

© Грабовський С.С., Грабовська О.С.

УДК 636.4:612.176.398

**Грабовський С.С., \*Грабовська О.С.**

## **ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ВМІСТ ПРОТЕЇНОВИХ ФРАКЦІЙ ПЛАЗМИ КРОВІ КНУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ**

**Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Ґжицького (м. Львів)**

**Інститут біології тварин НААН, Україна (м. Львів)**

**grbss@ukr.net, alice\_grb@inenbiol.com.ua**

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Обґрунтування впливу біологічно активних речовин на регуляцію клітинного метаболізму, імунної системи організму тварин і птиці в умовах стресу», № держ. реєстрації 0112U000761.

**Вступ.** На сучасному етапі розвитку науки особливе місце займає дослідження механізмів життєдіяльності тварин та свиней зокрема, в умовах промислового виробництва свинини. Такого характеру дослідження дозволяють удосконалити адаптацію тварин до стресових ситуацій, які виникають у процесі вирощування та, що найважливіше, у передзабійний період. Основні показники крові дозволяють судити про стан організму і про його захисні можливості, оскільки процеси, пов'язані з ростом і розвитком, завжди відбиваються на протеїновому спектрі крові. Чимало експериментальних робіт були спрямовані на дослідження впливу стресу на: свиней різних генетичних ліній [14], на стан тварин, пов'язаний з ранньою супоросністю [16], різними температурними режимами [17] впливу на імунологічні показники [13] та характеристиці м'ясних якостей [10, 11].

Протеїни відіграють важливу роль в життєдіяльності організму, оскільки є пластичним матеріалом, з якого синтезуються усі клітини і тканини організму. Вміст білків крові характеризується великою стабільністю і за нормальних умов не піддається значним коливанням. У літературі є ряд досліджень, що підтвердили взаємозв'язок між деякими біохімічними показниками крові, зокрема протеїнами і м'ясною продуктивністю [6, 9, 19].

Утворюючи комплекси з токсичними речовинами, альбуміни як важливий пластичний матеріал, знешкоджують їх, а за необхідності використовуються як енергетичне джерело. Протеїни глобулінових фракцій, зокрема –  $\alpha$  і  $\beta$ -глобуліни беруть активну участь у підтримці осмотичного тиску крові, крім того,  $\beta$ -глобуліни активно проявляють захисні властивості. Імунні властивості проявляють  $\gamma$ -глобуліни, оскільки містять антитіла до збудників різних інфекційних хвороб і є основними носіями антитіл в організмі. Проведені дослідження на свинях різних спеціалізованих типів показали вищий рівень  $\gamma$ -глобулінів у гібридів, що вказує на вищі захисні можливості цих тварин до вироблення антитіл [5]. Протеїнові фракції сироватки крові у свиней зазнають в онтогенезі кількісні зміни, що залежать, у першу чергу, від фі-

зіологічного стану тварин, їх віку, дії технологічних процесів, та все ж забезпечують гомеостаз. Є дослідження про стимуляцію компенсаторно-адаптивних реакцій на організм свиней та блокування біологічно активних центрів мікроін'єкціями атропіну [7]; про використання водного розчину глобуліну під час відлучення порослят від свиноматки для зняття стресу за ще незрілої імунної системи і дефіциті імуноглобулінів [18]. На наш погляд цей засіб малоефективний за умов використання на великих свинокомплексах. Поряд з тим мало уваги приділяється впливу передзабійного стресу на стан імунної системи кнурів.

**Мета дослідження** – вивчити вплив екстракту селезінки, що містить поліаміни [2, 3], на вміст протеїнових фракцій крові кнурів перед забоєм.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослід провели на 15 кнурів породи Петрен-Дюрок, яких утримували у клітках на сухому кормі ТзОВ «Лемберг-Агро» села Ліщини Жидачівського району Львівської області. Для дослідження було сформовано три групи тварин 6-місячного віку (по 5 тварин у кожній). Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п'ять діб до забою) використовували екстракт селезінки, одержаний із використанням ультразвуку (I дослідна група). Екстракти наносили на сухий корм аерозольним методом (70° спиртовий розчин екстракту селезінки об'ємом 1,4 мл на тварину). Тваринам II дослідної групи таким же чином давали до корму 70° розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Кнурці контрольної групи отримували лише сухий корм господарства. За умов експерименту були збережені усі біоетичні норми згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та дотриманням принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти [15].

