

УДК 599.537:574.23:591.28

*И.В. Масберг, О.И. Попова, О.Н. Вербицкий**

Центр спасения морских млекопитающих, г. Евпатория, Украина

Детский специализированный клинический санаторий «Искра»

МЗ Украины, г. Евпатория, Украина

**Технион, Израильский технологический институт, г. Хайфа, Израиль*

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЧЕРНОМОРСКИХ ДЕЛЬФИНОВ. ЧАСТЬ II

Изучали влияние хронического стресса на показатели белкового обмена в сыворотке крови у черноморских дельфинов, участвующих в представлениях (без тактильного контакта с незнакомыми людьми) и в дельфинотерапии (с вынужденным тактильным контактом с незнакомыми людьми). Во второй группе дельфинов определяли достоверные изменения в концентрациях глобулинов и мочевины. Ранговую корреляцию Спирмена использовали для анализа влияния альбуминов и глобулинов на альбумин/глобулиновое отношение (АГО). С использованием коэффициента детерминации (R^2) в группе дельфинов без тактильного контакта установлено достоверное участие альбуминов и недостоверное участие глобулинов в изменении АГО. У дельфинов с вынужденным тактильным контактом проявлялось достоверное участие как глобулинов, так и альбуминов в изменении АГО. Показано, что метаболическая регуляция становится более детерминированной, возможно, из-за развития хронического стресса у дельфинов, участвующих в дельфинотерапии.

Ключевые слова: дельфины, дельфинотерапия, белковый обмен, хронический стресс.

В первой части работы мы сравнивали две группы дельфинов: 1-я – участвующие в представлении (без тактильного контакта), 2-я – участвующие в дельфинотерапии (с вынужденным тактильным контактом с незнакомыми людьми) [1]. Исследования показали, что у дельфинов 2-й группы развивается хронический стресс, который оценивали по такому показателю, как нейтрофильно-лимфоцитарное отношение.

Ранее нами было показано, что концентрация сывороточного альбумина у дельфинов зависит от изменений двигательной активности [2], однако влияние хронического стресса на белковый метаболизм у дельфинов до сих пор не исследовалось. В связи со сказанным целью настоящей работы было изучение динамики белкового обмена в сыворотке крови при хроническом стрессе, что позволит глубже понять механизм регуляции метаболизма на фоне развития хронического стресса у дельфинов, возникающего при вынужденном контакте с незнакомыми людьми.

Материал и методы. Данное исследование является продолжением исследования [1], в котором описаны методологические, методические и статистические аспекты эксперимента. Дополнительным моментом в описании методов является использование стандартных биохимических методик определения общего белка, альбуминов и мочевины в сыворотке крови [3]. Также рассчитывали концентрацию глобулинов и альбумин-глобулиновое отношение (АГО). Критерий Крускала и Уоллиса использовали при выявлении различий между отдельными дельфинами внутри каждой группы. Тест Фридмана использовали при повторяющихся наблюдениях для каждой группы. Критерий Тьюки использовали с целью множественного сравнения, между какими парами достоверные различия существуют. Для установления причинно-следственной связи между различными показателями белкового обмена в сыворотке крови использовали ранговую корреляцию Спирмена (r). Для определения коэффициента детерми-

© И.В. Масберг, О.И. Попова, О.Н. Вербицкий, 2012

нации использовали формулу $R^2 = r^2 \times 100\%$ с целью расчёта степени участия независимого показателя в зависимом. Данные представлены в виде медианы (Me) и диапазона межквартилей (ДМ_[75 25]). Достоверность определяли при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Индивидуальные показатели внутри каждой группы некоторых показателей белкового обмена в сыворотке крови у дельфинов представлены в табл. 1. Анализ динамики белкового метаболизма достоверных изменений внутри каждой группы не выявил.

