

**ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ  
НА ВМІСТ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ, КОРТИЗОЛУ ТА ГЛУТАТІОНУ В КРОВІ  
КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ****Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій****імені С. З. Ґжицького (м. Львів)****\*Інститут біології тварин НААН (м. Львів)**

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Структура і властивості неорганічних та органічних сполук», № держ. реєстрації 0112U000761.

**Вступ.** Розробка фізіологічно обґрунтованої технології утримання, годівлі, експлуатації сільсько-господарських тварин і, зокрема птиці в умовах промислових комплексів неможлива без врахування таких біологічних категорій, як гомеостаз, стрес і адаптація. Особливо актуальним це стає перед забоєм тварин, коли виникає невідповідність між біологічною природою та фізіологічними можливостями організму. За дії стрес-факторів в організмі птиці відбуваються гематологічні та біохімічні зміни: істотно збільшення у крові тварин кількості еритроцитів, лейкоцитів, зокрема сигментоядерних нейтрофілів, моноцитів, що може бути пов'язане із посиленням функції кровотворних органів. Однак, кількість лімфоцитів у крові при цьому зменшується. Відмічено також зменшення кількості холестеролу, що було виявлено і в наших дослідженнях [4], концентрації загального білка та збільшення кількості продуктів розщеплення білка (сечовини і залишкового азоту), а також концентрації глюкози, калію, натрію та хлоридів [2]. Клінічною ознакою стресу у птиці є задишка і опускання крил. Існує дві найбільш важливі фізіологічні відповіді на стрес: стимуляція симпатичної нервової системи і активація зв'язку гіпоталамус-гіпофіз-кора наднирників. Стресор збуджує гіпоталамус, продукується речовина, що дає сигнал гіпофізу виділяти у кров адренокортикотропний гормон, під впливом якого корковий шар надниркових залоз секретує кортикоїди [26, 31].

За багатьох стресових ситуацій у сироватці крові може змінюватися співвідношення білкових фракцій, хоча загальний вміст білка залишається стабільним. Основна маса білків плазми крові синтезується у печінці – це альбуміни (10-16 г / добу),  $\alpha$ -глобуліни, частина  $\beta$ -глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори). У клітинах імунної системи синтезується більша частина  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів. Визначення вмісту білкових фракцій крові є показовим, оскільки має велике значення для діагностики багатьох захворювань. Альбуміни становлять найбільшу частину білків крові, відіграють важливу роль у підтримці онкотичного тиску крові, беруть участь у транспорті

багатьох біологічних речовин: вуглеводів, ліпідів, окремих гормонів, а також мікроелементів (Купрум, Цинк, Магній тощо) [27]. Вміст альбуміну у сироватці крові має діагностичне значення, його зниження вказує на дисфункцію печінки, нирок або інших органів. Зазвичай цей показник знижений при цукровому діабеті, важкій алергії, запальних процесах. Рівень альбуміну у крові є показником білок-синтетичної функції печінки [11].

Фракція гамма-глобулінів головним чином складається з імуноглобулінів [7, 14, 32]. Збільшення вмісту альфа-глобулінів спостерігається при запальних процесах в організмі (травми, опіки, інфаркт міокарда), а також при деяких хронічних захворюваннях, злоякісних новоутвореннях та при стресах [30]. У той час як зниження вмісту альфа-глобулінів відзначається при пригніченні їх синтезу у печінці за умов різних патологічних процесів, зростання вмісту бета-глобулінів спостерігається при атеросклерозі, цукровому діабеті, нефротичному синдромі. Зміна рівня гамма-глобулінів характерна для захворювань, пов'язаних із виснаженням, пригніченням імунної системи [6].

При дослідженнях фракцій крові у курей-несучок [24] та японської перепілки виявлено зниження концентрації глобулінів вже через 30-60 хв. після дії гострого стресового чинника [9, 13]. Найбільш детальне вивчення було проведено на горобцях, де показано що ніяких змін у концентрації глобулінів у відповідь на позбавлення їжі не було ні через 1, 2 або 6 годин; лише після 18 годин були помічені відмінності [16].

