

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

ГРАБОВСЬКИЙ СТЕПАН СТЕФАНОВИЧ

УДК 636–092.9:612.176:57.017.7:577.12

АДАПТОГЕННИЙ ВПЛИВ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ПРЕПАРАТУ
СЕЛЕЗІНКИ ЗА УМОВ СТРЕСУ ТВАРИН ПЕРЕД ЗАБОЄМ

03.00.04 — біохімія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Львів — 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі біологічної та загальної хімії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Науковий консультант — доктор сільськогосподарських наук,
професор, член-кореспондент НААН
КИРИЛІВ Ярослав Іванович,
Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України
СТОЙКА Ростислав Стефанович,
Інститут біології клітини НАН України,
завідувач відділу регуляції проліферації
клітин та апоптозу;

доктор біологічних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
РИБАЛЬЧЕНКО Володимир Корнійович,
Київський національний університет імені Тараса
Шевченка, завідувач Науково-дослідного сектору
«Мембранології і цитології»;

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
ДАНИЛОВИЧ Юрій Володимирович,
Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України,
провідний науковий співробітник відділу біохімії м'язів

Захист відбудеться «30» січня 2017 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.368.01 Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Стуса, 38.

Автореферат розісланий «29» грудня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О. І. Віщур

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Впродовж свого життя людина постійно зазнає впливу різних екологічних чинників, способу життя і харчування, сфери діяльності, фізичних і психологічних навантажень. Завдяки здоровому способу життя і раціональному харчуванню можна запобігти виникненню багатьох захворювань. Серед якісних характеристик їжі на перше місце прийнято ставити не лише її калорійність, але й смакові властивості, вміст макро- й мікронутрієнтів, неаліментарних сполук, а також відсутність у ній генетично модифікованих організмів, консервантів, барвників. Водночас наслідки споживання продуктів від тварин, які зазнали стресу перед забоєм, вивчені недостатньо.

Уперше вади м'яса, одержаного від тварин (свиней) за умов стресу, описав американський учений E. J. Briskey (1966). Ці вади виникають унаслідок: 1) змін у швидкості післязабійного розпаду глікогену й утворення молочної кислоти в м'язах; 2) виділення у стані тривоги адреналіну, який є активатором обміну речовин у м'язах і пришвидшує утворення молочної кислоти; 3) нестачі аденозинтрифосфату і креатинфосфату, що прискорює втрату еластичності м'язових волокон і зумовлює їх передчасне залякання. Аденозинфосфат, який на момент забою міститься в м'язах у достатній кількості, утворює сполуки з іонами Кальцію та Магнію, що підвищує здатність тканин утримувати воду (Adzitey F., 2010). У м'язах тварин, які незадовго до забою, наприклад, під час транспортування, зазнавали фізичного і емоційного навантаження, порушуються обмінні процеси (Gary C., 2004; Mach N., 2008; Adzitey F., 2011; Węglarz A., 2011; Costa L., 2013; Keenan J., 2015; Franco D., 2015). Одним із аспектів прижиттєвого стресу, який може вплинути на якість м'яса, є випромінювання твариною тепла (Schaefer L., 2001). За активації гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової ланки та підвищення рівня катаболічних процесів, пов'язаних зі стресом перед забоєм, продукування тепла в тілі тварин значно зростає.

Наведені дані вказують на необхідність більш глибокого вивчення причин виникнення і розвитку передзабійного стресу, а також розроблення методів діагностики і заходів запобігання його негативному впливу. Наявні дані доводять, що шкідливий вплив стресових чинників за умов промислового ведення тваринництва можна усунути не лише селекційними, технологічними, але й фармакологічними методами. Результати низки проведених біохімічних досліджень є суперечливими щодо впливу стресу на організм, і ці протиріччя не випадкові, оскільки вплив глюкокортикоїдів як і самого стресу має не тільки дозозалежний характер, але й фазовий, і, що більше, детермінується віком та генетичними характеристиками організму. Це доводить актуальність вивчення біохімічних механізмів впливу стресу на організм і важливість пошуку можливостей фармакологічної регуляції порушень.

Очевидно, що пошук засобів зовнішнього впливу для усунення проявів негативного впливу передзабійного стресу у тварин слід продовжити й урізноманітнити. Тому наша робота була скерована на з'ясування особливостей метаболічних процесів у клітинах різних видів тварин за умов передзабійного стану, а також на створення препарату природного походження, що містить біологічно

активні речовини і здатний нівелювати наслідки стресу у тварин перед забоєм. Розв'язання цих завдань дасть змогу не лише підвищити якість споживаної тваринної продукції, але й покращити деякі показники клітинного імунітету в людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано впродовж 2000–2015 років у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького відповідно до програми підготовки спеціалістів вищої кваліфікації через докторантуру. Наукові дослідження виконували на кафедрі біологічної та загальної хімії за темою: «Обґрунтування впливу біологічно активних речовин на регуляцію клітинного метаболізму, імунної системи організму тварин і птиці в умовах стресу» (номер державної реєстрації 0114U000788). Тему затвердило Міністерство аграрної політики і продовольства в галузі «Наукові і науково-дослідні розробки» за державними програмами і державним замовленням «Наука в університетах».

Мета і завдання дослідження. Мета — з'ясувати вплив біологічно активних речовин препарату селезінки на енантіостаз, імунну функцію організму лабораторних і сільськогосподарських тварин за умов стресу перед забоєм та отримати ефективний препарат адаптогенної дії проти стресу, який виникає у тварин у передзабійний період.

Для досягнення поставленої мети розв'язували такі дослідницькі завдання:

— провести біохімічні, імунологічні та морфометричні дослідження крові і тканин, щоб з'ясувати біологічні особливості передзабійного стану лабораторних і сільськогосподарських тварин;

— здійснити мас-спектрометричне дослідження та ідентифікацію речовин, що містяться у створеному препараті біологічно активних речовин із селезінки свині, та дослідити його антистресову й імуностимулювальну дію;

— використати метод проточної цитофлуориметрії для дослідження впливу біологічно активних речовин із препарату селезінки свині на прояв ознак апоптозу в клітинах крові щурів різної статі у передзабійний період;

— порівняти дію одержаного препарату з селезінки із дією пророщеного зерна пшениці та екстрактів ехінацеї, лимоннику китайського на: а) деякі біохімічні показники крові лабораторних тварин, зокрема вміст гормонів: (кортизол), протеїнових фракцій, нейтральних ліпідів і фосфоліпідів крові, а також на активність ензимів (супероксиддисмутаза, каталаза, трансамінази) та на деякі функціональні показники клітин імунної системи лабораторних тварин у передзабійний період; б) гістологічні та морфометричні зміни у наднирникових залозах, нирці, підшлунковій залозі, селезінці та печінці щурів у передзабійний період;

— дослідити вплив біологічно активних речовин препарату селезінки свині на біохімічні та імунологічні показники крові кроликів, бугайців, кнурців і курчат-бройлерів у передзабійний період;

— вивчити вплив споживання м'яса курчат-бройлерів з урахуванням їх стану перед забоєм на деякі показники клітинного імунітету людини.

Об'єкт досліджень — метаболічні процеси і функціональний стан клітин імунної системи в організмі лабораторних і сільськогосподарських тварин за умов стресу перед забоєм та впливу препарату адаптогенної дії.

Предмет дослідження — біологічно активні речовини препарату із селезінки свині, вміст гормонів, активність ензимів, клітинний імунітет, біохімічні та морфометричні характеристики органів і тканин різних видів тварин за умов стресу перед забоєм.

Методи досліджень — біохімічні, імунологічні, цитологічні, гістологічні, морфологічні, фізико-хімічні, зоотехнічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше отримано дані про особливості передзабійного стану лабораторних і сільськогосподарських тварин, а також про антистресову та імуностимулювальну дію одержаного препарату із селезінки свині «Сплінактив». Мас-спектрометричним аналізом ідентифіковано речовини цього препарату й визначено їх кількісний вміст. Показано, що препарат «Сплінактив» містить фосфоліпіди, такі як фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, фосфатидилінозитол, а також поліаміни та аргінін, які діють як імуностимулятори та антистресорні чинники для тварин перед їх забоєм. З'ясовано вплив біологічно активних речовин препарату на окремі біохімічні показники крові тварин та функціональні показники імунного статусу в організмі тварин різних видів за умов передзабійного стресу. Виявлено, що ці речовини зменшують негативні наслідки передзабійного стресу у тварин і підвищують показники клітинного та гуморального імунітету, такі як кількість Т- і В-лімфоцитів, фагоцитарна активність нейтрофілів, фагоцитарний індекс, фагоцитарне число. Препарат також діяв позитивно на показники неспецифічного імунітету всіх видів тварин зокрема, зростав фагоцитарний індекс нейтрофілів у щурів; фагоцитарна активність нейтрофілів і фагоцитарне число у кроликів та кнурців; фагоцитарна активність нейтрофілів у бугайців.

Уперше показано, що рівень кортизолу в плазмі крові щурів змінювався залежно від порядку взяття тварин із кліток: зростав у п'ять разів у щурів, яких брали з кліток п'ятими за чергою з кожної групи порівняно з тваринами, яких брали з кліток першими; у щурів, яких брали з кліток четвертими та п'ятими з кожної групи, рівень кортизолу вірогідно підвищувався майже у півтора разу. Рівень адренкортикотропного гормону (АКТГ) в плазмі крові бугайців перед постановкою на дослід був нижчим від рівня гормону до транспортування бугайців на м'ясокомбінат, тобто через п'ять діб від початку роботи з тваринами. Уперше встановлено, що бугайці перед транспортуванням зазнавали більшого стресу, ніж перед постановкою на дослід.

Уперше з'ясовано, що використання препарату селезінки перед забоєм самиць щурів знижує рівень апоптозу спленоцитів їх селезінки, у самців, навпаки, підвищує рівень апоптичних клітин селезінки.

Дія препарату селезінки свині на вміст гормонів, протеїнів, ліпідів крові, на активність ензимів і функціональні показники клітин імунної системи, а також на гістологічні та морфометричні зміни в наднирникових залозах, нирці, підшлунковій залозі, селезінці та печінці лабораторних тварин у передзабійний період була

подібною до дії екстрактів ехінацеї, лимоннику китайського та пророщеного зерна пшениці.

Експериментально доведено стимулювальний вплив споживання м'яса курчат-бройлерів з урахуванням їх стану перед забоєм на функціональні показники клітинного імунітету людини.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновано метод одержання препарату з селезінки свині з використанням ультразвуку для підвищення імунної реактивності і корекція стресового стану кроликів, птиці, кнурців і бугайців перед забоєм (Патент України на корисну модель UA № 92225, 2014. (Патент України на корисну модель UA № 98958, 2015).

Розроблено новий ефективний спосіб нормалізації функцій клітинного імунітету, активації метаболізму, приросту маси тіла і нівелювання передзабійного стресового стану курчат-бройлерів (Патент України на корисну модель UA № 98752, 2015). Одержані результати досліджень рекомендовані для використання в годівлі сільськогосподарських тварин у передзабійний період для нівелювання їх стресового стану і стимулювання імунітету з метою зменшити негативний вплив на показники якості м'яса, а також як рекомендації у харчуванні людини. Після споживання м'яса курчат-бройлерів, які перед забоєм отримували препарат із селезінки свині, вірогідного підвищувався індекс стимуляції нейтрофілів у крові людини (чоловіків) на 0,89 г/л (34,8 %), що, однак, не виходило за межі фізіологічної норми. На завершальній стадії відгодівлі сільськогосподарських тварин рекомендовано нівелювати передзабійний стрес за допомогою запропонованого способу використання біологічно активних речовин препарату селезінки свині. (Технічні умови України 21.2–00492990–013:2016. Препарат «Сплінактив»). Результати проведених досліджень використовуються в науковому та навчальному процесі на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» та кафедрі біохімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, що підтверджено відповідними документами.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно обґрунтував наукову концепцію дисертаційної роботи, сформулював мету і визначив основні завдання дослідження, опрацював і проаналізував наукову літературу, організував і виконав увесь обсяг експериментальних досліджень, здійснив статистичну обробку отриманих даних. Він також проаналізував та інтерпретував отримані дані, сформулював висновки. Аналіз амінокислотного складу і високомолекулярних жирних кислот тканин проведено спільно у Державному науково-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів та кормових добавок (м. Львів). Дослідження вмісту поліамінів у крові і тканинах проведено спільно в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (м. Київ). Ідентифікацію та кількісний аналіз біологічно активних речовин, що містяться у препараті з селезінки свині «Сплінактив», проведено спільно у Львівському науково-дослідному експертно-криміналістичному центрі МВС України. Показники індукції апоптозу в клітинах крові тварин за дії на них передзабійного стресу та його корекції препаратом із селезінки свині визначали спільно в Інституті біології клітини НАН України (м. Львів).