Таблица 1. Некоторые показатели белкового обмена в сыворотке крови у дельфинов 1-й и 2-й групп ($n=6-7$), представленные как медиана (Me) и диапазон межквартилей (ДМ_[75 25])

Показатель	Дельфины								
	1-я группа				2-я группа				
	Ян	Гама	Боня	р	Игмас	Дарт	Граф	Гера	р
<i>Общий белок, г/л</i>									
Me	78,80	73,80	77,70	0,853	75,40	80,50	82,50	76,00	0,219
ДМ _[75 25]	5,03	14,28	7,65		6,35	6,33	6,03	6,70	
<i>Альбумины, г/л</i>									
Me	53,15	45,00	53,95	0,2050	53,35	58,20	55,80	52,95	0,532
ДМ _[75 25]	11,20	7,00	8,50		4,90	6,50	8,20	6,70	
<i>Глобулины, г/л</i>									
Me	25,10	25,55	25,30	0,7471	21,70	22,40	25,40	23,95	0,136
ДМ _[75 25]	3,00	0,40	2,10		3,60	3,10	4,50	4,60	
<i>Альбумин/глобулиновое отношение (АГО)</i>									
Me	2,04	1,76	2,04	0,2129	2,56	2,48	2,16	2,05	0,088
ДМ _[75 25]	0,63	0,36	0,21		0,39	0,52	0,13	0,67	
<i>Мочевина, моль/л</i>									
Me	12,40	10,60	11,20	0,5692	11,20	11,60			0,833
ДМ _[75 25]	4,42	6,61	3,85		2,21	5,23			

Примечание. Оценку индивидуальных различий между дельфинами определяли по критерию Крускала и Уоллиса. Достоверность определяли при $p \leq 0,05$.

Данные белкового обмена в сыворотке крови у дельфинов в группах во время наблюдения с февраля по август 2008 г. представлены в табл. 2. Внутригрупповые (в 1-й и 2-й группах) показатели общего белка и альбуминов в сыворотке крови у дельфинов за этот период достоверно не изменились. Во 2-й группе колебания концентрации глобулинов были достоверны. Попарное сравнение показало, что имеются два пика концентрации глобулинов – в марте и августе. Если увеличение глобулинов в августе может быть объяснено как следствие хрониче-

ского стресса в летний период [1], то увеличение глобулинов в марте требует дальнейшего исследования.

В 1-й группе достоверных изменений в динамике концентрации глобулинов не выявлено. Что касается АГО, то оно достоверно изменялось в 1-й группе. Попарное сравнение показало, что в марте АГО было достоверно ниже, чем в апреле и июне, на 30,4 и 22,8 % соответственно. Природа этих колебаний не ясна и требует дальнейших исследований потенциальных стресс-факторов, например, таких как соревновательность за

пищевые ресурсы и непостоянство в иерархическом доминировании [4].

Во 2-й группе АГО достоверно изменялось. Попарное сравнение показало, что с марта по апрель оно достоверно увеличивалось на 18,5 %, что в литературе описывается как фактор, улучшающий адаптационные возможности организма [5]. Наиболее существенное падение АГО (примерно на 20 %) фиксировалось в августе при сравнении с показателями за апрель-июль. Можно предположить, что уменьшение АГО происходило из-за увеличения концентрации глобулинов.

Таблиця 2. Некоторые показатели белкового обмена в сыворотке крови дельфинов 1-й и 2-й групп, представленные как медиана (Me) и диапазон межквартилей (ДМ_[75 25]) в группах № 1 (n=3) и № 2 (n=4) в период с февраля по август 2008 г.