Електрофоретичне розділення протеїнових фракцій плазми крові кнурів здійснювали у пластинках 7,5% поліакриламідного гелю (ПААГ). Крім того, у плазмі крові шурів визначали вміст кортизолу за допомогою твердофазного імуноферментного методу імуносорбційним набором, створеним за принципом конкуренції. Зразок плазми крові з ендogenous кортизолом інкубували у лунці разом

Таблиця 1

Співвідношення білкових фракцій плазми крові кнурів до транспортування, (%;  $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Фракції білків (%):	Групи тварин		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
<b>Перед транспортуванням</b>			
Альбуміни	17,2±4,92	18,8±8,08	15,0±3,16
Глобуліни: $\alpha$	21,0±7,25	26,2±7,73	32,0±12,23
$\beta$	16,4±6,11	16,6±8,56	9,4±4,78
$\gamma$	45,6±8,47	36,4±4,22	44,0±11,68

Таблиця 2

Співвідношення білкових фракцій плазми крові кнурів після транспортування, (%;  $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Фракції білків (%):	Групи тварин		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
<b>Після транспортування</b>			
Альбуміни	18,6±5,94	21,6±7,83	22,2±5,07
Глобуліни: $\alpha$	15,6±5,18*	18,6±9,61	35,2±3,96
$\beta$	14,6±1,52**	14,6±6,69	9,4±3,85
$\gamma$	51,6±5,37*	45,0±11,34	33,4±4,34

Примітка: статистично вірогідні різниці: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$  (стосовно контролю).

з ензимним кон'югатом. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивали водою. Кількість зв'язаної пероксидази зворотно пропорційна концентрації кортизолу у зразку. Після додавання субстрату змінювалась інтенсивність забарвлення, що зворотно пропорційна концентрації кортизолу у досліджуваному зразку [1].

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Результати вважали вірогідними за  $\leq 0,05$ .

**Результати досліджень та обговорення.** Аналізуючи показники протеїнових фракцій плазми крові кнурів до транспортування ми не спостерігали вірогідних різниць їх концентрації (табл. 1). Відмічено тенденцію до зменшення  $\alpha$ -глобулінової фракції та деяке збільшення  $\beta$ -глобулінів в обох дослідних групах порівняно з контролем. Після транспортування і власне перед забоем у кнурів обох дослідних груп спостерігається тенденція до деякого зниження концентрації альбумінів. Щодо фракції глобулінів, то у плазмі крові кнурців лише I дослідної групи концентрація  $\alpha$ -глобулінів вірогідно зменшується

вдвічі ( $P \leq 0,05$ ), у той час як відмічається вірогідне збільшення вмісту у 1,5 разу як фракції  $\beta$ -глобулінів ( $P \leq 0,01$ ) так і фракції  $\gamma$ -глобулінів ( $P \leq 0,05$ ), порівняно з контролем (табл. 2).

За результатами гематологічних показників у тварин контрольної групи на тлі стресу спостерігалось зниження  $\gamma$ - та  $\beta$ -глобулінів, що свідчить про сповільнення процесів транспортування поживних речовин клітинам та зниження захисту організму від несприятливих чинників зовнішнього середовища, що співпадає з дослідженнями деяких авторів [4, 8, 12].

**Висновки.**

На основі проведених гематологічних досліджень можна зробити висновок, що використання екстракту селезінки як стрес-коректора у раціонах сприяє підвищенню  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів у плазмі крові кнурів, змінює опірність організму та підтверджує компенсаторні можливості поліамінів.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження показників клітинного та неспецифічного імунітету у крові кнурців за використання імуномодуляторів тваринного походження за умов передзабіяного стресу.

**Література**

1. Влізло В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; за ред. В. В. Влізла. – Львів : Сполом, 2012. – 764 с.
2. Грабовский С. С. Экстрагирование биологически активных веществ селезенки с использованием ультразвука [Текст] / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. – Иваново : МАРКОВА А. Д., 2013. – Т. 49, Вып. 4. – С. 3-6.
3. Грабовський С. С. Вміст поліамінів та їх корекція у крові та тканинах курчат-бройлерів за умов стресу / С. С. Грабовський // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 18-25.
4. Корнева Е. А. О взаимодействии нервной и иммунной систем / Е. А. Корнева // Иммунология. – СПб. : Наука, 1993. – С. 7-9.
5. Лодянов В. В. Биохимические показатели крови свиной специализированных типов / В. В. Лодянов, Е. А. Ганзенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 97, № 03. – С. 1-10.
6. Максимов Г. В. Взаимосвязь биохимических показателей крови с мясной продуктивностью свиной / Г. В. Максимов, Е. Ю. Гулько, В. Г. Максимов // Актуальные проблемы производства свинины: Сб. Науч. трудов ДонГАУ. – пос. Персиановский, 2001. – С. 42-43.
7. Мамаев А. В. Гемогормональный статус организма свиной при стимуляции компенсаторно-адаптационных реакций / А. В. Мамаев // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2010. – Т. 23, № 2. – С. 32-36.