Відновлений глутатіон (GSH) присутній у центральній нервовій системі вивільняється у великих кількостях як і окиснений глутатіон (GSSG), при деполяризації астроцитів [8, 12]. В останні роки проявляються докази того, що GSH і GSSG можуть бути віднесені до нейромедіаторів гліального походження. Зміни у синтезі GSH та збільшене використання у реакціях детоксикації порушує функціонування нейронів [15]. Глутатіон забезпечує захист клітин від багатьох видів стресу. М'який стрес зазвичай збільшує рівні глутатіону, а тривалий призводить до зниження його концентрації у ряді тканин [17].

Інтотоксикація тетрахлорметаном (CCl<sub>4</sub>) та радіоактивне опромінення викликало значне підвищення

вмісту глутатіону [5, 22]. Деякими авторами встановлено вищий рівень глутатіону у пацієнтів з вираженою подагрою та субсиндромальних хворих [28]. Концентрація глутатіону може служити біомаркером окиснювально стресу [29].

**Мета дослідження** полягала у вивченні змін вмісту фракцій білків, кортизолу та глутатіону у крові курчат-бройлерів перед забоєм і їх корекція біологічно активними речовинами природного походження (екстракт селезінки).

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослід провели на 15 курчатах-бройлерах, які утримувалися на стандартному раціоні ТзОВ «Великолюбінське» смт Великий Любінь Городоцького району Львівської області. Для дослідження було сформовано три групи курчат одномісячного віку (по 5 курчат у кожній).

Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п'ять діб до забою) до корму курчат-бройлерів аерозольним методом вводили екстракт селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (I дослідна група) та без використання ультразвуку (II дослідна група). Екстракти наносили на комбікорм аерозольним методом (70°спиртовий розчин об'ємом 1,4 мл на курча). Птиці контрольної групи (III група) таким же чином додавали до корму 70°спиртовий розчин в аналогічному об'ємі. Контроль за поїданням комбікорму здійснювали щоденно. Курчата-бройлери корм поїдали повністю. Забій птиці проводили у ранковий час.

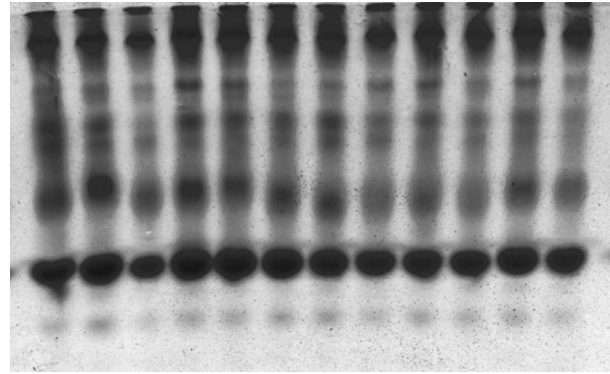
При експерименті усі біоетичні норми згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та дотриманням принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти [23] були збережені.

Розділення протеїнових фракцій сироватки крові проводили методом горизонтального електрофорезу у поліакриламідному гелі (ПААГ). Концентрація акриламіду становила 7,5%. У плазмі крові визначали кортизол за стандартною методикою. Концентрацію глутатіону у крові визначали після

відновлення глутатіону за зміною оптичної активності, викликану утворенням аніону тіонітро-бензоат-діаніону у реакції DTNB (5,5'-дитіобіс(2-нітро-бензойної кислоти) з відновленим глутатіоном. [3].

