0,73	4,98±0,35	5,41±0,62	5,78±1,12	9,10±2,65	1,51±0,24	2,15±0,23
Через 2 недели после окончания скормливания (в течение месяца) препарата в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	37,46±3,50	28,79±1,72	4,60±0,40	3,75±0,27	4,49±0,53	2,92±0,37	1,76±0,29	1,10±0,14
2	57,63±4,46*	42,92±9,61	5,48±0,39	4,33±0,22	11,43±1,88*	7,48±2,52	3,14±0,24*	1,88±0,48
Через 1 месяц после окончания скормливания (в течение месяца) препарата в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)								
1	16,13±3,28	42,54±1,91	4,22±0,27	4,21±0,13	1,58±0,27	4,47±0,76	0,69±0,18	1,80±0,13
2	14,00±3,66	53,00±4,76	4,06±0,16	4,93±0,29	1,60±0,34	8,27±2,83	0,57±0,16	2,65±0,36
Через 2 недели скормливания препарата в дозе 4 г/голову в сутки (n=4)								
1	4,88±1,25	18,88±4,28	3,00±0,01	3,22±0,14	0,36±0,13	1,42±0,39	0,15±0,04	0,60±0,13
2	5,75±2,33	20,08±1,59	3,10±0,13	4,63±0,70	0,41±0,14	1,99±0,27	0,20±0,08	0,93±0,18
Примечание. ФП – фагоцитарный показатель; ФИ – фагоцитарный индекс; АФ – абсолютный фагоцитоз; ФЧ – фагоцитарное число.								

количества НСТ-позитивных нейтрофилов и индекса активации нейтрофилов крови у бычков, получавших эпофен, обнаруживалась тенденция к более высокому адаптационному резерву этого защитного механизма (после стимуляции клеток крови зимозаном число НСТ-позитивных нейтрофилов было выше на 48,65%, а индекс активации нейтрофилов - на 82,76%, $P < 0,05$).

Через месяц после окончания месячного курса скармливания эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки повышение числа НСТ-позитивных нейтрофилов, стимулированных зимозаном, в крови у бычков опытной группы относительно контроля стало достоверно значимым (на 17,7%). Однако увеличение дозы препарата на следующем этапе эксперимента до 4 г/гол. в сутки за 2 недели применения не оказало существенного влияния на кислородозависимую микробицидность нейтрофилов крови у животных. Уровень кислородонезависимой микробицидности нейтрофилов крови у подопытных животных (СЦК) был высоким на протяжении всего опыта, скармливание эпофена не оказало существенного влияния на количество катионных белков в этих клетках.

Таблица 3. Влияние режима применения эпофена на микробицидную активность нейтрофилов крови у молодняка крупного рогатого скота

Группы	+НСТ баз., %	+НСТ стим., %	ИАН баз.	ИАН стим..	СЦК
В конце 2-х недельного скармливания эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)					
1	22,63±12,73	43,88±2,84	0,27±0,15	1,10±0,10	2,33±0,14
2	36,04±15,54	62,00±3,68*	0,55±0,27	1,56±0,08*	2,45±0,01
В конце месячного скармливания эпофена в дозе 2г/голову в сутки (n=4)					
1	12,50±2,27	61,21±2,62	0,16±0,04	1,51±0,08	2,23±0,02
2	22,01±10,82	63,88±9,82	0,35±0,20	1,60±0,29	2,28±0,08
Через 2 недели после окончания скармливания (в течение месяца) эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)					
1	3,63±0,52	40,25±8,02	0,04±0,01	0,87±0,23	2,40±0,04
2	3,63±1,01	59,83±5,63	0,04±0,01	1,59±0,31	2,36±0,05
Через 1 месяц после окончания скармливания (в течение месяца) эпофена в дозе 2 г/голову в сутки (n=4)					
1	1,75±0,32	66,38±3,16	0,02±0,01	1,77±0,17	2,26±0,18
2	2,00±0,54	78,13±2,24*	0,02±0,01	2,00±0,10	2,07±0,04
Через 2 недели скармливания эпофена в дозе 4 г/голову в сутки (n=4)					
1	7,13±2,07	41,21±1,72	0,08±0,03	0,93±0,07	2,40±0,08
2	12,5±3,47	36,88±2,94	0,15±0,05	0,81±0,09	2,59±0,06

Примечание. * $P < 0,05$ по отношению к 1 группе; СЦК – средний цитохимический коэффициент; ИАН – индекс активации нейтрофилов; НСТ – активность оксидазной системы нейтрофилов.

Следовательно, скармливание ремонтным бычкам эпофена способствовало увеличению адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови у животных. Наибольшая выраженность этого эффекта отмечена после 2-недельного скармливания препарата в дозе 2 г/гол. в сутки и через месяц после окончания месячного курса использования эпофена в этой дозе.