Группа	Показатели	Значения параметров								
		февр.	март	апр.	май	июнь	июль	авг.	p	
<i>Общий белок, г/л</i>										
1-я	Me	77,70	72,40	82,30	79,40	79,70	69,70	78,80	0,490	
	ДМ _[75 25]	4,28	6,38	3,90	6,75	5,10	12,53	10,43		
2-я	Me	80,90	78,65	75,05	72,25	80,35	81,50	78,05		0,151
	ДМ _[75 25]	10,40	10,35	6,95	7,65	0,90	4,65	5,25		
<i>Альбумины, г/л</i>										
1-я	Me	-	43,40	56,90	46,60	54,40	44,90	51,90	0,404	
	ДМ _[75 25]	-	3,90	3,83	8,63	4,58	10,20	12,45		
2-я	Me	-	55,20	53,45	51,20	56,75	58,00	51,10		0,320
	ДМ _[75 25]	-	7,55	4,95	9,75	3,45	5,60	4,75		
<i>Глобулины, г/л</i>										
1-я	Me	-	27,50	23,90	24,60	25,40	25,60	26,90	0,105	
	ДМ _[75 25]	-	3,60	1,20	1,88	0,53	1,13	2,03		
2-я	Me	-	25,00	21,70	21,25	23,45	22,90	27,00		0,016
	ДМ _[75 25]	-	2,80	3,50	2,20	3,45	2,70	3,00		
Сравнение*		(3:4) (3:5) (4:8) (5:8)								
<i>Альбумин/глобулиновое отношение (АГО)</i>										
1-я	Me	-	1,71	2,23	1,89	2,10	1,81	1,93	0,041	
	ДМ _[75 25]	-	0,17	0,16	0,55	0,17	0,36	0,33		
Сравнение*		(3:4) (3:6)								
2-я	Me	-	2,22	2,63	2,46	2,44	2,52	2,02		0,025
	ДМ _[75 25]	-	0,36	0,37	0,72	0,49	0,53	0,30		
Сравнение*		(3:4) (4:8) (5:8) (6:8) (7:8)								
<i>Мочевина, ммоль/л</i>										
1-я	Me	9,16	11,20	12,87	9,42	10,84	15,75	14,84	0,069	
	ДМ _[75 25]	1,12	0,98	4,76	2,72	2,76	2,93	3,47		
2-я	Me	9,65	11,75	10,84	11,05	11,50	15,68	13,76		0,025
	ДМ _[75 25]	1,72	0,75	1,08	2,45	1,60	3,20	2,91		
Сравнение*		(2:7) (2:8) (4:7) (6:7)								

Примечание. Оценку при повторных наблюдениях определяли по тесту Фридмана; множественное сравнение – по критерию Тьюки*. Достоверность определяли при $p \leq 0,05$.

Согласно попарному сравнению, достоверное увеличение мочевины у дельфинов 2-й группы проявлялось, когда сравнивали июль и август с февралём, апрелем и июнем. Согласно литературным данным, увеличение концентрации мочевины может свидетельствовать о наличии стресс-реакции у дельфинов [6]. У дельфинов 1-й группы в

концентрации мочевины в сыворотке крови достоверных различий не выявили.

В табл. 3 представлены результаты рангового корреляционного анализа за период с марта по август 2008 г. в обеих группах в трёх сочетаниях: 1) общий белок как независимая переменная, а альбумины и глобулины как зависимые переменные; 2) альбу-

Таблиця 3. Рангово-корреляційний тест Спірмена між деякими показателями білкового обміну в сироватці крові дельфінів 1-ї і 2-ї груп з травня по август 2008 г.

Показатели		Дельфіни							
		1-я группа				2-я группа			
Независимые	зависимые	<i>r</i>	<i>R</i> ²	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>R</i> ²	<i>t</i>	<i>p</i>
Общий белок	Альбумины	0,9283	0,8617	9,9844	0,0000	0,7915	0,6265	6,0748	0,0000
	Глобулины	-0,0413	0,0017	-0,1653	0,8708	0,4913	0,2414	2,6458	0,0148
Альбумины	АГО	0,9216	0,8493	9,4954	0,0000	0,5826	0,3394	3,3622	0,0028
		Глобулины	-0,4340	0,1883	-1,9267	0,0720	-0,8067	0,6508	-6,4036
Мочевина	Общий белок	0,0711	0,0051	0,3343	0,7413	-0,3235	0,1047	-1,3677	0,1903
	Альбумины	-0,0878	0,0077	-0,4135	0,6832	-0,1687	0,0285	-0,6847	0,5033
	Глобулины	0,2217	0,0492	1,0666	0,2977	-0,0640	0,0041	-0,2565	0,8009
	АГО	-0,2409	0,0580	-1,1641	0,2569	-0,1285	0,0165	-0,5182	0,6114