Математичну обробку результатів тварин опрацьовували статистично за допомогою пакету програм Statistica 6. 0 і Microsoft Excel for Windows XP. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними при  $P \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та обговорення.** Кров є дзеркалом адаптивних процесів, які розвиваються в організмі птиці. Тому ми проводили оцінку співвідношення



**Рис. 1. Електрофореграма білкових фракцій плазми крові курчат-бройлерів.**

білкових фракцій плазми крові курчат-бройлерів, яким додатково до корму згодовували біологічно активні речовини природного походження.

Електрофоретичне розділення білкових фракцій плазми крові експериментальних тварин методом електрофорезу в ПААГ наведено на **рис. 1**.

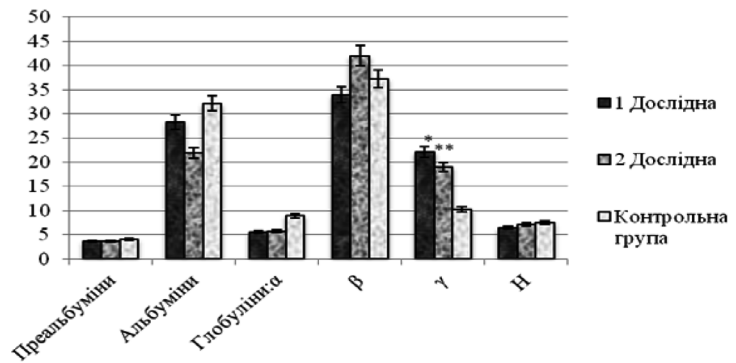
Проведені дослідження показали, що порівняно з курчатами контрольної групи виявлено деякі зміни у відсотковому значенні концентрації білкових фракцій.

У курчат-бройлерів обох дослідних груп дещо знизилась концентрація преальбумінів та альбумінів, у той час як збільшився вміст  $\gamma$ -глобулінів на 54% – I дослідна група та 46% – II дослідна група, відповідно (**рис. 2**).

Збільшення концентрації глобулінової фракції можна пояснити впливом поліамінів (путресцину, сперміну та спермідину), які містяться в екстракті селезінки і впливають на продукування їх організмом [10, 20].

У плазмі крові курчат, які додатково з кормом отримували екстракт селезінки (I дослідна група), рівень кортизолу був вірогідно нижчим ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем, що може свідчити про зменшення стресу перед забоєм (**табл.**).

У наших дослідженнях відмічено зменшення концентрації кортизолу у плазмі крові курчат-бройлерів дослідних груп за умов стресу, що співпадає з дослідженнями [18]. Деякі автори не відмічали змін [1], а



**Рис. 2. Співвідношення білкових фракцій плазми крові курчат-бройлерів (%;  $M \pm m$ ;  $n = 5$ ).**

**Примітка:** статистична вірогідність різниць: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$  порівняно до контролю.

Таблиця  
Рівень кортизолу у плазмі крові та  
глутатіону у крові курчат-бройлерів перед  
забоєм ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )

Групи	Кортизол, нг/мл	Глутатіон, Нмоль/ мг білка
I Дослідна	7,88 ± 1,201*	24,002 ± 0,81*
II Дослідна	11,04 ± 1,403	27,618 ± 2,9
Контрольна	12,92 ± 1,404	28,542 ± 1,252

**Примітка:** статистична вірогідність різниць: \* –  $P \leq 0,05$  порівняно до контролю.

інші вказують, що такі зміни показників потребують годин, якщо не кілька днів [16, 19, 33]. Правдоподібно, що гостра стресова реакція-відповідь може стосуватися фізіологічних або екологічних умов і, зокрема передзабійного стресу.

Зменшення концентрації вільного кортизолу у плазмі крові курчат I дослідної групи, яким додатково згодовували екстракт селезінки, пов'язано з підвищенням вмісту глобулінової фракції, що співпадає з дослідженнями на щурах під час стресу (вимушеного плавання). Автори відзначають надзвичайно динамічну роль глобулінів, які регулюють концентрацію глюкокортикоїдів під час гострого стресу [21, 25].