Скармливание эпофена бычкам не оказало существенного влияния на живую массу животных, которая к концу опытного периода (в 16-17-месячном возраст-

те) составила $447,40 \pm 7,37$ и $447,00 \pm 7,14$ кг при начальной массе (в 11-12-месячном возрасте) - $322,60 \pm 5,42$ и $321,20 \pm 6,81$ кг у бычков контрольной и опытной групп соответственно.

Таким образом, проведённые исследования показали наличие зависимости изучаемых показателей от дозы и продолжительности использования в кормлении бычков эпофена:

- 2-недельное скормливание эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки обусловило увеличение адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови у животных, а также, судя по косвенным данным (снижение числа базофилов и эозинофилов в лейкоформуле), способствовало повышению функциональной активности щитовидной железы и коры надпочечников бычков;

- более длительное (в течение месяца) скормливание этого препарата обусловило не только повышение функциональной активности щитовидной железы и коры надпочечников бычков, но и развитие стресс-реакции адаптационного синдрома;

- через 2 недели после прекращения скормливания препарата в дозе 2 г/гол. в сутки на фоне стрессорной реакции адаптационного синдрома у бычков отмечено повышение реактивности нейтрофилов крови;

- через месяц после прекращения скормливания эпофена в дозе 2 г/гол. в сутки у бычков опытной группы уже не обнаруживалось существенных отличий в значении показателей, характеризующих гомеостаз, за исключением более высокого адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови;

- введение эпофена в рацион в дозе 4 г/гол. в сутки в течение 2 недель после месячного интервала в его скормливании не оказало существенного влияния на показатели гемограммы и функциональную активность нейтрофилов крови у опытных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. Справочное пособие. Издание переработанное и дополненное. (Под ред. Калашникова А.П., В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова). Москва, 2003, 456 с.
2. Чумаченко В.Е., Высоцкий А.М., Сердюк Н.А., Чумаченко В.В. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных. Киев: Урожай, 1990, 136 с.
3. Шубич М.Г., Медникова В.Г. NBT-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях. Лаб. дело, 1978, 1: 663-666.
4. Шубич М.Г., Нестерова И.В., Старченко В.М. Тест с нитросиним тетразолием в оценке иммунологического статуса детей с гнойно-септическими заболеваниями. Лаб. дело, 1980, 7: 342-344.
5. Хаитов Р.Б., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: ВНИРО, 1995, 219 с.
6. Жибинов В.И. Применение лизосомально-катионного теста. Ветеринария, 1983, 8: 30-31.
7. Макаревич Н.А. Лизосомально-катионный тест для оценки уровня резистентности организма крупного рогатого скота. Ветеринария, 1988, 5: 26-28.

8. Иванов В.П., Крапивин И.А. Программа для статистической обработки результатов зоотехнических, физиологических и биохимических исследований. Новые формы и методы обучения студентов. Кострома, 1994, 2: 90-91.
9. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. Мн.: Ураджай, 1986, 183 с.
10. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. Клиническая гематология. М.: Медицина, 1970, 800 с.
11. Бузлама В.С. Общая резистентность животных при стрессе и ее регуляция адаптогенами. Доклады Россельхозакадемии, 1996, 1: 36-38.

Effects of epophen feeding on dynamics of natural resistance indices in bulls

Krapivina E.V., Martynova E.B., Krivopushkina E.A., Ivanov D.V.

Bryansk State Agricultural Academy, Bryansk, Russia

Fifty five bulls of black-and white breed at 11- 12 month of age were used to study the physiological effects of feeding synthetic preparation epophen (EP), with antioxidant and antihypoxant action, at a dose of 5,2 mg/kg body weight/day during 1 months and at a dose of 9,2 mg/kg body weight/day and in repeat during 1 months. The feeding of EP with dose of 5,2 mg/kg during 2 weeks results in increase of adaptive reserve of oxygen dependent bacteriocidicity of blood neutrophils and in decrease of basophils and eosinophils number in experimental animals. The feeding of preparation during 1 month caused the increase in functional activity of thyroid glands and adrenal cortex. After 1 month after cease of EP feeding the indices of homeostasis were normalized with exception of increased adaptive reserve of oxygen dependent bacteriocidicity of blood neutrophils. The repeated EP feeding at a dose 9.2 mg/kg body weight/day during 1 month after 1 month interruption did not occur significant influence upon hemogram and functional activity of blood neutrophils.

Key words: bulls, antioxidant, antihypoxant, neutrophils, hemogram

Prob. Prod. Anim. Biol., 2007, 2:60-67