Із експериментальних досліджень і публікацій зі співавторами, за їхньої згоди, використані лише ті результати, які отримані особисто дисертантом. Особистий внесок автора у спільних розробках визначений у списку друкованих праць.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи апробовані на: III Symposium Ukraine-Österreich Landwirtschaft: Wissenschaft und Praxis. Tschernivci, 2000; I-st Polish-Ukrainian Scientific Conference ANIMAL SCIENCES IN THE XXI CENTURY, Krakow, 2001; IV Симпозиум «Австрія – Україна. Сільське господарство: наука та практика», 2002 р., Гумпенштайн / Раумберг — Штирія, Австрія; EU-Osterweiterung — Chancen für die Wirtschaft Thüringens (Tagungsstrang Technologie), 2004, Sparkassen-Finanzzentrum Erfurt; XI Український біохімічний конгрес, 2014 р., Київський національний університет імені Тараса Шевченка; II Международная научно-практическая конференция «Современная биология: актуальные вопросы», Росія, Санкт-Петербург, 2014 р.; Міжнародна науково-технічна конференція «Стан і перспективи харчової науки та промисловості», 2015 р., Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя; Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», Інститут біології тварин НААН, 2015 р., 2016 р., Львів.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 50 друкованих праць: 39 статей, з них 24 — у фахових виданнях з біологічних наук (16 — без співавторів), 3 патенти України на корисну модель, 1 Технічні умови України, 7 тез доповідей. 24 статті опубліковано у наукових періодичних виданнях (з них — 3 закордонні), включених до міжнародних наукометричних баз даних.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація включає такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати експериментальних досліджень», «Аналіз і узагальнення результатів дослідження», «Висновки», «Практичні рекомендації», «Список використаних джерел» (741 найменування, у тому числі українською та російською мовами — 282, іншими мовами — 459 і «Додатки» (7). Дисертацію викладено на 368 сторінках комп'ютерного тексту, її основна частина становить 276 сторінок, робота містить 54 таблиці і 73 рисунки, з яких 2 повністю займають площу сторінки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. Сформований з чотирьох підрозділів, у яких проаналізовано сучасні уявлення про біохімічні та імунологічні порушення, що виникають за умов передзабійного стресу. Охарактеризовано різні біологічно активні речовини, за наявності яких нівелюється стрес у сільськогосподарських тварин. Вивчено потенційну біологічну роль поліамінів у регуляції стресових реакцій та їх вплив на деякі показники біохімічного, імунологічного статусу організму. Наведено загальну характеристику впливу продуктів харчування на організм людини. На основі аналізу даних літератури сформульовано мету й визначено основні завдання дисертаційної роботи.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано у 2000–2015 роках на кафедрі біологічної та загальної хімії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій

імені С. З. Гжицького за такими напрямками: 1) визначення біохімічних показників крові та показників функціонального стану імунних клітин крові різних видів тварин (лабораторних — щурів і сільськогосподарських — кролики, кнурці, бугайці, курчата-бройлери) за умов передзабійного стресу; 2) експериментальне обґрунтування необхідності використання адаптогенів та імуностимуляторів перед забоєм тварин для зменшення негативних наслідків такої дії на них; 3) одержання біологічно активних речовин із селезінки, перевірка ефективності їх стрес-нейтралізуючої дії на щурах порівняно з дією екстрактів ехінацеї та лимоннику китайського і пророщеного зерна пшениці; 4) застосування одержаного препарату із селезінки свині для сільськогосподарських тварин (кролики, кнурці, бугайці та курчата-бройлери) за умов стресу перед забоєм; 5) дослідження особливостей впливу споживання м'яса курчат-бройлерів з урахуванням передзабійного стану на деякі показники клітинного імунітету організму людини.

Препарат селезінки свині виготовляли попереднім заморожуванням селезінки в морозильній камері (п'ять діб за температури 5–6 °С), розморожували за кімнатної температури та подрібнювали у м'ясорубці. Подрібнену селезінку (100 г) заливали 200 мл дихлоретану і піддавали дії ультразвуку протягом 5 хв. Застосовували препарат і без дії ультразвуку. Для цього використовували розроблений нами пристрій у звуковому і низькоультразвуковому діапазоні в межах 37–40 кГц. Одержаний екстракт перемішували в герметичній посудині одну добу на шутель-апараті за +18 °С. Відфільтровували і відганяли дихлоретан за температури +45 °С під вакуумом (640 мм рт. ст.) до його повного видалення. Осад, що залишився після видалення дихлоретану, розчиняли в 100 мл 70% етанолу. Одержаний препарат використовували протягом п'яти діб перед забоєм тварин, наносячи його на корм.

Хромато-мас-спектрометричний аналіз хімічного складу препарату селезінки свині. Екстрагування загальних ліпідів із дослідного матеріалу здійснювали за модифікованою методикою Е. С. Bligh, W. J. Dyer (1959). Розділення та ідентифікацію ліпідних компонентів проводили на системі хромато-мас-спектрометрії фірми Agilent Technologies (газовий хроматограф 6890N і мас-селективний детектор 5975B). Процентний вміст кожного аналізованого компонента визначали за допомогою методу порівняння його середньої площі піку до загальної площі. Продукти ідентифікували за допомогою програми AMDIS, із порівнянням каталогів мас-спектрів Wiley та NIST 2008.

Загальна схема проведених досліджень представлена на рис. 1.

Дослідження проводили на *білих статевозрілих самцях і самцях* лабораторних щурів лінії Вістар із масою тіла 180–220 г. Тварин утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням 12-годинного режиму освітлення темнота/світло за +20–22 °С, з вільним доступом до питної води та корму. Щурам згодовували стандартний брикетований комбікорм для лабораторних тварин (ДСТУ 4142–2002, виробник ТОВ «Д-МІКС», Україна). У першому досліді сформовано три групи тварин (по п'ять у кожній). Щурів із кожної клітки брали одночасно і почергово — від першої до п'ятої тварини. У другому досліді сформовано чотири групи (три дослідні (I, II і III) та контрольну (IV)) по 5 щурів у кожній. За п'ять діб до забою тварин використовували щоденно біологічно активні речовини препарату

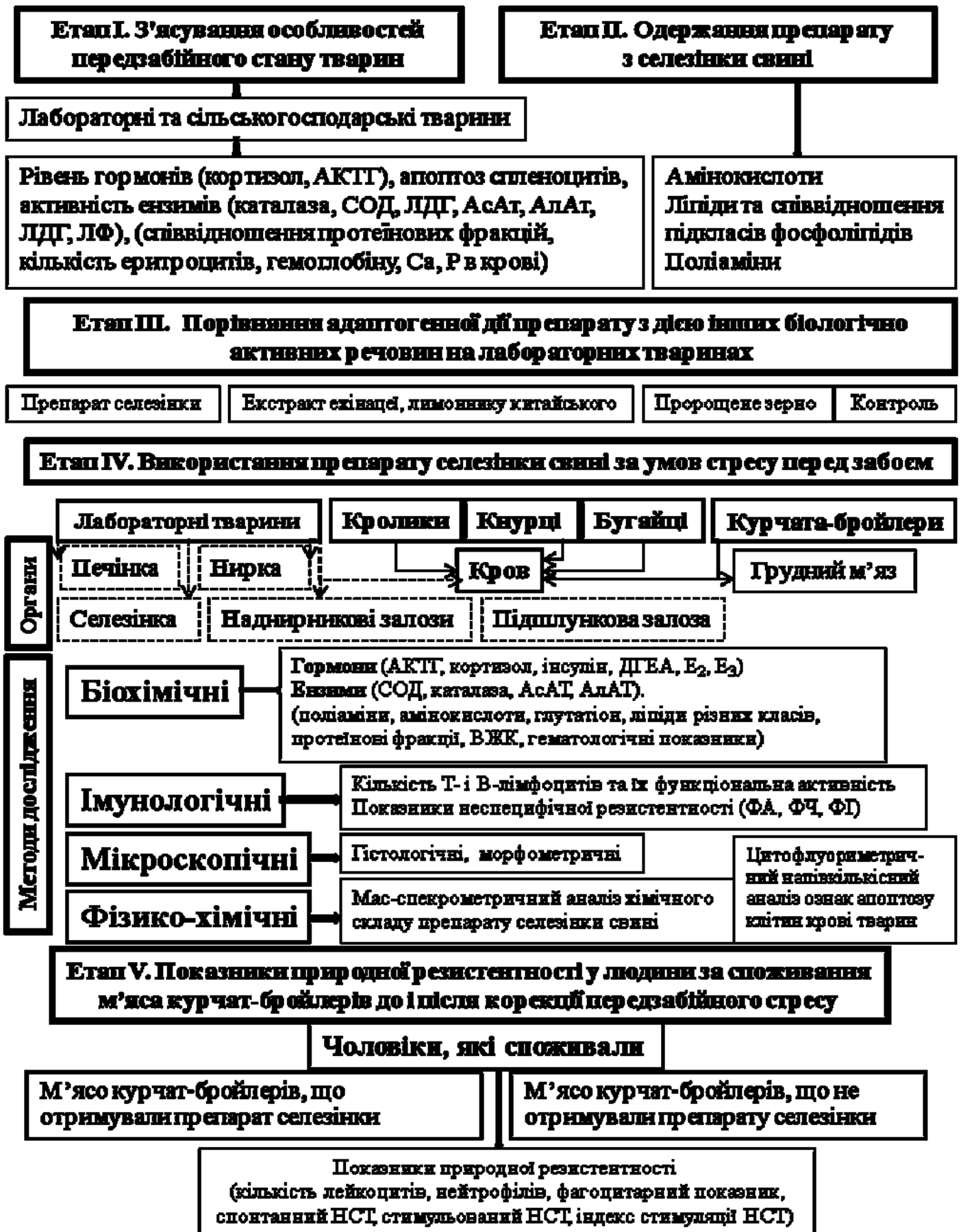


Рис. 1. Схема проведених досліджень

селезінки свині (I), екстракти ехінацеї та лимоннику китайського (II), пророщене зерно (III) — як антистресори та імуностимулятори у передзабійний період. Екстракти на 70% спиртовому розчині наносили на корм аерозольним розпиленням в об'ємі 0,6 мл/тварину. Щурам контрольної групи таким же способом додавали до корму 70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Тваринам усіх груп додатково до стандартного корму давали зерно пшениці (10 г/тварину). У третьому досліді сформовано чотири групи щурів по п'ять тварин у кожній: самиці (I) і самці (II), яким на корм наносили екстракт селезінки; самиці, яким додавали до корму 70% розчин етанолу (III); контрольна (IV). Поїдання корму контролювали щоденно. У кінці досліді всіх тварин декапітували почергово під етерним наркозом, кров брали в ділянці декапітації.

Дослід на кроликах породи *Білий велетень* проводили за утримання їх на стандартному гранульованому комбікормі фермерського господарства Буського району Львівської області. Для дослідження сформовано три групи по 5 тварин 5-місячного віку у кожній. Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п'ять діб до забою) використовували препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (I група). Екстракти наносили на комбікорм аерозольним методом (70% спиртовий розчин препарату селезінки об'ємом 0,3 мл/кг маси тіла). Кроликам II дослідної групи додавали до корму 70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Тварини контрольної групи отримували стандартний комбікорм.

Дослід на *кнурцях породи Петрен* проводили за утримання їх на сухому кормі ТзОВ «Лемберг-Агро» (с. Ліщини Жидачівського району Львівської області). Для дослідження 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) застосовували препарат селезінки, одержаний із використанням ультразвуку (I дослідна група). Екстракти наносили на сухий корм (70% спиртовий розчин препарату селезінки об'ємом 0,3 мл/кг маси тіла). Тваринам II дослідної групи таким же способом додавали до корму 70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Кнурці контрольної групи отримували лише сухий корм.

Дослід на 12-місячних *бугайцях української чорно-рябої молочної породи* проводили за утримання тварин на стандартному раціоні в навчально-науково-виробничому центрі «Комарнівський» Городоцького району Львівської області. У першому досліді підібрано п'ять бугайців, у яких брали кров у підготовчий період перед постановкою на дослід, до та після транспортування на м'ясокомбінат. У другому досліді як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п'ять діб до забою) застосовували препарат селезінки, одержаний за допомогою ультразвуку (дослідна група). Екстракти наносили на комбікорм (70% розчин етанолу об'ємом 0,7 мл/кг маси тіла). Тваринам контрольної групи таким же чином додавали до корму 70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Забій та взяття крові тварин проводили в обідній час.

Дослід на одномісячних *курчатах-бройлерах кросу «Росс-308»* проводили за утримання тварин на стандартному раціоні ТзОВ «Великолюбінське» смт Великий Любінь Городоцького району Львівської області. Як біологічно активні речовини в передзабійний період (за п'ять діб до забою) використовували препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (I дослідна група) та без

ультразвуку (II дослідна група). Екстракти наносили на комбікорм аерозольним методом (70% спиртовий розчин об'ємом 0,7 мл/кг маси тіла на добу). Курчатам-бройлерам контрольної групи (III група) таким же чином додавали до корму 70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Контроль за поїданням комбікорму здійснювали щоденно. Курчата-бройлери з'їдали корм повністю. Забій птиці проводили в ранковий час.

Учасниками дослідження були також *студенти* Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького. Це — практично здорові чоловіки віком 19–20 років із масою тіла 65–75 кг. Вони були ознайомлені з метою, завданнями, методами дослідження та дали добровільну письмову згоду. Учасників дослідження поділили на дві групи по п'ять осіб у кожній. I група споживала м'ясо курчат-бройлерів, яким у передзабійний період упродовж п'яти днів додавали до корму препарат селезінки свині. II група споживала м'ясо курчат-бройлерів, яким у передзабійний період не давали препарату селезінки. Чоловіки споживали м'ясо курчат-бройлерів масою тіла 1,8–2,2 кг 4 рази по чверті тушки на день. М'ясо готували тушкуванням у соняшниковій олії. В обох групах чоловіків забір крові (20 мл) здійснювали з ліктьової вени до споживання м'яса курчат-бройлерів та через чотири дні від початку досліду.

У дослідженні на базі Львівського обласного клінічного діагностичного центру (Регіональний центр клінічної імунології й алергології) аналізували такі показники: лейкоцитарна формула; кількість нейтрофілів; фагоцитарний показник; нітросиній тетразолій (НСТ) спонтанний; НСТ стимульований; індекс стимуляції НСТ.

Під час експериментів дотримувалися всіх біоетичних норм згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти (протоколи засідання комісії з біоетики з указаними їх номерами й датами містяться у додатках до тексту дисертації).

Вміст поліамінів у біологічному матеріалі визначали за допомогою методу рідинної хроматографії високого тиску (РХВТ) на рідинному хроматографі Agilent 1200 (США) (Gerbaut L., 1991).