Примечание. *r* – коэффициент ранговой корреляции теста Спірмена, *R*² – коэффициент детерминации, *t*-критерий Стьюдента, достоверность определяли при *p* ≤ 0,05.

мины и глобулины как независимые переменные, а АГО как зависимая переменная и 3) мочевины как независимая переменная, а общий белок, альбумины, глобулины и АГО как зависимые переменные.

Как видно из табл. 3, у дельфинов 2-й группы при первом сочетании зависимость между общим белком и альбуминами и между общим белком и глобулинами была достоверной; корреляция между общим белком и альбуминами определялась как «высокая», между общим белком и глобулинами – как «средняя». У дельфинов 1-й группы корреляция между общим белком и альбуминами определялась как «очень высокая», при этом корреляция между общим белком и концентрацией глобулинов отсутствовала. Анализ *R*², выраженный через формулу: коэффициент участия = 100 % × *R*², показал, что в 1-й группе степень участия концентрации альбуминов в содержании общего белка составляла 92,83 %. Следовательно, 7,17 % изменений в содержании общего белка определялись другими факторами. Во 2-й группе степень участия концентрации альбумина в содержании общего белка составляла 62,65 %, глобулинов – 24,14 % (в сумме 86,79 %), следовательно, 13,21 % изменений в содержании общего белка определялись другими факторами. Таким образом, можно предположить, что увеличение почти в два раза (с 7,17 до 13,21 %) других факторов в концентрации общего белка отражает физиологические различия между дельфинами 1-й и 2-й групп.

При втором сочетании у дельфинов 2-й группы зависимость между альбуминами и

АГО и глобулинами и АГО была достоверной, корреляция между альбуминами и АГО определялась как «средняя», корреляция между глобулинами и АГО определялась как «высокая» и имела обратную зависимость. В то же время у дельфинов 1-й группы корреляция между альбуминами и АГО определялась как «очень высокая», при этом корреляция между концентрацией глобулина и АГО отсутствовала. Использование коэффициента детерминации при анализе АГО показало, что в 1-й группе участие альбуминов в изменении АГО определялось как 84,93 %, в то время как во 2-й группе доминирующую роль в определении АГО играло содержание глобулинов как 65,08 % и альбуминов как 33,94 %. Следовательно, во 2-й группе в отличие от 1-й имеется высоко детерминированный процесс в динамике АГО.

Как видно из данных табл. 3, при третьем сочетании ранговая корреляция между концентрацией мочевины, с одной стороны, и другими показателями белкового обмена в сыворотке крови, с другой, была не достоверной. Отсутствие корреляционной зависимости свидетельствует о том, что образование мочевины не зависит от концентраций общего белка, альбуминов и глобулинов. Хорошо известно [7], что образование мочевины происходит в орнитинном цикле и требует достаточной активности реакций переаминирования, определенной концентрации кислот трикарбонного цикла, АТФ и HCO₃.

Выводы

Вынужденные контакты дельфинов с незнакомыми людьми во время дельфиноте-

рапии вызывали существенные изменения концентраций глобулинов и мочевины в сыровотке крови и увеличивали степень детерминированности в альбумин/глобулиновом

отношении как от концентраций альбуминов, так и глобулинов. Эти изменения могут быть связаны с развитием хронического стресса у животных.