Нами виявлено вищі рівні глутатіону у крові курчат-бройлерів контрольної групи, що може бути проявом окиснювального стресу або гальмуванням транспорту амінокислот у клітини за рахунок зниження активності  $\gamma$ -глутамільного циклу.

На завершальній стадії відгодівлі птиці слід враховувати передзабійний стрес та застосовувати біологічно активні речовини природного походження, які сприятимуть зменшенню негативного впливу такого стресу на якість продукції.

#### Висновки.

1. Додаткове введення екстракту селезінки супроводжувалось підвищенням концентрації  $\gamma$ -глобулінів у плазмі крові курчат-бройлерів.

2. У плазмі крові курчат-бройлерів, які з кормом отримували екстракт селезінки, встановлено вірогідно нижчий рівень кортизолу порівняно з контролем, що може свідчити про зменшення стресу перед забоєм.

3. Екстракт селезінки сприяє зменшенню впливу стресу перед забоєм та підвищенню якості м'яса курчат-бройлерів.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому буде досліджено вплив екстракту селезінки на білкові фракції плазми крові свиней з метою підвищення природної резистентності та попередження передзабійного стресу.

#### Література

1. Азарова Т. О. Динамика стресс-ассоциированных гормонов и показателей антиоксидантной защиты у молодняка кросса «Шейвер белый» / Т. О. Азарова, Л. Л. Осипова, С. Ю. Зайцев [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2013. – № 1. – С. 25-29.
2. Байдевятлов А. Б. Методические рекомендации по профилактике стрессов в птицеводстве / А. Б. Байдевятлов, В. П. Николаенко, Л. А. Ольховик. – Харьков, 1979. – 13 с.
3. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич [та ін.]; За ред. В. В. Влізла. – Львів : Сполом, 2012. – 764 с.
4. 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.
5. Заводник І. Б. Изменения во времени параметров респираторной активности и системы антиоксидантной защиты митохондрий печени крыс при острой интоксикации и диабете. Кислород и свободные радикалы : материалы Республиканской научно-практической конференции / И. Б. Заводник, Е. А. Лапшина, В. Т. Черевик [и др.] // Под ред. В. В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 228 с.
6. Клімова О. Зміна співвідношення білкових фракцій сироватки крові у експериментальних тварин різного віку після імунізації цитотоксичною сироваткою хворих з аутоімунним захворюванням – маїстенією / О. Клімова, О. Звягінцева, А. Малишев // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2011. – Вип. 55. – С. 27-33.
7. Alberghina D. Changes in serum total proteins, protein fractions and albumin-globulin ratio during neonatal period in goat kids and their mothers after parturition / D. Alberghina, C. Giannetto, I. Vazzana [et al.] // Annals of Animal Science. – 2011. – Vol. 11(2). – P. 251-260.
8. Aoyama K. Regulation of neuronal glutathione synthesis / K. Aoyama, W. Masahiko, N. Toshio // Journal of pharmacological sciences. – 2008. – Vol. 108. 3. – P. 227-238.
9. Breuner C. W. Plasma binding globulins and acute stress response / C. W. Breuner, S. E. Lynn, G. E. Julian [et al.] // Hormones and Metabolic Research. – 2006. – Vol. 38. – P. 260-268.
10. Chowhan R. K. Polyamines in modulating protein aggregation / R. K. Chowhan, L. R. Singh // Journal of Proteins & Proteomics. – 2013. – Vol. 3(2). – P. 160-162.
11. Das S. K. Effects of long term ethanol consumption on cell death in liver / S. K. Das, S. Mukherjee, D. M. Vasudevan // Clin. Biochem. – 2011. – Vol. 26, № 13. – P. 84-87.
12. Dringen R., Hirrlinger J. Glutathione pathways in the brain / R. Dringen, J. Hirrlinger // Biol. Chem. – 2003. – Vol. 384. – P. 505-516.
13. Fokidis H. B. Corticosterone and corticosteroidbinding globulin in birds: relation to urbanization in a desert city / H. B. Fokidis, M. Orchinik, P. Deviche // General and Comparative Endocrinology. – 2009. – Vol. 160. – P. 259-270.
14. Kaneko J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In : Clinical biochemistry of domestic animals. 5th Ed. / J. J. Kaneko. - London, UK : Academic Press, 1997. – P. 117-138.
15. Keelan J. Quantitative imaging of glutathione in hippocampal neurons and glia in culture using monochlorobimane / J. Keelan, N. J. Allen, D. Antcliffe [et al.] // J. Neurosci. Res. – 2001. – Vol. 66(5). – P. 873-884.
16. Lynn S. E. The effects of short-term fasting on activity, corticosterone, and corticosterone binding globulin in migratory songbird, Gambel's white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) / S. E. Lynn, C. W. Breuner, J. C. Wingfield [et al.] // Hormones and Behavior. – 2003. – Vol. 43. – P. 150-157.