Вміст кортизолу визначали, використовуючи набори ІФА (EIA-1887, Cortisol ELISA) для прямого кількісного визначення за допомогою методу імуноферментного аналізу в сироватці й плазмі крові та сечі. Вміст АКТГ визначали за допомогою набору DRG Intl АКТГ ELISA — двосайтового ІФА (твердофазний імуноферментний аналіз) для вимірювання біологічно активного АКТГ. Концентрацію альдостерону фіксували за допомогою набору ІФА (EIA-4128, Aldosterone ELISA) для прямого кількісного визначення методом імуноферментного аналізу в сироватці, плазмі та сечі. Вміст естрадіолу визначали за допомогою набору ІФА (DRG Estradiol ELISA). Принцип методу ґрунтується на конкуренції і мікропланшетному розділенні: ендогенний естрадіол конкурує з естрадіолом, кон'югованим з пероксидазою, що конкурують за зв'язування з антитілом, яким

покрито дно лунок мікропланшета. Вміст естріолу визначали за допомогою набору ІФА (DRG EIA-1612, Free Estriol ELISA) — імуноферментним аналізом для кількісного визначення в діагностиці *in vitro* вільного естріолу (некон'югованого естріолу). Імуносорбційний набір створений за принципом конкурентного зв'язування. Дегідроепіандростеронсульфат визначали за допомогою набору реагентів Стероїд ІФА-ДГЕА-сульфат. Інсулін фіксували, використовуючи набір DRG Insulin EIA-2935 для імуноферментного аналізу в сироватці крові, плазмі або сечі людини. Адреналін і норадреналін визначали за хромафінною реакцією за Хіларпом і Хюкфельтом (Кононский А. И., 1976).

Спленоцити виділяли вичавлюванням їх із селезінки щурів у чашку Петрі із забуференим фізіологічним розчином. Апоптоз спленоцитів досліджували методом подвійного фарбування клітин анексином V і пропідію йодидом для проточної цитофлуориметрії. Цим же методом з'ясовували вплив досліджуваних речовин на розподіл фаз клітинного циклу на цитометрі FACScan (Becton Dickinson, США).

Дослідження імунологічних показників: у цільній крові щурів визначали відносну кількість Т- і В-лімфоцитів та їх окремих популяцій у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. Принцип методу полягає у здатності лімфоцитів абсорбувати еритроцити з утворенням «розеток» (метод описаний В. В. Влізлом зі співавторами, 2012).

Фагоцитарну активність нейтрофілів крові оцінювали за допомогою методу завершеного фагоцитозу. Стимульований НСТ-тест описаний Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик (2000), а визначення фагоцитарної активності нейтрофілів крові — Г. Фримель (2002).

Вміст глутатіону в крові визначали після відновлення глутатіону за зміною оптичної активності, викликану утворенням аніона тіонітробензоатдіаніона в реакції DTNB (5,5'-дитіобіс(2-нітробензойної кислоти) з відновленим глутатіоном (Влізлом В. В. зі співавторами, 2012).

Для визначення вмісту фракцій ліпідів брали 1 мл плазми крові й екстрагували сумішню хлороформ–метанол (2 : 1) за методом Фолча (Folch J., 1957). Для розділення ліпідів, у т. ч. фосфоліпідів, на фракції використовували метод тонкошарової хроматографії (Влізлом В. В. зі співавторами, 2012). Ідентифікацію фосфоліпідів здійснювали за рухливістю Rf і кольоровими реакціями. Концентрацію ВЖК загальних ліпідів визначали за описаними методиками (Рівіс Й. Ф., 1995).

Активність супероксиддисмутази (К.Ф. 1.15.1.1.) визначали за Є. Є. Дубініною (1983), каталази (К.Ф. 1.11.1.6) — за М. А. Королюк (1988), аланінамінотрансферази (АлАТ, К.Ф. 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ, К.Ф. 2.6.1.1) — за методом Райтмана–Френкеля, описаним В. В. Влізлом зі співавторами (2012).

Хромато-мас-спектрометричний аналіз препарату селезінки свині. Загальне ліпідне екстрагування із матеріалу здійснювали за модифікованою методикою Е. С. Bligh, W. J. Dyer (1959).

Гістологічні та морфометричні дослідження. Для виконання морфологічних досліджень (Меркулов Г. А., 1956, 1969) виділяли фрагменти підшлункової залози, печінки, селезінки, нирки і наднирникові залози та фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у розчинах етанолу з висхідними концентраціями (70, 80, 90, 96%) і заливали парафіном. На санному мікроскопі

виготовляли зрізи завтовшки від 5 до 15 мкм, які зафарбовували гематоксиліном і еозином, використовуючи стандартний метод. Світлову мікроскопію та мікрофотографування гістопрепаратів проводили за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX 41 і фотокамери OLYMPUS C-5050, морфометрію на тканинному рівні — з використанням програми DP-SOFT для мікроскопа OLYMPUS CX 41.

Статистичний аналіз. Математичну обробку результатів здійснювали за допомогою пакета програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Результати вважали вірогідними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Експериментальне обґрунтування необхідності використання біологічно активних речовин у передзабійний період. Дослідження стресу на лабораторних тваринах переважно проводять у серіях експериментальних моделей: «відкрите поле», «чорно-біла камера», тест «вимушеного плавання» Порсолта, колесо за Номурою, тест «підвішування за хвіст» тощо. Ми враховували передзабійний стрес, у якому визначали вміст кортизолу в плазмі крові щурів, залежно від порядку взяття їх з клітки і тримання: рівень гормону зростав у п'ять разів у тварин, яких брали з кліток п'ятими порівняно з тваринами, яких брали з кліток першими (рис. 2).

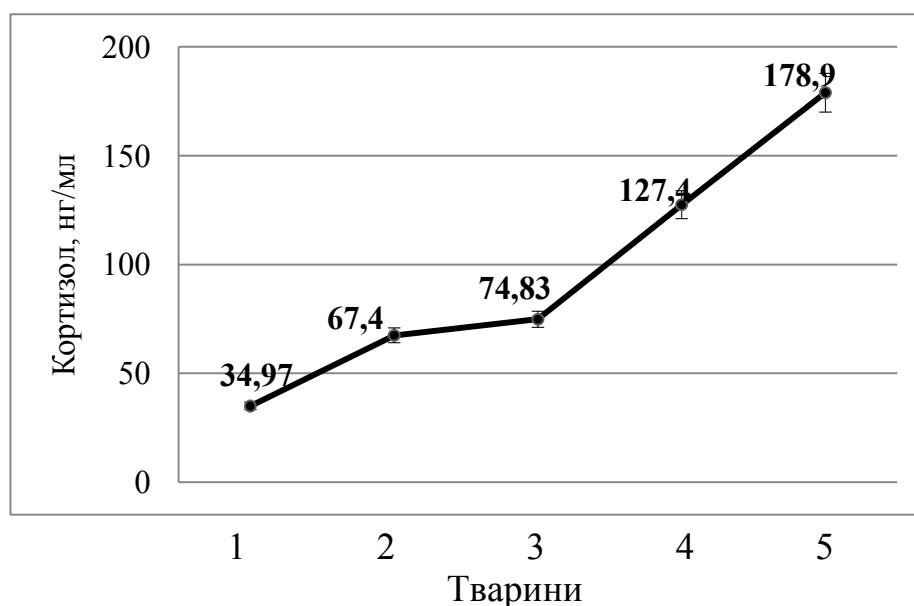


Рис. 2. Рівень кортизолу ($n = 5$) у плазмі крові щурів залежно від порядку їх взяття з клітки перед забоєм

Також порівнювали рівні АКТГ у плазмі крові бугайців перед постановкою досліду (рис. 3), тобто у підготовчий період, який тривав п'ять діб, та до і після транспортування тварин на м'ясокомбінат. З'ясували, що рівень цього гормону в плазмі крові бугайців до транспортування на 26 % ($P < 0,01$) вищий, ніж у тварин перед постановкою на дослід. Оскільки кров для дослідження брали у тварин у той самий час, то можна зробити висновок, що стрес у бугайців перед транспортуванням більший, ніж під час взяття крові у підготовчий період.

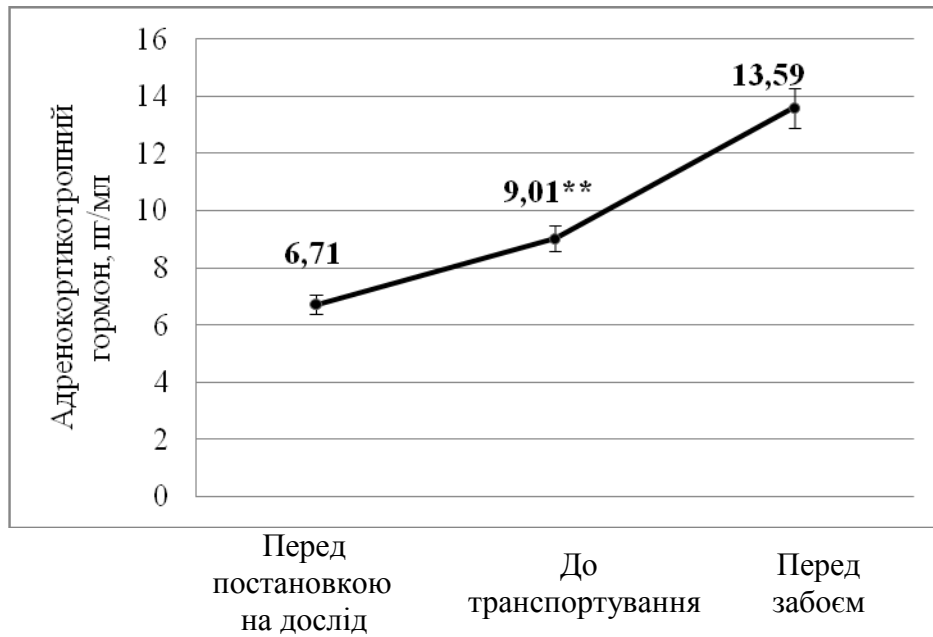


Рис. 3. Динаміка адренкортикотропного гормону ($M \pm m$, $n = 5$) у плазмі крові бугайців у підготовчий та передзабійний періоди

Одержання біологічно активних речовин із селезінки. Серед досліджуваних біологічно активних речовин препарату селезінки свині виявлено фосфоліпіди (фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, фосфатидилінозитол) і поліаміни (путресцин, спермін, спермідин), амінокислоту аргінін. Правдоподібно, їх можна вважати основними діючими речовинами цього препарату.

Результати досліджень підтвержені мас-спектрометричним аналізом препарату селезінки (табл. 1), за допомогою якого зафіксовано вищу концентрацію фосфатидилхоліну в екстракті, який піддавали обробці ультразвуком.

Таблиця 1

Вміст біологічно активних речовин у препараті селезінки свині, %

Показники	Препарат отриманий	
	із використанням ультразвуку	без використання ультразвуку
n-Hexadecanoic acid	7,75	9,00
Octadec-9-enoic acid	9,30	13,02
Octadecanoic acid	10,19	9,28
Methyl eicosa acid	0,37	0,37
Arachidonic acid	12,71	5,30
8,11,14-Eicosatrienoic acid	1,03	—
—	0,37	0,37
Фосфатидилхолін	12,09	10,50
—	0,25	0,25
Cholest-5-en-3-ol	42,19	42,50

Порівняння дії отриманого препарату з дією інших імуностимуляторів і антистресорів. Проведено модельний експеримент на щурах лінії Вістар для дослідження клітинного метаболізму, імунної системи та морфометричних характеристик підшлункової залози, наднирникових залоз і нирки, печінки та

селезінки за умов передзабійного стресу і використання біологічно активних речовин різного походження (пророщене зерно та екстракти: селезінки, ехінацеї, лимоннику китайського) для нейтралізації дії стресу.

Ці результати краще ілюструють зміни, якщо розглядати рівень кортизолу кожної тварини окремо. Вміст кортизолу у тварин I дослідної групи становив 15,8 нг/мл (тварину брали з клітки першою), тоді як у тварин, яких з клітки брали п'ятими, тобто останніми, він зростав у 10 разів. У щурів контрольної групи вміст кортизолу збільшувався майже вдвічі ($P < 0,01$). Динаміку, подібну як у тварин I дослідної групи, спостерігали у щурів II і III дослідних груп, і вона залежала від порядку взяття тварини з клітки (рис. 4).

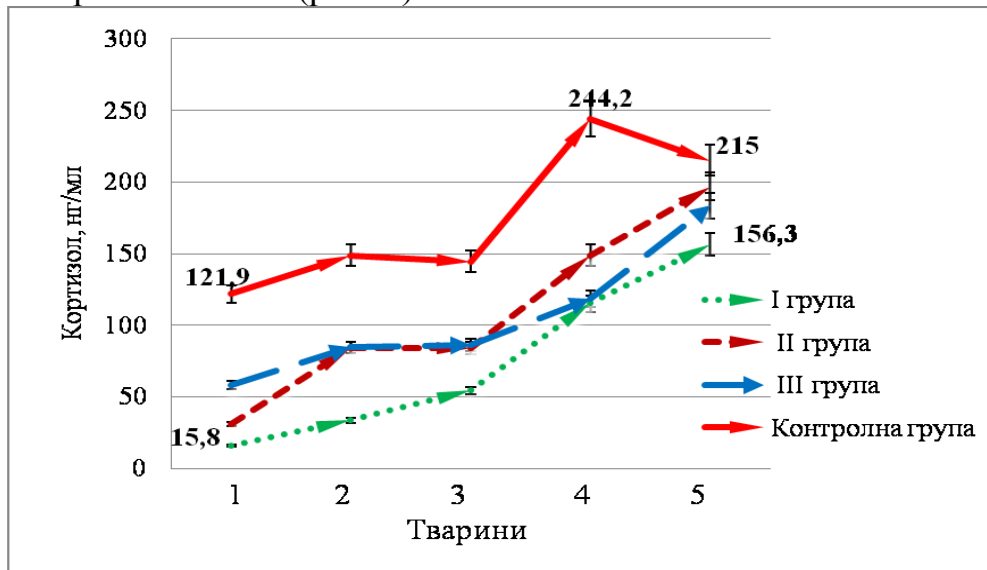


Рис. 4. Рівень кортизолу ($M \pm m$, $n = 5$) у плазмі крові щурів залежно від порядку взяття їх з клітки перед забоєм

За зростання інтенсивності стресу у самиць щурів (тварини, яких брали з кліток п'ятими), що додатково отримували з кормом препарат (тварини I дослідної групи), рівень апоптичних клітин селезінки знижувався ($P < 0,05$) з 45,84 до 31,65 %, порівняно з тваринами контрольної групи, де зі зростанням стресу виявлено ознаки зростання анексин-V-позитивних (апоптичних) клітин (рис. 5).