8. Ряднов А.А. Влияние адаптогена стресс-корректора на биохимические показатели крови свиней, характеризующие белковый обмен / А.А. Ряднов, Е.В. Петухова, В.В. Саломатин // Известия нижеволжского агроуниверситетского комплекса. – 2009. – Т. 4, № 16. – С. 71-74.
9. Шахбазова О. П. Биохимические показатели крови и их взаимосвязь с откормочными и мясными качествами у свиней разных генотипов / О. П. Шахбазова // Свиноводство. – 2011. – С. 100-103.
10. Hambrecht E. Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions / E. Hambrecht, J. J. Eissen, D. J. Newman [et al.] // J. Anim. Sci. – 2005. – Vol. 83. – P. 440-448.
11. Hambrecht E. Rapid chilling cannot prevent inferior pork quality caused by high preslaughter stress / E. Hambrecht, J.J. Eissen, W.J.H. de Klein [et al.] // J. Anim. Sci. – 2004. – Vol. 82. – P. 551-556.
12. Hicks T. A. Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress / T. A. Hicks, J.J. McGlone, C. S. Whisnant [et al.] // Journal of animal science-menasha then albany then champaign illinois. – 1998. – Vol. 76. – P. 474-483.
13. Kick A. R. Stress and immunity in the pig / A. R. Kick, M. B. Tompkins, G. W. Almond // Animal Science Reviews. – 2011. – Vol. 212. – P. 51.
14. Nyberg L. Effects of transport stress on concentrations of cortisol, corticosteroid-binding globulin and glucocorticoid receptors in pigs with different halothane genotypes / L. Nyberg, K. Lundström, I. Edfors-Lilja [et al.] // J. Anim. Sci. – 1998. – Vol. 66. – P. 1201-1211.
15. Official Journal of the European Union L276/33. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.
16. Rault J. L. Allopregnanolone and social stress: regulation of the stress response in early pregnancy in pigs / J. L. Rault, K. Plush, T. Yawno, P. Langendijk // Stress. – 2015. – Vol. 11. – P. 1-9. PMID: 26068516 [PubMed].
17. Soma P. Frequency of the malignant hyperthermia gene in the South African pig industry: short communication / P. Soma, E. Van Marle-Koster, L. Frylinck // South African Journal of Animal Science. – 2014. – Vol. 44, №. 4. – С. 384-387.
18. Weaver E.M. «Water-soluble globulin concentrate for improving growth in animals» / E.M. Weaver, U.T. Daniel. U.S. Patent No. 8,992,914. 31 Mar. 2015.
19. Wendt M. Porcine stress syndrome and PSE meat: clinical symptoms, pathogenesis, etiology and animal rights aspects / M. Wendt, K. Bickhardt, A. Herzog [et al.] // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – 2000. – Vol. 113. – P. 173-190.

УДК 636.4:612.176.398

### ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ВМІСТ ПРОТЕЇНОВИХ ФРАКЦІЙ ПЛАЗМИ КРОВІ КНУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ

Грабовський С.С., Грабовська О.С.

**Резюме.** У статті представлені дані про вміст протеїнових фракцій у плазмі крові кнурів, яким додатково до раціону корму вносили біологічно активні речовини природного походження.

У передзабійний період антистресорами та імуномодуляторами були біологічно активні речовини з екстракту селезінки, отриманого із застосуванням ультразвуку (I дослідна група). Екстракти наносили на сухий корм аерозольним методом. Тваринам II дослідної групи таким же чином давали до корму 70 °розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Кнурці контрольної групи отримували лише сухий корм господарства.

Після транспортування і власне перед забоєм аерозольне введення екстракту селезінки призводило до вірогідного зменшення вдвічі ( $P \leq 0,05$ ) у плазмі крові кнурів концентрації  $\alpha$ -глобулінів та збільшення у 1,5 разу вмісту як  $\beta$ -глобулінів ( $P \leq 0,01$ ), так і фракції  $\gamma$ -глобулінів ( $P \leq 0,05$ ) порівняно з контролем.