17. Maher P. The effects of stress and aging on glutathione metabolism / P. Maher // *Ageing research reviews*. – 2005. – Vol. 4.2. – P. 288.
18. Malisch J. L. How acute is the acute stress response? Baseline corticosterone and corticosteroid-binding globulin levels change 24h after an acute stressor in Japanese quail / J. L. Malisch, D. G. Satterlee, J. F. Cockrem [et al.] // *General and comparative endocrinology*. – 2010. – Vol. 165(2). – P. 345-350.
19. Marti O. Inhibition of corticosteroid-binding globulin caused by a severe stressor is apparently mediated by the adrenal but not by glucocorticoid receptors / O. Marti, M. Martin, A. Gavalda // *Endocrine*. – 1997. – Vol. 6. – P. 159-164.
20. Matti V. Interaction of polyamines with proteins of human plasma: a preferential aggregation of fibrinogen and fibronectin (cold insoluble globulin) / V. Matti, S. Eija, R. Pekka // *Biochimie*. – 1980. – Vol. 62. – P. 99-104.
21. Minni A. M. Critical role of plasma corticosteroid-binding-globulin during stress to promote glucocorticoid delivery to the brain: impact on memory retrieval / A. M. Minni, R. Dorey, C. Piñard [et al.] // *Endocrinology*. – 2012. – Vol. 153(10). – P. 4766-4774.
22. Navarro J. Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans / J. Navarro, E. Obrador, J. A. Pellicer [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1997. – Vol. 22(7). – P. 1203-1209.
23. Official Journal of the European Union L276/33. DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20. 10. 2010.
24. Poosuwan K. Long-term feeding effects of dietary protein levels on egg production, immunocompetence and plasma amino acids of laying hens in subtropical condition / K. Poosuwan, C. Bunchasak, C. Kaewtapee // *Journal of animal physiology and animal nutrition*. – 2010. – Vol. 94. 2. – P. 186-195.
25. Qian X. A rapid release of corticosteroid-binding globulin from the liver restrains the glucocorticoid hormone response to acute stress / X. Qian, S. K. Droste, M. Gutierrez-Mecinas [et al.] // *Endocrinology*. – 2011. – Vol. 152(10). – P. 3738-3748.
26. Reeder D. M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history / D. M. Reeder, K. M. Kramer // *J. Mammal*. – 2005. – Vol. 86. P. 225-235.
27. Ritchie R. Wellness assessment: Targeted testing for specific problems which are not the measurement of health / R. Ritchie // *Serum Proteins in Clinical Medicine*. Clinical Section. – Foundation for Blood Research. Publishers: Scarborough. – 1999. – Vol. II. – P. 120. 00-1-120. 00-9.
28. Rosa A. R. Altered plasma glutathione levels in bipolar disorder indicates higher oxidative stress; a possible risk factor for illness onset despite normal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels / A. R. Rosa, N. Singh, E. Whitaker [et al.] // *Psychological medicine*. – 2014. – P. 1-10. – Код доступу <http://www.psych.ox.ac.uk/publications/447561>.
29. Rossi R. Oxidized forms of glutathione in peripheral blood as biomarkers of oxidative stress / R. Rossi, I. Dalle-Donne, A. Milzani, D. Giustarini // *Clinical chemistry*. – 2006. – Vol. 52(7). – P. 1406-1414.
30. Sanandam M. R. Impact of endotoxin on physiological responses of rat exposed to textile environment / M. R. Sanandam // *International Journal of Pharmaceutical Applications*. – 2011. – Vol. 2. 3. – P. 155-158.
31. Sapolsky R. M. How do glucocorticoids influence stress responses? integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions / R. M. Sapolsky, L. M. Romero, A. U. Munck. – *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. 21. – P. 55-89.
32. Thrall M. A. Laboratory evaluation of plasma and serum proteins. In : *Veterinary hematology and clinical chemistry*. (Ed.) / M. A. Thrall. - Philadelphia, USA : Lippincott Williams and Wilkins, 2004. – P. 401-415.
33. Tinnikov A. A. Responses of serum corticosterone and corticosteroid-binding globulin to acute and prolonged stress in the rat / A. A. Tinnikov // *Endocrine*. – 1999. – Vol. 11. – P. 145-150.