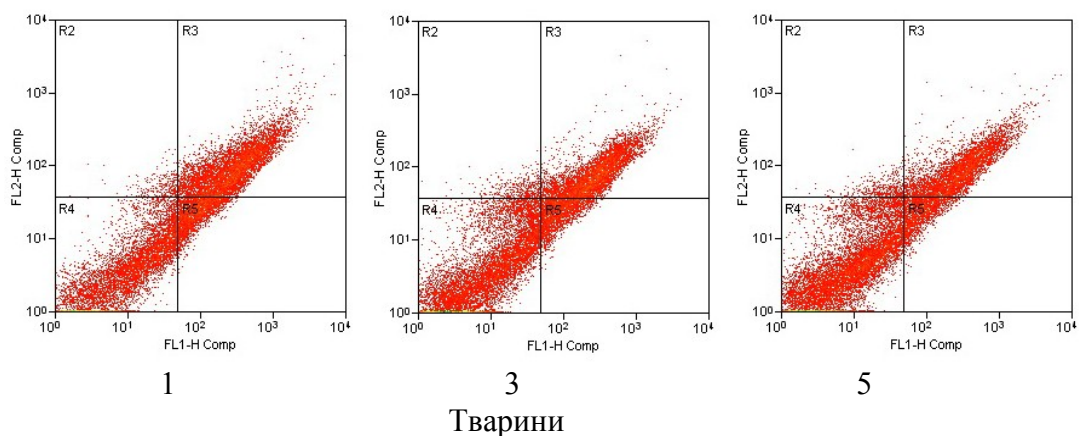


Рис. 5. Вплив екстракту селезінки на індукцію апоптозу в спленоцитах самиць щурів за дії передзабійного стресу

Примітка. Умовні позначення квадрантів: R2 — некротичні клітини; R3 — пізній апоптоз; R4 — інтактні (живі) клітини; R5 — ранній апоптоз.

У крові щурів, які додатково отримували з кормом препарат селезінки (I дослідна група), майже вдвічі зростав фагоцитарний індекс, порівняно з тваринами контрольної групи. Подібну тенденцію зафіксовано в крові щурів, яким до корму додавали екстракти ехінацеї і лимоннику китайського (II дослідна група) (рис. 6).

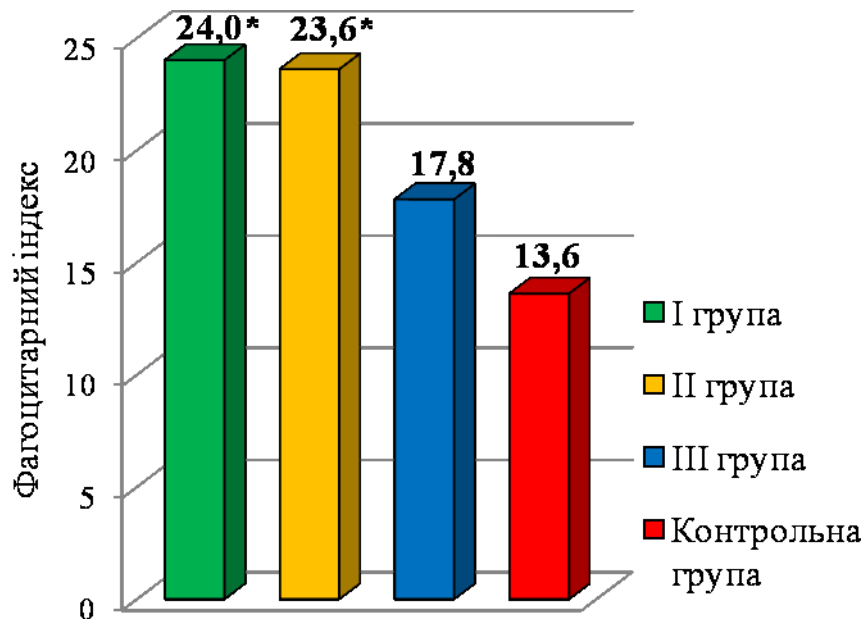


Рис. 6. Результати впливу біологічно активних речовин, доданих до корму щурів, на фагоцитарний індекс крові (n = 5)

Результати морфологічних характеристик органів досліджуваних тварин полегшує комплексне вивчення та інтерпретацію окремих біохімічних показників і дає змогу розкрити механізми регуляції метаболічних процесів організму. Ми дослідили органи щурів (підшлункову залозу, нирку і наднирникові залози, печінку і селезінку) за умов передзабійного стану і дії біологічно активних речовин різного походження. Адаптаційні реакції виявляються на різних рівнях організму, включаючи системи та органи, але чільне місце в розвитку відповіді на стрес належить симпато-адреналовій і гіпоталамо-адренкортикальній системам, основним структурним компонентом яких є надниркові залози. Водночас не існує однозначної думки про морфологічні та ультраструктурні зміни в надниркових залозах, а також їхню функціональну активність, що, насамперед, може бути пов'язане з різними моделями і різною тривалістю індукування стресу.

У тварин контрольної групи, яким до корму не додавали імуностимулятори і антистресори, виявлено ознаки гістологічних ушкоджень надниркової залози, що характерні для гострого виснаження її функції. Про це можна стверджувати на основі значного потовщення капсули органа й зменшення ширини клубочкової зони і дисконкомплексції клітинних структур, гіперхромії, дистрофії та пікнозу ядер, що спостерігалися за умов передзабійного стресу (рис. 7).

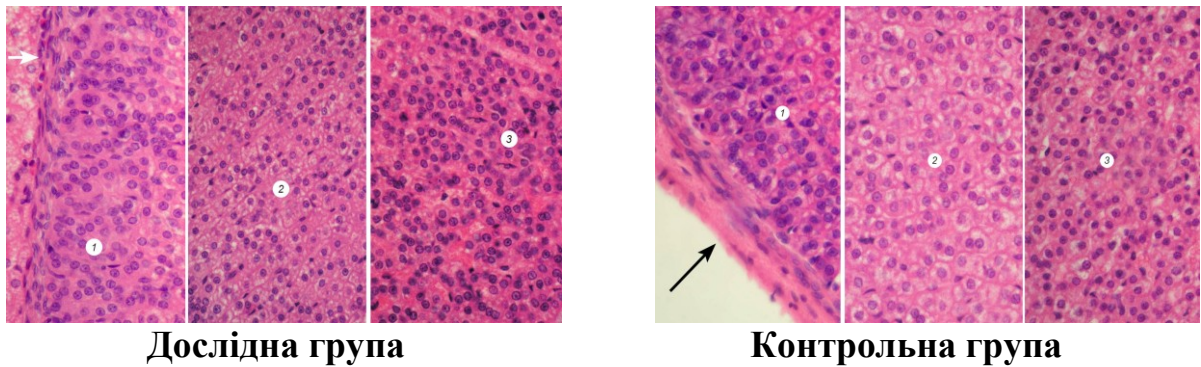


Рис. 7. Речовина кори наднирникової залози щура

Примітки. Клубочкова зона (I), пучкова зона (II), сітчаста зона (III). Потовщення капсули органа показано стрілкою. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення 10×40

Морфологічні зміни у надниркових залозах внаслідок дії стресу характерні для «фази тривоги» стрес-реакції, що розвивається у перші години дії стресового чинника (Бузуева И. И., 2010; Zikic D., 2011; Rubio M., 2012).

Відомо, що кора надниркових залоз виділяє різноманітні стероїдні гормони, які синтезуються в окремих її частинах. Наприклад, у клубочковій ділянці синтезується альдостерон, у пучковій і сітчастій ділянках — кортизол, меншою мірою — решта гормонів надниркових залоз, таких як глюкокортикоїди, мінералокортикоїди, андрогени й естрогени.

Під час морфометричного дослідження надниркових залоз щурів I групи, які отримували препарат селезінки, виявлено, що ширина кіркової речовини на 20 % ($P < 0,01$) більша, ніж у тварин контрольної групи, і становить 461,6 мкм, із них клубочкова ділянка займала 32,5 мкм, пучкова — 288,6, сітчаста — 140,5 мкм (табл. 2).

За морфометричними показниками селезінка щурів контрольної групи виглядала інтактною, а площа білої пульпи була меншою, ніж у тварин I дослідної групи. Лімфоїдні вузлики втрачали чітко виражену структуру, а пульпарні артеріоли були потовщені.

Таблица 2

Діаметр кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів ($M \pm m$; $n = 5$)

Група тварин	Мозкова речовина, мкм	Кіркова речовина, мкм
Контроль	180,8±1,4	371,2±1,9
I група	260,7±3,1*	461,6±3,5*
II група	250,7±1,3*	431,6±3,2
III група	200,8±2,7	401,9±4,2

Примітка. У цій та наступних таблицях і рисунках: *, ** — вірогідність відмінностей між показниками контрольних і дослідних груп тварин (* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$)

У селезінці тварин I дослідної групи виявлено найбільшу кількість лімфатичних вузлів із реактивними центрами. Так, співвідношення загальної

кількості лімфатичних вузлів селезінки і кількості лімфатичних вузлів із реактивними центрами становило у тварин I групи 1 : 0,8; II групи — 1 : 0,4; III групи — 1 : 0,36 і контрольної — 1 : 0,32 (рис. 8).

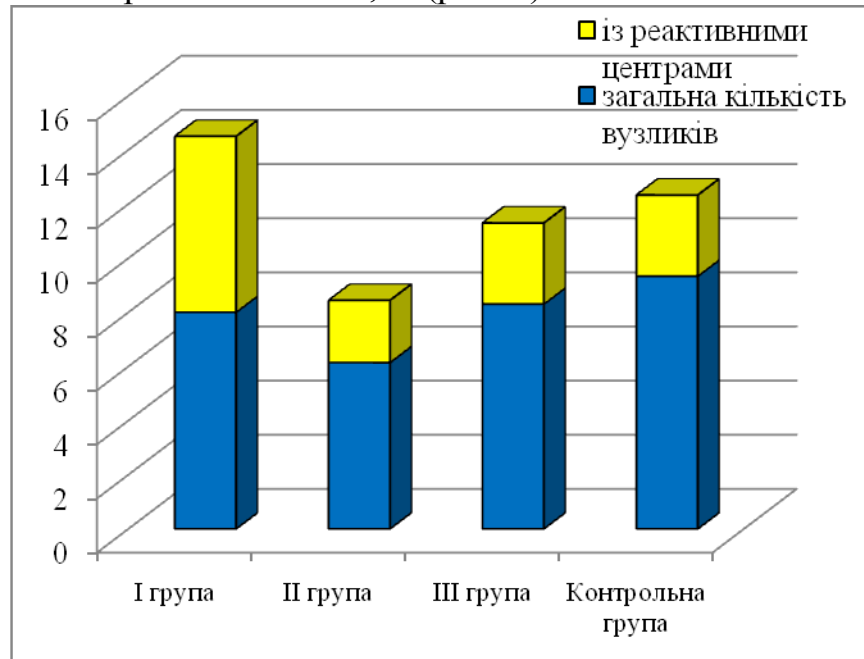


Рис. 8. Співвідношення кількості лімфатичних вузлів селезінки щурів із реактивними центрами і загальної кількості лімфатичних вузлів

Морфометричне дослідження діаметра острівців Лангерганса підшлункової залози у щурів різних груп виявило значні відмінності. Так, у щурів I дослідної групи, яким до корму давали препарат селезінки, площа, яку займали острівці Лангерганса, була найбільшою і становила $278,3 \text{ мкм}^2$, що на $93,6 \text{ мкм}^2$ більше, ніж у щурів контрольної групи.

Характеристика співвідношення протеїнових фракцій крові щурів у передзабійний період показала, що у тварин I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки, концентрація преальбумінів знижувалась удвічі ($P < 0,01$), тоді як рівень β - і γ -глобулінів підвищувався відповідно на 41 ($P < 0,01$) і 46 % ($P < 0,05$). Збільшення концентрації глобулінової фракції можна пояснити впливом поліамінів, наявних у препараті селезінки — Put, Spd і Spm, які стимулюють продукування глобулінів (Matti V., 1980; Chowhan R. K., 2013). Глобуліни можуть зв'язувати кортизол, і тому зменшення концентрації вільного кортизолу в плазмі крові тварин I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки, можна пов'язати з підвищенням вмісту глобулінової фракції. Ці результати узгоджуються з даними інших авторів, отриманих під час дослідження за умов стресу, викликаного вимушеним плаванням щурів (Minni A. M., 2012).

Дослідження впливу препарату з селезінки на деякі показники клітинного метаболізму та імунної системи сільськогосподарських тварин у передзабійний період.