Використання екстракту селезінки як стрес-коректора у раціонах сприяло підвищенню  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів у плазмі крові кнурів, що зміцнює опірність організму та підтверджує компенсаторні можливості поліамінів.

**Ключові слова:** кнури, передзабійний стрес, екстракт селезінки, протеїнові фракції.

УДК 636.4:612.176.398

### ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ ХРЯКОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Грабовский С.С., Грабовская А.С.

**Резюме.** В статье представлены данные о содержании белковых фракций в плазме крови хряков, которым дополнительно к корму добавляли биологически активные вещества естественного происхождения.

В качестве антистрессоров и иммуномодуляторов в передубойный период служили биологически активные вещества из экстракта селезенки, полученного с использованием ультразвука (I опытная группа).

Экстракты наносили на сухой корм аерозольным методом. Животным II опытной группы таким же образом давали в корм 70° раствор этанола в аналогичном объеме. Кабанчики контрольной группы получали только сухой корм хозяйства.

После транспортировки и собственно перед убоем аерозольное введение экстракта селезенки приводило к достоверному уменьшению в два раза ( $P \leq 0,05$ ) концентрации  $\alpha$ -глобулинов и увеличению в 1,5 раза содержания как  $\beta$ -глобулинов ( $P \leq 0,01$ ), так и фракции  $\gamma$ -глобулинов ( $P \leq 0,05$ ) в плазме крови хряков в сравнении с контролем.

Использование экстракта селезенки как стресс-корректора в рационах способствовало повышению  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов в плазме крови хряков, что укрепляет сопротивляемость организма и подтверждает компенсаторные возможности полиаминов.

**Ключевые слова:** хряки, передубойный стресс, экстракт селезенки, белковые фракции.

UDC 636.4:612.176.398

### **Natural Origin Immunomodulators Influence on Protein Fractions Concentration in Boar Blood under Stress**

**Grabovskyi S.S. , Grabovska O.S.**

**Abstract.** The results of determination of protein fractions content in boars blood plasma before slaughter after using of biologically active substances – animal origin immunomodulator are presented in the article.

As an antistressors and immunomodulators in pre-slaughter period were used of spleen extract biologically active substances obtained with ultrasound application.

*The purpose of research* – determination of changes of protein fractions, in boars blood before slaughter and their correction of natural origin biologically active substances (spleen extract).

*Object and research methods.* The experiment was conducted on 15 boars with standard diet.

Three groups of boars six months of age (5 boars each) was formed for research.

The spleen extract was obtained with ultrasound application (first research group) were using as an biologically active substances to the feed boars in pre-slaughter period (five days before slaughter).

The extracts were applied to dry feed by aerosol method (70 °alcohol solution of spleen extract volume of 1.4 ml per chicken).

The boars of second research group in the same way received to the feed of 70 °ethanol solution in the same volume.

The boars of control group received only dry feed economy.

The feed eating by boars was exercised daily.

The boars ate food completely.

The boars slaughter was held on day 13 hours a.m.

The blood plasma protein fractions separation was carried out by horizontal electrophoresis in polyacrylamide gel (PAAG).

Mathematical treatment of the research results worked statistically using the software package Statistica 6.0 and Microsoft Excel for Windows XP. Probability differences was assessed by Student t-test and results considered likely at  $P \leq 0.05$ .

*Results and discussion.* We measured the ratio of blood plasma protein fractions of boars, which in addition to the feed fed of natural origin biologically active substances.

As a result of research was found that in boars blood plasma of first experimental group after transportation and before slaughter actually  $\alpha$ -globulin concentrations reliably decreased twice ( $R \leq 0.05$ ) and as  $\beta$ -globulin content ( $R \leq 0.01$ ) and  $\gamma$ -globulin fraction content ( $R \leq 0.05$ ) increased in 1.5 times compared with the control.

On the boars feeding final stage is necessary to consider a pre-slaughter stress and to apply of natural origin biologically active substances.

Using in diets of spleen extract as stress-corrector improves  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins in boars blood plasma strengthens body resistance and confirms compensatory possibilities polyamines.

The results which obtained can to use in researches on other farm animals for organism resistance increasing, correction and avoid their pre-slaughter stress and improve product quality.

**Keywords:** boars, pre-slaughter stress, spleen extract, protein fractions.

*Рецензент – проф. Костенко В.О.*

*Стаття надійшла 18.07.2015 р.*