Список литературы

1. Масберг И. В. Оценка нейтрофильно/лимфоцитного отношения как показатель стресса у черноморских афалин (*Tursiops truncatus ponticus*) / И. В. Масберг, О. И. Попова, О. Н. Вербицкий // Арх. клін. експ. мед. (ч. I). – 2009 – № 4. – С. 54–58.
2. Особенности метаболизма черноморских афалин (*Tursiops truncatus ponticus*) при разных двигательных и температурных режимах / И. В. Масберг, О. И. Попова, Р. Ф. Павловский, О. Н. Вербицкий // Морские млекопитающие Голарктики : матер. V междунар. научн. конф. – Одесса, 2008. – С. 352–354.
3. Метод морфологических исследований элементов крови: дифференциальный подсчет лейкоцитарной формулы в процентах. Об унификации клинико-лабораторных методов исследований. Приказ МЗ СССР № 1175 от 21.11.1979 г.
4. Waples K. A. Evaluating and minimising social stress in the care of captive bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) / K. A. Waples, N. J. Gales // Zoo Biology. – 2002. – Vol. 21, № 1. – P. 5–26.
5. Hematological parameters in brood-rearing great tits in relation to habitat, multiple breeding and sex / P. Kilgas, R. Mand, M. Magi, V. Tilgar // Comp. Biochem. Physiol. – 2006. – Part A. Vol. 144, № 2. – P. 224–231.
6. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss / G. Kannan, T. H. Terrill, B. Kouakou [et al.] // J. Anim. Sci. – 2000. – Vol. 78, № 6. – P. 1450–1457.
7. Мельничук Д. А. Метаболическая система кислотно-щелочного гомеостаза в организме человека и животных / Д. А. Мельничук // Укр. бихим. журн. – 1989. – Т. 61, № 3. – С. 3–21.

І.В. Масберг, О.І. Попова, О.Н. Вербицкий

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ЧОРНОМОРСЬКИХ ДЕЛЬФІНІВ. ЧАСТИНА II

Вивчали вплив хронічного стресу на показники білкового обміну в сироватці крові у чорноморських дельфінів, що беруть участь у виставах (без тактильного контакту з незнайомими людьми) і в дельфінотерапії (з вимушеним тактильним контактом з незнайомими людьми). В другій групі виявили достовірні зміни в концентраціях глобулінів і сечовини. Рангову кореляцію Спірмена використовували для аналізу впливу альбумінів і глобулінів на альбумін/глобулінове відношення (АГВ). З використанням коефіцієнта детермінації (R^2) в групі дельфінів (без тактильного контакту) встановлена достовірна участь альбумінів і недостовірна глобулінів у зміні АГВ. У групі дельфінів з вимушеним тактильним контактом виявлена достовірна участь як глобулінів, так і альбумінів у зміні АГВ. Показано, що метаболічна регуляція є більш детермінованою, можливо, із-за розвитку хронічного стресу у дельфінів, що беруть участь у дельфінотерапії.

Ключові слова: дельфіни, дельфінотерапія, білковий обмін, хронічний стрес.

I.V. Masberg, O.I. Popova, O.N. Verbitsky

EFFECT OF CHRONIC STRESS ON BLOOD PLASMA PROTEIN METABOLISM IN THE BLACK SEA BOTTLE-NOSED DOLPHIN. PART II

The effect of the chronic stress development in the Black Sea bottle-nosed dolphins was studied. Dolphins were divided into participating in representations (without tactile contact) and participating in Dolphin-assisted therapy (with tactile contact). Spearman's test was used to calculate coefficient of determination R^2 . In dolphin's group without tactile contact a significant participation of the albumin and an insignificant participation of the globulin in AGR changes took place. In dolphin's group (with tactile contact) a significant participation of globulin and of albumin in AGR changes took place. The results indicate that metabolic regulation becomes more determined, possibly, due to chronic stress development in dolphins participating in Dolphin-assisted therapy.

Key words: dolphins, dolphin-assisted therapy, blood protein metabolism, chronic stress.

Поступила 06.12.11