Дослідження на кроликах. Аналіз результатів дослідження гормонального профілю крові кроликів показав негативний вплив стресу перед забоєм на адаптивні

механізми організму. У тварин дослідної групи вміст кортизолу був нижчий на 40 % ($P < 0,05$) ніж у контрольній групі (рис. 9).

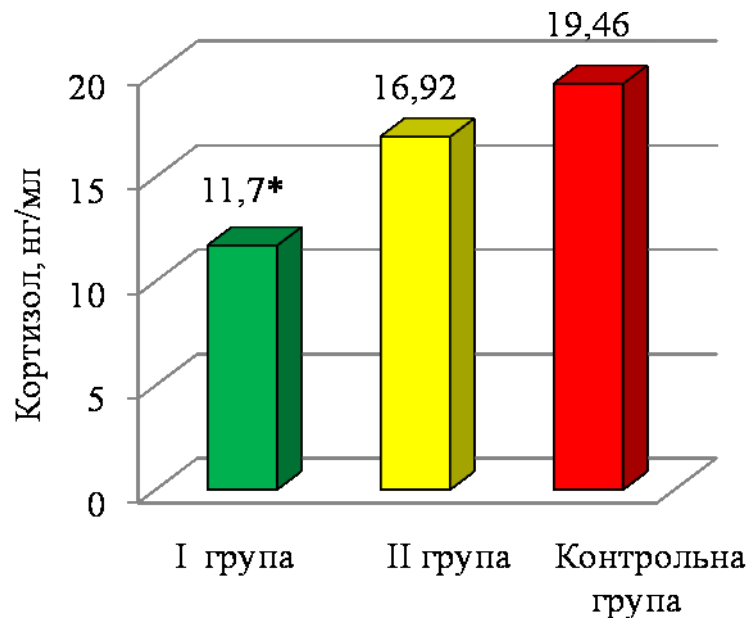


Рис. 9. Рівень кортизолу в плазмі крові кроликів перед забоєм

Як бачимо з табл. 3, у крові кроликів I дослідної групи, яким до корму додатково додавали препарат селезінки, фагоцитарна активність нейтрофілів зростала на 6,3 % ($P < 0,01$), а фагоцитарне число — на 27 % ($P < 0,01$) порівняно з тваринами контрольної групи.

Таблиця 3

Показники фагоцитозу нейтрофілів крові кроликів перед забоєм ($M \pm m$, $n = 5$)

Група тварин	Фагоцитарна активність нейтрофілів, %	Фагоцитарний індекс, од.	Фагоцитарне число, од.
Контрольна	$39,7 \pm 2,52$	$8,4 \pm 0,57$	$3,3 \pm 0,32$
I дослідна	$46,0 \pm 1,0^{**}$	$9,1 \pm 0,46$	$4,2 \pm 0,29^{**}$
II дослідна	$44,3 \pm 2,08$	$9,7 \pm 0,59$	$4,3 \pm 0,46^{**}$

Дослідження на кнурцях. Аналіз рівня гормонів таких, як кортизол, інсулін і АКТГ у плазмі крові кнурців до транспортування на м'ясокомбінат і перед забоєм, вірогідної різниці між тваринами двох дослідних і контрольної груп не показав. Ці результати узгоджуються з даними іншого дослідження (Gibson M., 1993), де вказано, що на чутливість до стресу впливають генетичні чинники, а також індивідуальні типи нервової системи тварин.

У кнурців, які до корму додатково отримували препарат селезінки (I дослідна група), вірогідно збільшилися показники фагоцитозу нейтрофілів крові порівняно з тваринами контрольної групи: фагоцитарна активність у кнурців обох дослідних груп збільшувалася на 5,2 % ($P < 0,05$), фагоцитарний індекс — на 13 % ($P < 0,01$), фагоцитарне число — на 14 % ($P < 0,05$), причому лише у кнурців I дослідної групи. Після транспортування, тварини, які замість препарату селезінки отримували

70% розчин етанолу в аналогічному об'ємі, мали більшу фагоцитарну активність нейтрофілів порівняно з кнурами контрольної групи (табл. 4).

Таблиця 4

**Показники фагоцитозу нейтрофілів крові кнурців
до і після транспортування перед забоєм (M±m, n = 5)**

Група тварин	Фагоцитарна активність нейтрофілів, %	Фагоцитарний індекс, од.	Фагоцитарне число, од.
До транспортування			
Контрольна	38,4±2,70	9,9±1,00	3,8±0,22
I дослідна	31,2±1,92*	9,8±1,21	3,1±0,24*
II дослідна	34,4±1,52**	10,6±0,87	3,6±0,31
Після транспортування			
Контроль	36,6±1,14	8,3±0,68	3,0±0,22
I дослідна	41,8±2,28*	9,6±0,64**	4,0±0,16*
II дослідна	41,8±2,95*	7,9±0,83	3,3±0,42

Дослідження на бугайцях. Із даних, наведених у табл. 5, бачимо, що після транспортування, перед забоєм, концентрація АКТГ у бугайців дослідної групи порівняно з контрольною була нижчою майже вдвічі ($P < 0,05$). Незважаючи на те що рівень альдостерону під час добових коливань мав би знизитися, він був значно вищим — на 34 % ($P < 0,05$) перед забоєм у плазмі крові тварин контрольної групи порівняно з дослідною. Це може вказувати на стан стресу у тварин, який вдається зменшити, застосовуючи препарат селезінки бугайцям дослідної групи. У плазмі крові бугайців, які з кормом отримували препарат селезінки (дослідна група), рівень кортизолу після транспортування був вірогідно нижчим (на 31 %, $P < 0,05$), ніж у тварин контрольної групи, що може свідчити про зменшення стресу перед забоєм (табл. 5).

Таблиця 5

**Динаміка вмісту гормонів у плазмі крові бугайців
у передзабійний період (M±m, n = 5)**

Група тварин	Гормон		
	адренокортикотропний гормон, пг/мл	кортизол, нмоль/л	альдостерон, пг/мл
Перед постановкою на дослід			
Контрольна	6,7±1,22	28,7±1,10	546,3±78,53
Дослідна	6,3±1,42	23,3±3,67	525,7±76,83
До транспортування			
Контрольна	9,0±1,84	29,9±2,14	1321,9±137,60
Дослідна	7,1±1,45	28,8±2,27	1136,84±85,10
Після транспортування — перед забоєм			
Контрольна	13,6±1,77	80,3±3,93	1733,7±179,60
Дослідна	7,4±1,00*	55,6±7,14*	1149,1±103,20*

Аналізуючи визначені нами показники клітинної ланки неспецифічної резистентності організму бугайців, звертає на себе увагу зростання фагоцитарної активності нейтрофілів у тварин дослідної групи порівняно з контрольною як до, так і після транспортування — на 3,2 ($P < 0,01$) і 5 % ($P < 0,05$) відповідно (табл.6).

Таблиця 6

Показники фагоцитозу нейтрофілів крові бугайців ($M \pm m$, $n = 5$)

Група тварин	Фагоцитарна активність крові, %	Фагоцитарний індекс, од.	Фагоцитарне число, од.
До транспортування			
Контрольна	44,6±2,19	7,4±0,65	3,3±0,45
Дослідна	47,8±2,17**	8,2±0,82	3,9±0,55
Після транспортування — перед забоєм			
Контрольна	48,8±0,83	7,8±0,13	3,9±0,06
Дослідна	53,8±1,64*	8,4±0,44**	4,3±0,24*

Дослідження на курчатах-бройлерах. Аналіз біохімічних показників крові курчат-бройлерів за умов стресу перед забоєм виявив негативну дію стресу на адаптивні механізми організму. У крові курчат-бройлерів, яким до корму додавали препарат селезінки з використанням ультразвуку, концентрація АКТГ зменшилась майже вдвічі порівняно з курчатами контрольної групи. Відомо, що нейрони приشلункового ядра гіпоталамуса виробляють кортикотропін-релізінг-гормон, що стимулює секрецію АКТГ у гіпофізі. Таким чином, активізується гіпоталамо-гіпофізарно-адреналова система, кінцевим продуктом якої є утворення глюкокортикоїдів, що виділяються залозами кіркового шару наднирникових залоз під впливом АКТГ (De Bellis M. D., 1994).

Результати проведених досліджень продемонстрували певні зміни у значенні вмісту інсуліну, який у крові курчат-бройлерів I дослідної групи був удвічі вищий ($P < 0,05$), II дослідної групи — у 1,5 разу вищий ($P < 0,05$), ніж у курчат контрольної групи (табл. 7).

Таблиця 7

Вміст гормонів у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм, ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи курчат-бройлерів		
	I дослідна	II дослідна	контрольна
АКТГ, пг/мл	3,33±0,51*	4,30±1,25*	7,89±2,95
Інсулін, нмоль/л	20,00±3,85*	15,84±2,06*	10,43±1,88
Естріол, пг/мл	30,53 ±7,98*	27,53±7,72*	50,77±10,56
Естрадіолу, нг/мл	0,32±0,07*	0,26±0,09*	0,48±0,05

За умов стресу перед забоєм спонтанна гіперглікемія ініціюється секрецією катаболічних гормонів і є наслідком дисбалансу між секрецією інсуліну та резистентністю до нього. Це зумовлено пригніченням секреції інсуліну на тлі адренергічної стимуляції. У цей період важливим джерелом глюкози є глюконеогенез, у якому для утворення глюкози використовуються амінокислоти, що

підтверджується результатами наших досліджень. За використання препарату селезінки у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм вірогідно знижується вміст естрогенів (естрадіолу і естріолу). Слід зазначити значне зниження вмісту естрогенів у курчат I дослідної групи, яким до корму додавали препарат селезінки.

Нами зафіксовано підвищення фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу клітин крові курчат-бройлерів I дослідної групи на 7 % ($P < 0,05$) і на 19 % ($P < 0,05$) відповідно (табл. 8).

Таблиця 8

**Показники фагоцитозу нейтрофілів крові
курчат-бройлерів перед забоєм ($M \pm m$, $n = 5$)**

Група курчат-бройлерів	Фагоцитарна активність крові, %	Фагоцитарний індекс, од.	Фагоцитарне число, од.
Контрольна	30,6±2,43	9,4±1,21	3,0±0,26
I дослідна	37,8±1,91*	11,7±0,76*	4,0±0,22*
II дослідна	32,2±2,64	10,5±0,85	3,6±0,38**

Фагоцитарне число зросло у крові курчат-бройлерів обох дослідних груп порівняно з курчатами контрольної групи: на 26 % ($P < 0,05$) — I і 15 % ($P < 0,01$) — II дослідної групи.

Аналізуючи дані щодо характерних змін ліпідного обміну в лабораторних і сільськогосподарських тварин за умов стресу перед забоєм, можна стверджувати, що система розподілу високомолекулярних жирних кислот (ВЖК) в організмі дуже складна і відсутній однозначний механізм підтримки їх стабільного рівня у крові. Стрес має незначний вплив на досліджувані нами показники. Зважаючи на це, ми дійшли висновку, що рівень ВЖК не може бути характеристикою стійкості тварин до стресу, що узгоджується з результатами дослідження М. М. Федорова (2012).

Аналіз отриманих нами даних щодо вмісту поліамінів (табл. 9) у **крові** курчат-бройлерів I дослідної групи, яким перед забоєм до корму додавали препарат селезінки, оброблений ультразвуком, показав, що загальна кількість поліамінів порівняно з контролем збільшилася на 39 % ($P < 0,01$), зокрема, вміст спермідину (Spd) зріс на 34 % ($P < 0,05$), сперміну (Spm) — на 40 % ($P < 0,01$). У **селезінці** зростала загальна кількість поліамінів у обох дослідних групах: у курчат I дослідної групи на 20 % ($P < 0,05$), а II — на 14 % ($P < 0,01$) і збільшилася концентрація Spd лише у курчат I дослідної групи — на 33 % ($P < 0,01$). Констатовано вірогідно більший вміст Spm, Spd і загальний вміст поліамінів у **печінці** курчат-бройлерів усіх дослідних груп порівняно з контролем. Рівень путресцину (Put) у печінці курчат-бройлерів I дослідної групи був вірогідно вищим, ніж у контрольній групі. Вірогідне збільшення загального вмісту поліамінів у **нирці** курчат I дослідної групи до 188,40±23,30 і його зменшення до 82,62±14,70 нмоль/г тканини у курчат II дослідної групи порівняно з контролем може свідчити про ефективність застосування препарату селезінки, отриманого під впливом ультразвуку.

Виявлено вірогідно більший вміст Spm (на 45 %) і Spd (на 47 %) лише у нирці курчат-бройлерів I дослідної групи. У **грудному** м'язі курчат цієї групи загальний вміст поліамінів, Put і Spm був більший порівняно з контролем.

**Концентрація поліамінів у тканинах курчат-бройлерів
перед забоєм (M±m, n = 5)**

Показники	I дослідна група	II дослідна група	Контрольна група
Кров, нмоль/мл крові			
Путресцин	0,267±0,14	0,143±0,17	0,082±0,13
Спермідин	6,96±1,28*	4,98±0,50	4,56±0,38
Спермін	63,36±15,55**	47,83±4,28**	38,35±6,96
Спермідин/Спермін	0,112±0,01	0,104±0,01	0,118±0,02
Загальна кількість	70,58±16,86**	52,96±4,71**	42,99±7,19
Селезінка, нмоль/г тканини			
Путресцин	3,92±1,88	4,03±1,62	3,73±2,37
Спермідин	122,59±5,21*	101,54±18,97	82,52±22,89
Спермін	126,69±6,20	129,94±15,33	113,291±17,13
Спермідин/Спермін	0,98±0,05	0,80±0,24	0,73±0,26
Загальна кількість	253,19±9,59*	235,51±10,02**	201,79±28,62
Грудний м'яз, нмоль/г тканини			
Путресцин	1,21±0,42**	0,34±0,35	0,39±0,45
Спермідин	13,48±6,71	5,45±1,16	7,95±4,07
Спермін	40,83±8,96**	38,97±5,52*	22,30±7,40
Спермідин/Спермін	0,38±0,29	0,15±0,05	0,44±0,38
Загальна кількість	55,54±6,38*	44,76±4,61*	30,64±4,88
Нирка, нмоль/г тканини			
Путресцин	4,94±2,76	1,69±0,99	2,69±0,20
Спермідин	67,48±15,60*	19,84±7,33	35,77±6,59**
Спермін	115,77±21,44*	60,91±1,15	64,29±7,48
Спермідин/Спермін	0,62±0,22	0,36±0,15	0,575±0,17
Загальна кількість	188,39±23,33*	82,62±14,71**	102,76±4,65
Печінка, нмоль/г тканини			
Путресцин	4,76±0,85*	4,88±2,42	2,47±0,87
Спермідин	143,06±13,39*	85,34±23,17*	36,86±5,72
Спермін	147,93±8,65*	103,12±31,04**	57,87±2,65
Спермідин/Спермін	0,96±0,09	0,84±0,15	0,65±0,10
Загальна кількість	295,76±18,26*	193,34±53,73*	97,19±5,13

Значення біогенних амінокислот визначається їх унікальними функціями не лише на проміжних етапах синтезу основних структурних компонентів клітини: протеїни, нуклеїнові кислоти, але й у синтезі ендогенних біологічно активних речовин: гормони, нейромедіатори, аміни (Rezaei R., 2013, Wu G., 2013, Miska K. B.,

2014). Самі амінокислоти або разом із гормонами відіграють важливу роль у контролі експресії генів тварин і людини (Fafournoux P., 2000). Деякі автори виокремлюють серед них такі функціональні амінокислоти, як аргінін, цистеїн, глутамін, лейцин, пролін і триптофан (Wu G., 2009).

Із даних, наведених у табл. 10, бачимо, що у грудному м'язі курчат-бройлерів обох дослідних груп концентрація майже всіх визначених амінокислот була більшою, ніж у курчат контрольної групи.

Вміст більшості амінокислот у грудному м'язі курчат-бройлерів як I, так і II груп був більшим порівняно з контрольною групою, зокрема, аргініну — на 25 і 18 %, лізину — на 19 і 16 % ($P < 0,05$), тирозину — на 20 ($P < 0,05$) і 12 % ($P < 0,01$), фенілаланіну — на 17 і 14 %, валіну — на 17 і 19 %, проліну — на 17 і 14 %, треоніну — на 21 і 16 %, аланіну — на 20 і 16 %, гліцину — на 18 і 19 % ($P < 0,05$) відповідно. Вміст гістидину був удвічі більшим ($P < 0,01$) у грудному м'язі курчат-бройлерів тільки II дослідної групи порівняно з контролем. Вміст лейцину, ізолейцину був вірогідно більшим на 18 % ($P < 0,05$) і метіоніну — на 22 % ($P < 0,05$) у грудному м'язі курчат-бройлерів тільки I дослідної групи. Лізин відіграє важливу роль у синтезі антитіл. Як і триптофан, він підвищує стійкість організму до стресів (Платонова В. Н., 2003). Метіонін сприяє підтримці гомеостазу азоту в організмі, а також синтезу стероїдних гормонів і захищає адреналін від окиснення (Олейник С. А., 2005).

Таблиця 10

Вміст амінокислот у грудному м'язі курчат-бройлерів перед забоем, % ($M \pm m$, $n = 5$)

Амінокислота	I дослідна група	II дослідна група	Контрольна група
<i>Аргінін</i>	1,90±0,13*	1,75±0,15*	1,44±0,10
<i>Лізін</i>	2,59 ±0,05*	2,48±0,09*	2,09±0,13
<i>Тирозин</i>	0,83±0,07*	0,75±0,06**	0,67±0,03
<i>Фенілаланін</i>	0,97±0,02*	0,94±0,02*	0,80±0,06
<i>Гістидин</i>	0,73±0,32	0,87±0,11**	0,46±0,27
<i>Лейцин, Ізолейцин</i>	3,22±0,07*	3,10±0,11	2,65±0,16
<i>Метіонін</i>	0,70±0,02*	0,63±0,08	0,54±0,05
<i>Валін</i>	1,20±0,03*	1,22±0,60*	0,99±0,06
<i>Пролін</i>	0,78±0,02*	0,75±0,05*	0,65±0,05
<i>Треонін</i>	1,49±0,05*	1,39±0,10*	1,17±0,08
<i>Серин</i>	1,34±0,19	1,35±0,11	1,20±0,13
<i>Аланін</i>	2,50±0,057*	2,39±0,085*	2,00±0,13
<i>Гліцин</i>	1,09±0,032*	1,10±0,11*	0,90±0,05

Завдяки фізико-хімічним властивостям поліаміни можуть виконувати функції адаптогенів, зокрема, підвищувати резистентність організму до дії екстремальних чинників середовища. Захисний ефект поліамінів виявляється у регуляції інтенсивності вільнорадикальних реакцій, перекисного окиснення, активності низки ензимів, стабілізації біомембран (Гусейнов Г. О., 2004). Аналіз показників крові

курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу довів його негативний вплив на адаптивні механізми організму. Тому зменшення вмісту певних амінокислот у грудному м'язі курчат-бройлерів може бути спричинене стресом перед забоем і необхідністю додаткового синтезу поліамінів. Поліаміни, які поглинаються Т- та В-лімфоцитами, регулюють апоптоз В-клітин. У разі зменшення внутрішньоклітинної концентрації Spm і Spd, уповільнюється ріст і апоптоз клітин (Nitta T., 2001). У наших дослідженнях апоптоз призводив до більш, ніж триразового зростання анексин V-позитивних (апоптичних) клітин селезінки самиць щурів порівняно зі самцями.

У результаті наших досліджень (табл. 11) з'ясовано, що у передзабійний період у крові

Таблиця 11

Узагальнення результатів досліджень

Показники	Щури				Кролики		Кнурці		Бугайці		Курчата-бройлери	
	самиці		самці		к	п	к	п	к	п	к	п
	к	п	к	п								
Гормони												
Кортизол	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑↓	↑↓	↑	↓	↑	↓
Адренкортикотропний гормон							↑↓	↑↓	↑	↓	↓	↑
Інсулін							↑↓	↑↓			↓	↑
Альдостерон									↑	↓		
Естріол											↑	↓
Естрадіол											↑	↓
Адреналін	↑	↓										
Норадреналін	↑	↓										
Ензими												
Супероксиддисмутаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Каталаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Аланінамінотрансфераза	↑↓	↑↓			↓	↑					↑	↓
Аспартатамінотрансфераза	↑	↓			↓	↑					↑	↓
Лактатдегідрогеназа	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Лужна фосфатаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Імунітет												
Клітинна і гуморальна ланка природної резистентності	↓	↑			↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Т- і В-клітинний імунітет	↑↓	↑↓			↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
Протеїнові фракції	↑↓	↑↓			↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Апоптоз спленоцитів	↑	↓	↑	↑								
Субстрати												
Фракції ліпідів					↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
ВЖК											↓	↑
Поліаміни											↓	↑
Амінокислоти											↓	↑
Глутатіон											↑	↓

Примітки: п — використання препарату; к — контроль; ↑↓ — невірогідна різниця

й тканинах тварин зростає рівень гормонів (кортизолу, адренкортикотропного гормону, альдостерону, естріолу та естрадіолу), знижується вміст поліамінів і амінокислот. Щодо активності ензимів (супероксиддисмутази, каталази, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази), вмісту протеїнових фракцій,

складу ліпідів і високомолекулярних жирних кислот загальних закономірностей не виявлено.

Одночасно стрес перед забоєм тварин призводить до зниження клітинної і гуморальної ланки природної резистентності, зокрема, фагоцитарної активності нейтрофілів крові. Використання розробленого нами препарату селезінки «Сплінактив», який містить біологічно активні речовини природного походження, нівелює передзабійний стрес, знижує рівень апоптозу спленоцитів, підвищує рівень неспецифічної резистентності в усіх досліджуваних видів тварин (щури, кролики, бугайці, кнурці, курчата-бройлери) та підвищує біологічну цінність м'яса завдяки амінокислотам і поліамінам.

Визначені нами відмінності між самцями і самками щодо рівня стрес-індукованого апоптозу клітин селезінки становлять особливий інтерес і вимагають окремого дослідження.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі експериментально доведено доцільність застосування тваринам у передзабійний період, що супроводжується станом стресу, біологічно активних речовин, які містяться у препараті селезінки свині, для нівелювання негативних наслідків стресу перед забоєм. За результатами визначення вмісту гормонів, протеїнів, ліпідів крові, активності ензимів, функціональних показників клітин імунної системи лабораторних і сільськогосподарських тварин, гістологічних і морфометричних особливостей органів лабораторних тварин дано комплексну характеристику реакцій тварин на стрес перед забоєм. За матеріалами дисертаційної роботи зроблено такі основні висновки:

1. Одержано препарат із селезінки свині, який чинить виражений імуностимулювальний і антистресовий вплив на організм лабораторних тварин за умов стресу перед забоєм. Він діє на тварин у стані стресу подібно до екстрактів ехінацеї, лимоннику китайського та пророщеного зерна пшениці. Проведено мас-спектрометричну ідентифікацію і кількісне визначення вмісту окремих складників у створеному препараті з селезінки. Показано, що він містить значну кількість фосфоліпідів, зокрема фосфадитилхоліну (15 мг на 100 мл препарату). Екстрагування тканини селезінки за дії ультразвуку підвищує на 25 % ($P < 0,05$) вміст поліамінів у препараті й удвічі — аргініну та фосфадитилхоліну ($P < 0,01$) порівняно з препаратом, одержаним екстрагуванням селезінки без використання ультразвуку.

2. Застосування препарату селезінки «Сплінактив» самицям щурів перед забоєм знижує рівень апоптозу спленоцитів селезінки ($P < 0,05$) з 45,84 до 31,65 %. У самців за максимального стресу, навпаки, зростає рівень апоптичних клітин селезінки з 13,95 до 23,83 %.

3. Додавання до корму щурам препарату селезінки стимулює неспецифічні та специфічні механізми клітинного й гуморального імунітету перед забоєм, зокрема, майже вдвічі зростає фагоцитарний індекс нейтрофілів, а кількість Т-лімфоцитів (активних і теофілінрезистентних) збільшується на 7,0 і 6,3 % відповідно ($P < 0,05$).

4. Рівень кортизолу в плазмі крові щурів перед забоєм, яким додатково з кормом давали препарат селезінки, був нижчим (75,02 нг/мл), ніж у тварин контрольної групи (174,92 нг/мл) ($P < 0,05$), що свідчить про зменшення в організмі щурів дослідної групи стресового напруження завдяки адаптогенній дії препарату.

5. У разі використання препарату селезінки за умов передзабійного стресу у щурів на 33,61 % збільшується площа, яку займають острівці Лангерганса в тканині підшлункової залози. У наднирникових залозах щурів контрольної групи набрякають клітин пучкової зони і настає зернисто-вакуольна дистрофія, що вказує на порушення реабсорбції рідини і напружений функціональний стан нирок. Споживання тваринами з кормом препарату селезінки супроводжується формуванням нових епітеліальних клітин, редукцією пучкової і розширенням сітчастої зони.

6. Під впливом препарату селезінки відбуваються зміни у стані рецепторного апарату Т- і В-клітинного імунітету кроликів перед забоєм, зокрема, зменшується кількість недиференційованих Т-хелперів і малодиференційованих В-лімфоцитів. У крові тварин удвічі зростає вміст преальбумінів ($P < 0,05$). Рівень кортизолу в плазмі крові кроликів дослідної групи, які отримували препарат із селезінки, нижчий на 40 % ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. Перед забоєм у тварин дослідної групи на 16 % ($P < 0,01$) зростає фагоцитарна активність клітин крові і на 27 % ($P < 0,01$) — фагоцитарне число порівняно з тваринами контрольної групи.

7. У крові кнурців до транспортування виявлено вірогідне зниження рівня моно- і диацилгліцеролів, неетерифікованих жирних кислот, кардіоліпіну і зростання фосфоліпідів і фосфатидної кислоти. Після транспортування (перед забоєм) у цих тварин зафіксовано зменшення вмісту триацилгліцеролів на тлі збільшення вмісту неетерифікованих жирних кислот, етерифікованого холестеролу, кардіоліпіну та фосфатидної кислоти ($P < 0,05$), а також збільшення вмісту фракції β -глобулінів ($P < 0,01$) і γ -глобулінів ($P < 0,05$).

8. У кнурців після транспортування на 25 % ($P < 0,05$) зростає кількість малодиференційованих Т-загальних лімфоцитів і Т-хелперів, а кількість середньоавідних Т-хелперів — утричі ($P < 0,05$). Водночас у кнурців, що отримували препарат селезінки, фагоцитарна активність нейтрофілів крові зростає на 5,2 %, фагоцитарний індекс — на 14 % і фагоцитарне число — на 25 %.

9. У бугайців перед транспортуванням, порівняно з підготовчим періодом, виявлено вірогідно вищий рівень адренкортикотропного гормону. Унаслідок застосування препарату селезінки вміст адренкортикотропного гормону знижується майже вдвічі ($P < 0,05$), кортизолу — на 31 % ($P < 0,05$), альдостерону — на 34 % ($P < 0,05$). У тварин дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи, виявлено вищу фагоцитарну активність нейтрофілів крові на 7–10 % ($P < 0,05$), як до, так і після транспортування.

10. У бугайців дослідної групи до транспортування на м'ясокомбінат вміст фосфоліпідів у плазмі крові був меншим на 10 % ($P < 0,01$), а після транспортування рівень кардіоліпіну ставав нижчим у 4 рази ($P < 0,05$), сфінгомієліну — вищим утричі ($P < 0,01$) порівняно з тваринами контрольної групи.

11. У разі застосування препарату селезінки відбуваються зміни у протеїновому спектрі плазми крові бугайців, зокрема, на 27 % ($P < 0,01$)

збільшується вміст глобулінової фракції за рахунок γ -глобулінів. Це може вказувати на підвищення активності гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму бугайців перед забоєм.

12. У плазмі крові курчат-бройлерів, які отримували препарат селезінки, удвічі вищий рівень інсуліну ($P < 0,05$) та удвічі нижчий — адренокортикотропного гормону ($P < 0,05$), що може сприяти зменшенню впливу стресу. У курчат-бройлерів перед забоєм зростає на 3 % відносна кількість Т-хелперів, знижується активність АсАТ і АлАТ на 29 і 44 % ($P < 0,05$) відповідно, а також підвищується рівень γ -глобулінів; утричі підвищується рівень лізолецитину й удвічі ($P < 0,05$) — фосфатидилетаноламіну, втричі ($P < 0,01$) знижується рівень фосфатидилінозиту і фосфатидної кислоти.

13. У крові і тканинах курчат-бройлерів, яким додавали до корму препарат селезінки, збільшився вміст поліамінів: загальний вміст поліамінів у крові зростав на 39 % ($P < 0,01$), спермідину — на 34 % ($P < 0,05$), сперміну — на 40 % ($P < 0,01$); у селезінці загальний вміст поліамінів зростав на 20 %, спермідину — на 33 % ($P < 0,05$); у печінці вміст путресцину зростав удвічі ($P < 0,05$); у нирці вміст сперміну зростав на 45 %, спермідину — на 47 % ($P < 0,05$); у грудному м'язі загальний вміст поліамінів зростав на 45 % ($P < 0,05$), путресцину — утричі, сперміну — удвічі ($P < 0,01$), порівняно з контрольною групою.

14. Вміст окремих амінокислот у грудному м'язі курчат-бройлерів, які отримували препарат селезінки, був більшим, ніж у контрольній групі. Зменшення вмісту аргініну, лізину й метіоніну в грудному м'язі курчат-бройлерів контрольної групи викликане необхідністю синтезу поліамінів у тварин у стані стресу перед забоєм. Використання препарату з селезінки свині викликає зменшення рівня показників передзабійного стресу і, таким чином, підвищує біологічну цінність м'яса курчат-бройлерів. Про це свідчать одержані дані: у разі споживання такого м'яса підвищувалися деякі показники імунітету в крові чоловіків, зокрема, індекс стимуляції НСТ між дослідною та контрольною групами різнився на 34,8 %, хоча не виходив за межі норми.

15. Визначення вмісту адренокортикотропного гормону та кортизолу за умов передзабійного стресу у різних видів досліджуваних тварин (щури, кролики, бугайці, кнурці, курчата-бройлери) виявило зменшення рівня цих гормонів за використання препарату селезінки, і лише у кнурців такої тенденції не зафіксовано, що вказує на видові особливості адаптації (енантиостазу) до стресу. При цьому препарат із селезінки діє однаково позитивно на показники клітинної і гуморальної ланки природної резистентності в усіх досліджуваних видів тварин.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Запропоновано новий метод одержання препарату «Сплінактив» з селезінки свині з використанням обробки тканини ультразвуком.
2. Препарат «Сплінактив» сприяє нормалізації функцій клітинного імунітету, активації метаболізму, приросту маси тіла і нівелюванню передзабійного стресу курчат-бройлерів і кроликів.
3. Розвиток передзабійного стресу можна нівелювати на завершальній стадії відгодівлі сільськогосподарських тварин препаратом із селезінки свині «Сплінактив»). У такий спосіб можна не лише підвищити резистентність організму тварин до передзабійного стресу, але й покращити якість їх м'яса.
4. До стандарту Мінагрополітики України «М'ясо птиці механічного обвалювання. СОУ 10.1-37-XXX:20PP. Загальні технічні умови» у розділі «5.1. Основні показники і характеристики» додатково внести пункт «Визначення складу амінокислот і рівня поліамінів».

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Грабовський С. С.** Особливості впливу глюкокортикоїдів на живий організм / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2007. — Т. 9, № 1–2. — С. 65–69.
2. **Грабовський С. С.** Ритми синтезу білків під впливом поліамінів / С. С. Грабовський // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: біологічні науки. — Львів, 2010. — Т. 12, № 3(45), Ч. 2. — С. 41–50.
3. **Грабовський С. С.** Біогенні стимулятори та їх застосування / С. С. Грабовський // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: ветеринарні науки. — Львів, 2011. — Т. 13, № 2(48), Ч. 1. — С. 39–48.
4. **Грабовський С. С.** Стреси сільськогосподарських тварин та його наслідки / С. С. Грабовський // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: ветеринарні науки. — Львів, 2012. — Т. 14, №3(53), Ч. 2. — С. 47–58.
5. **Грабовский С. С.** Экстрагирование биологически активных веществ селезенки с использованием ультразвука / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — Иваново : МАРКОВА АД., 2013. — Т. 49, Вып. 4. — С. 3–6.
6. **Грабовский С. С.** Влияние биологически активных веществ разного происхождения на лабораторных животных в стрессовом состоянии / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — Иваново : МАРКОВА АД., 2013. — Т. 44, Вып. 3. — С. 13–15.
7. **Грабовський С. С.** Вміст окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів при передзабійному стресі / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2013. — Т. 15, № 4. — С. 24–31.
8. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові щурів за умов стресу / С. С. Грабовський // Біологічні Студії. — 2014. — Т. 8, № 1. — С. 93–102.

9. **Грабовський С. С.** Морфометрична характеристика наднирників і нирок щурів за умов передзабійного стресу під час використання біологічно активних речовин / С. С. Грабовський // Біологічні Студії. — 2014. — Т. 8, № 2. — С. 43–56.

10. **Грабовський С. С.** Морфометрична характеристика підшлункової залози щурів за умов передзабійного стресу при використанні біологічно активних речовин / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2014. — Т. 16, № 4. — С. 15–21.

11. **Грабовский С. С.** Активность аминотрансфераз и концентрация эстрогенов в крови цыплят-бройлеров при передубойном стрессе / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — Иваново : МАРКОВА АД., 2014. — Т. 32, Вып. 2. — С. 3–6.

12. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на вміст інсуліну у крові курчат-бройлерів за умов стресу / С. С. Грабовський // Scientific Journal «ScienceRise» / Біологічні науки. — 2014. — № 1(1). — Р. 67–69.

13. **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.

14. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету крові бугайців за умов стресу / С. С. Грабовський // Вісник проблем біології і медицини. — Полтава, 2015. — Вип. 2, Т. 4, № 121. — С. 56–60.

15. **Грабовський С. С.** Морфометрична характеристика селезінки щурів за умов передзабійного стресу та використання біологічно активних речовин / С. С. Грабовський // Львівський медичний часопис // Acta Medica Leopoliensia. — 2015. — Т. 21, № 2. — С. 73–77.

16. Біологічний вплив поверхнево активних речовин на живий організм / О. С. Грабовська, **С. С. Грабовський**, В. В. Каплінський, О. Р. Дябога, Р. Р. Оленіч // Біологія тварин. — 2006. — Т. 8, № 1–2. — С. 63–71. *(Здобувач проаналізував літературні дані і написав статтю).*

17. Маслянюк Р. П. Сучасні уявлення про фагоцитоз / Р. П. Маслянюк, **С. С. Грабовський**, О. С. Грабовська. — Біологія тварин. — 2013. — Т. 15, № 3. — С. 63–69. *(Здобувач проаналізував літературні дані й у співавторстві написав у статті розділ про поліаміни).*

18. Одержання біологічно активних речовин селезінки (поліамінів) з використанням пристрою ультразвукового екстрагування / **С. С. Грабовський**, У. Р. Драчук, О. М. Лозинський, І. І. Кравець // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: ветеринарні науки. — Львів, 2013. — Т. 15, № 1(1). — С. 286–290. *(Здобувачеві належить ідея, покладена в основу планування та постановки експерименту, аналіз результатів, написання статті).*

19. **Грабовський С. С.** Вміст ліпідів у крові кроликів за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Сборник научных трудов SWorld. Иваново : МАРКОВА АД., 2014. — Т. 29, Вып. 3. — С. 3–6. *(Здобувач виконав експеримент, узагальнив результати дослідження і написав статтю).*

20. **Грабовский С. С.** Содержание липидов в крови свиней при стрессе / С. С. Грабовский, А. С. Грабовская // Санкт-Петербург : Научный фонд «Биолог».

— 2014. — № 2. — С. 9–11. *(Здобувач провів експеримент, узагальнив отримані результати дослідження і написав статтю).*

21. **Грабовський С. С.** Вміст фосфоліпідів у крові свиней за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Scientific Journal «ScienceRise». — 2014. — № 4/1(4). — С. 10–13. DOI: 10.15587/2313-8416.2014.29418. *(Здобувач провів дослід, узагальнив отримані результати дослідження і написав статтю).*

22. **Грабовський С. С.** Морфометрична та гематологічна характеристика щурів лінії *Wistar* за умов передзабійного стресу та при використанні біологічно активних речовин / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Сборник научных трудов SWorld. — Иваново : МАРКОВА АД., 2014 — Т. 31, Вып. 4(37). — С. 7–10. *(Здобувач організував дослід, узагальнив отримані результати дослідження, написав статтю).*

23. **Грабовський С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на концентрацію білкових фракцій і рівень кортизолу у плазмі крові щурів за умов стресу / С. Грабовський, О. Грабовська, Д. Остапів // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. — Львів, 2014. — Вип. 67. — С. 29–34. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, які стосувалися розділення білкових фракцій, і написав статтю).*

24. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на вміст білкових фракцій, кортизолу та глутатіону в плазмі крові курчат-бройлерів за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник проблем біології і медицини. — Полтава, 2014. — Вип. 4, Т. 1(113). — С. 57–61. *(Здобувач виконав основну частину експериментального дослідження і написав статтю).*

25. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету крові кроликів за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Scientific Journal «ScienceRise» / Біологічні науки. — 2015. — № 2/1(7). — Р. 14–17. DOI: 10.15587/2313-8416.2015.37406. *(Здобувачеві належать ідея, покладена в основу планування та постановки експерименту, аналізі результатів, написанні статті).*

26. **Грабовський С. С.** Морфометрична характеристика печінки щурів за умов передзабійного стресу та використання біологічно активних речовин / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького. — Мелітополь, 2015. — Т. 5, № 1. — С. 94–104. <http://dx.doi.org/10.7905/bbmospu.v5i1.965>. *(Здобувач спланував експериментальні дослідження, узагальнив їх результати і написав статтю).*

27. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету крові курчат-бройлерів в умовах стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник Дніпропетровського університету. Серія: біологія, медицина. — Дніпропетровськ, 2015. — Т. 6(1). — С. 36–39. DOI:10.15421/021507. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав статтю).*

28. Грабовська О. С. Неспецифічна резистентність та вміст окремих гормонів у крові бугайців за умов корекції передзабійного стресу / О. С. Грабовська,

С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2015. — Т. 17, № 2. — С. 43–49. *(Здобувачеві належать ідея, покладена в основу планування та постановки експерименту, участь у експерименті та аналізі результатів, написанні статті).*

29. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на концентрацію протеїнових фракцій та рівень кортизолу у плазмі крові кроликів за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького. — Мелітополь, 2015. — Т. 5, Вип. 2. — С. 93–102. <http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v5i1.979>. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, які стосувалися розділення протеїнових фракцій, узагальнив отримані результати і написав статтю).*

30. **Грабовський С. С.** Вплив імуномодуляторів природного походження на вміст протеїнових фракцій плазми крові кнурів за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник проблем біології і медицини. — Полтава, 2015. — Вип. 3, Т. 2(123). — С. 104–107. *(Здобувачеві належать ідея, покладена в основу планування та постановки експерименту, аналізі результатів, написанні статті).*

31. **Грабовський С.** Вплив екстракту селезінки на показники клітинного імунітету у крові кнурів за умов стресу / С. Грабовський, О. Грабовська // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. — Львів, 2015. — Вип. 70. — С. 107–114. *(Здобувач організував експеримент, узагальнив результати дослідження і написав статтю).*

32. **Грабовський С. С.** Індекс стимуляції нейтрофілів у людей, котрі споживають м'ясо курчат-бройлерів за умов корекції передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник Дніпропетровського університету. Серія: біологія, медицина. — Дніпропетровськ, 2015. — Т. 6. — Вип. 2. — С. 165–168. doi:10.15421/021530 *(Здобувач спланував експериментальні дослідження, узагальнив їх результати і написав статтю).*

33. **Грабовський С. С.** Вміст окремих класів ліпідів у крові бугайців за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. — Харків, 2015. — Вип. 24, № 1153. — С. 144–149. *(Здобувач спланував експериментальні дослідження, узагальнив їх результати і написав статтю).*

34. **Grabovskiy Stepan.** The effect of consumption of broiler chickens meat in conditions of pre-slaughter stress with its correction on natural resistance of people / Stepan Grabovskiy, Jaroslav Kyryliv, Oleksandra Grabovska // Acta Sci. Pol. Zootechnica. — 2015. — Vol. 14, N4. — P. 53–62. *(Здобувач брав участь в експерименті, узагальнив результати дослідження і написав статтю).*

35. **Грабовский С. С.** Коррекция передубойного стресса у лабораторных животных биологически активными веществами / С. С. Грабовский, А. С. Грабовская // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия аграрных наук. — Алматы, 2015. — № 5, Вып. 29. — С. 25–30. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написано статтю).*

36. **Грабовський С. С.** Гормональний профіль та неспецифічна резистентність кнурів за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету імені

Богдана Хмельницького. — Мелітополь, 2016. — Т. 6. — Вип 1. — С. 80–93. <http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v6i1.975>. (Здобувач спланував експериментальні дослідження, узагальнив їх результати і написав статтю).

37. **Грабовський С. С.** Вміст амінокислот і поліамінів у грудному м'язі курчат-бройлерів за умов застосування екстракту селезінки з метою нівелювання передзабійного стресу // С. С. Грабовський, Я. І. Кирилів, О. С. Грабовська // Біологічні Студії / Studia Biologica. — 2015. — Т. 9. — № 2. — С. 107–114. (Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав статтю).

38. **Грабовський С. С.** Біохімічні параметри крові лабораторних тварин за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. Я. Велика // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 2016. — 2(74). — С. 34–39. (Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав статтю).

39. Технічні умови України (ТУ У) 21.2–00492990–013:2016. Препарат «СПЛІНАКТИВ» / **Грабовський С. С.**, Грабовська О. С., Курилас Л. В. — 24 с. (Здобувач виконав експериментальні дослідження, які стосувалися екстрагування селезінки із застосуванням ультразвуку, узагальнив результати і написав ТУ У).

40. Пат. 92225 Україна, МПК (2006.01): А 61 К 35/28, А 61 К 31/04, А 61 К 31/13. Спосіб виробництва біологічно активних речовин селезінки — поліамінів / **Грабовський С. С.**, Драчук У. Р.; заявник і патентовласник Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — № и 2014 01325; заявл. 11.02.14; опубл. 11.08.14, Бюл. № 15. — 4 с. (Здобувач проводив дослідження, що стосувалися екстракції селезінки, брав участь в оформленні патенту на корисну модель).

41. Пат. 98752 Україна на корисну модель UA МПК (2015.01): А 01 К 67/02 (2006.01), А 61 D 7/00, А 61 К 35/28 (2015.01). Спосіб підвищення імунної реактивності та корекція стресового стану птиці перед забоєм / **Грабовський С. С.**, Кирилів Я. І., Грабовська О. С., Сухорська О. П.; заявник і патентовласник Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — № и 2014 11148; заявл. 13.10.14; опубл. 12.05.15, Бюл. № 9 — 4 с. (Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту на корисну модель).

42. Пат. 98958 Україна, МПК (2015.01): А 01 К 67/02 (2006.01), А 61 D 7/00, А 61 К 35/28 (2015.01). Спосіб підвищення імунної реактивності та корекції стресового стану кроликів перед забоєм / **Грабовський С. С.**, Кирилів Я. І., Грабовська О. С.; заявник і патентовласник Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — № и 2014 13302; заявл. 11.12.14; опубл. 12.05.15, Бюл. № 9 — 4 с. (Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту на корисну модель).

43. **Grabovsky S. S.** Metabolic blood profile in different productivity cows under feeding of Trifolium Praetensis hay / S. S. Grabovsky, O. S. Grabovska // III Symposium Ukraine-Österriech Landwirtschaft: Wissenschaft und Praxis (Tschernivci, 14–16 September 2000). — 2000. — P. 76. (Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).

44. **Grabovskyj S.** Influence of certain periods of ontogenesis on productive qualities of young cattle / **S. Grabovskyj**, O. Grabovska // I-t Polish-Ukrainian Scientific

Conference ANIMAL SCIENCES IN THE XXI ENTURY. — Krakow, 2001. — P. 59–64. *(Здобувач спланував дослідження, які стосувалися визначення активності ензимів, проаналізував літературні дані та результати власних експериментів і написав статтю).*

45. **Dr. Grabovskyj S.** Academy of Veterinary Sciences, Lviv New approaches for extraction of biologically active substances from blood — natural regulators of physiological processes in the body / **Dr. S. Grabovskyj**, Dr. A. Mysak // EU-Osterweiterung — Chancen für die Wirtschaft Thüringens. — 2004. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).*

46. **Грабовський С. С.** Окремі показники імунітету у людей при споживанні м'яса курчат-бройлерів / С. С. Грабовський // 11-й Український біохімічний конгрес (6–10 жовт. 2014 р., Київський національний університет імені Тараса Шевченка) — The Ukrainian Biochemical Journal. — Київ, 2014. — Vol. 86, N 5, Suppl. 2. — P. 230.

47. **Грабовський С. С.** Гормональний профіль крові домашніх тварин за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2–3 жовт. 2015 р.). — Біологія тварин. — 2015. — Т. 17, № 3. — С. 155. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).*

48. **Грабовський С. С.** Вплив ультразвуку на інтенсифікацію екстрагування суміші поліамінів (спленіну) / С. С. Грабовський, У. Р. Драчук, Б. І. Галух // Збірник тез міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» (Тернопіль, 8–9 жовт. 2015 р.). — Тернопіль, 2015. — С. 86–87. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).*

49. **Грабовський С. С.** Гормональний профіль та неспецифічна резистентність кнурів за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Збірник тез міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» (Тернопіль, 8–9 жовт. 2015 р.). — Тернопіль, 2015. — С. 223. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).*

50. **Грабовський С. С.** Pre-slaughter stress affects cortisol and adrenocorticotrophic hormone levels in blood plasma of animals / S. S. Grabovskyi, O. S. Grabovska // Тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 29–30 верес. 2016 р.). — Біологія тварин. — 2016. — Т. 18, № 3. — С. 129. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, узагальнив їх і написав тези).*

АНОТАЦІЯ

Грабовський С. С. Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забосм. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 — біохімія. — Інститут біології тварин НААН, Львів, 2016.

Дисертація присвячена вивченню впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на показники метаболізму та імунного статусу в організмі

різних видів тварин за умов передзабійного стресу й розкриттю нових аспектів щодо адаптації їх організму до стресу перед забоєм на основі біохімічних, імунологічних і морфометричних досліджень.

Експериментально обґрунтовано, що біологічно активні речовини препарату селезінки «Сплінактив» можуть нівелювати стресовий передзабійний стан та підвищувати імунітет у тварин, і в такий спосіб поліпшувати якість їх м'яса. Запропоновано спосіб одержання біологічно активного препарату із селезінки свині й експериментально доведено доцільність використання для підвищення резистентності організму та корекції стресового стану тварин перед забоєм. За допомогою мас-спектрометричного аналізу в препараті селезінки свині «Сплінактив» виявлено високий вміст фосфоліпідів, аргініну та поліамінів.

Виявлено позитивний вплив препарату селезінки на морфологічні показники наднирникових залоз і нирки, підшлункової залози, печінки та селезінки лабораторних тварин за умов передзабійного стресу.

Дослідження, проведені на щурах, кроликах, курчатах-бройлерах, бугайцях і кнурцях за умов передзабійного стану та використання препарату селезінки, показали його позитивний вплив на показники неспецифічного імунітету. При цьому, зменшувався стрес тварин перед забоєм, за винятком кнурців.

Отримано дані про вплив споживання м'яса курчат-бройлерів на деякі показники імунітету організму людини з урахуванням передзабійного стану курчат-бройлерів і його корекції створеним препаратом із селезінки свині.

Ключові слова: передзабійний стрес, біологічно активні речовини, препарат селезінки, поліаміни, кров, тканини, показники імунітету.

АННОТАЦІЯ

Грабовский С. С. Адаптогенное влияние биологически активных веществ препарата селезенки в условиях стресса животных перед убоем. — Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.04 — биохимия. — Институт биологии животных НААН. Львов, 2016.

Диссертация посвящена изучению влияния биологически активных веществ препарата селезенки на показатели метаболизма и иммунного статуса в организме различных видов животных в условиях предубойного стресса и раскрытию новых аспектов адаптации их организма к стрессу перед убоем на основании биохимических, иммунологических и морфометрических исследований.

Экспериментально обосновано, что биологически активные вещества из препарата селезенки «Сплинактив» могут нивелировать стрессовое предубойное состояние и повышать иммунитет у животных, и тем самым улучшать качество их мяса. Предложен способ получения биологически активного препарата из селезенки и экспериментально доказана целесообразность его использования для повышения резистентности организма и коррекции стрессового состояния животных перед убоем. При помощи масс-спектрометрического анализа в препарате селезенки

свиньи «Сплинактив» выявлен высокий уровень фосфолипидов, аргинина и полиаминов.

Установлено позитивное влияние препарата селезенки на морфологические показатели надпочечников и почки, поджелудочной железы, печени и селезенки лабораторных животных в условиях предубойного стресса.

Исследования, проведенные на крысах, кроликах, цыплятах-бройлерах, бычках и хряках в условиях предубойного состояния и использования препарата селезенки, показали его положительное влияние на показатели неспецифического иммунитета. При этом уменьшался стресс животных перед убоем, за исключением хряков.

Получены данные о влиянии потребления мяса цыплят-бройлеров на некоторые показатели иммунитета организма людей с учетом предубойного состояния цыплят-бройлеров и его коррекции созданным препаратом из селезенки свиньи.

Ключевые слова: предубойный стресс, биологически активные вещества, препарат селезенки, полиамины, кровь, ткани, показатели иммунитета.

SUMMARY

Grabovskyi S. S. Adaptogenic effect of biologically active substances of spleen preparation at stress in animals before slaughter. — The manuscript.

The thesis for a doctor's degree in the field of biological sciences in the specialty 03.00.04 — biochemistry. — Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2017.

The thesis is devoted to studying state and to reveal the new aspects of pre-slaughter stress by animals adaptation before slaughter based on biochemical, immunological and morph metric indices.

A necessity of the using of spleen preparation contains the biologically active substances to animals at pre-slaughter period for correcting a pre-slaughter stress has been experimentally proved.

By the mass spectrometer analysis has been shown high concentration of phospholipids, arginine and polyamines in pig's spleen preparation «Spleen Active». The spleen preparation consists of phospholipids such as phosphatidylethanolamine, phosphatidylinositol. The phosphatidylcholine content was highest in this preparation. The phosphatidylcholine, arginine and polyamines are the main active ingredients of this preparation affected as immunostimulators and antistressors for animals before slaughter.

Based on the data of pre-slaughter stress the cortisol concentration reliable changes in the rat's blood plasma depending on priority of taking animals from the cage (from the 1st to the 5th animal) was determined. Herewith this hormone level was ranged from 34.97 (the first animals from each cage) to 178.90 ng / ml (the 5th animals which were taking last from the each cage).

For the first time significantly higher by 26 % of adrenocorticotrophic hormone level was revealed in the bulls before transport to slaughterhouse, compared to the beginning of the experiment — at the preparatory period.

The method of obtaining biologically active substances of pig's spleen preparation was considered in order to increase the resistance of the organism and correction of stress in animals before slaughter.

The effect of the pig's spleen preparation, Echinacea and Schizandra chinensis extracts and growing grain on the laboratory animals organism was compared. The content of hormones, proteins, blood lipids, enzymes activity, the state of immune system, histological, morphometric changes in the adrenal glands, kidneys, pancreas, spleen and liver in rats at pre-slaughter period were determined. The greatest effect on the laboratory animal's organism at pre-slaughter stress has been shown at the action of spleen preparation compared with applied bioactive substances with anti-stress and immunostimulatory action.

The largest area of Langerhans islets in pancreas tissue was in the rats that received the pig's spleen preparation at pre-slaughter stress. The addition of spleen preparation to the rats' diet during five days before decapitation is characterized by the changes of morphological state of adrenal glands and kidneys suggesting about anti-stress properties of polyamines.

Using of the spleen preparation has a positive impact on the indicator of the non-specific immunity in organism of laboratory animals, rabbits, broiler chickens, bulls and boars at pre-slaughter stress. At the same time stress was less expressed in all animals before slaughter, except the boars.

The polyamines content such as putrescine, spermine and spermidin in broiler chickens pectoral muscle was determined. The total amount of polyamines, concentration of putrescine, spermine and spermidin in broiler chickens blood (by 39 %) and some tissues (except kidneys): in pectoral muscle (by 45 %), in spleen (by 20 %) was reliably higher compared to control group. Supplements of the spleen preparation to the diet of experimental groups broiler chickens by aerosol method testify to increase of polyamines concentration. The putrescine, spermine and spermidin level was reliably lower in blood and some tissues of broiler chickens of control group. The polyamines content in broiler chickens blood, liver and pectoral muscle was reliably higher in broiler chickens of the first experimental group after addition to their diet the spleen preparation with ultrasound application.

The total amount of amino acids in broiler chickens pectoral muscle was reliably higher in broiler chickens of both experimental groups after addition to their diet of the spleen preparation. The using of the pig's spleen preparation promoted an increase in the amino acid concentrations in broiler chickens pectoral muscle and improved the biological quality of poultry meat.

It has been shown that natural origin biologically active substances from pig spleen preparation can correct pre-slaughter state in animals and increase resistance of the organism as well as improve meat quality.

For the first time the information about the differences of influence on some immunity indexes in people after consumption of chicken meat was received considering by broiler chickens pre-slaughter stress and its correction by a preparation from porcine spleen.

Keywords: pre-slaughter stress, biologically active substances, spleen preparation, polyamines, blood, tissues, immunity indicators.

Підписано до друку 20.12.2016.
Формат 60x84/16. Гарн. Times New Roman.
Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 1,9.
Зам. № 25.12. Наклад 150 прим.

Друк ФОП Корпан Б. І.
Львівська обл., Пустомитівський р-н., с. Давидів, вул. Чорновола, 18
Ел. пошта: bkorpan@ukr.net, тел.: (067) 67-44-446
Код ДРФО 1948318017, Свідоцтво фізичної особи-підприємця:
В02 № 635667 від 13.09.2007 р.