УДК 636. 52/. 58:519. 11:612. 176

### **ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ВМІСТ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ, КОРТИЗОЛУ ТА ГЛУТАТІОНУ В КРОВІ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ**

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

**Резюме.** У статті представлені результати визначення вмісту протеїнових фракцій, кортизолу та глутатіону у крові курчат-бройлерів, яким додатково до корму згодовували біологічно активні речовини природного походження. У якості антистресорів та імуномодуляторів у передзабійний період були біологічно активні речовини з екстракту селезінки, отриманого із застосуванням та без використання ультразвуку. Аерозольне введення екстракту селезінки до корму збільшує концентрацію  $\gamma$ -глобулінів та вірогідно знижує рівень кортизолу у плазмі крові курчат-бройлерів порівняно з контролем, що може свідчити про зменшення стресу перед забоем. Встановлено вищий рівень глутатіону у крові курчат-бройлерів контрольної групи. Отримані нами результати можуть бути використані у дослідженнях показників клітинного імунітету і концентрації стресових гормонів, зокрема кортизолу, на сільськогосподарських тваринах з метою підвищення резистентності організму, корекції та нівелювання стресового стану тварин перед забоем та покращення якості продукції.

**Ключові слова:** курчата-бройлери, передзабійний стрес, екстракти селезінки, ультразвук, білкові фракції, кортизол, глутатіон.

УДК 636. 52/. 58:519. 11:612. 176

### **ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ, КОРТИЗОЛА ГЛУТАТИОНА В КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

**Грабовский С. С. , Грабовская А. С.**

**Резюме.** В статье представлены результаты определения содержания белковых фракций, кортизола и глутатіона в крови цыплят-бройлеров, которым дополнительно к корму добавляли биологически активные вещества естественного происхождения. В качестве антистрессоров и иммуномодуляторов

в передубойний період служили біологічно активні речовини з екстракту селезенки, отриманого з використанням і без застосування ультразвуку. Аерозольне введення екстракту селезенки до корму збільшує концентрацію  $\gamma$ -глобулінів і знижує рівень кортизолу в плазмі крові цыплят-бройлерів порівняно з контролем, що може свідчити про зниження стресу перед забоєм тварини. Встановлено вищий рівень глутатіону в крові цыплят-бройлерів контрольної групи. Отримані нами результати можуть бути використані в дослідженнях показателів клітинного імунітету і концентрації стресових гормонів, зокрема кортизолу, на сільськогосподарських тваринах з метою підвищення резистентності організму, корекції і нивелювання стресового стану тварин перед забоєм і покращення якості продукції.

**Ключові слова:** цыплята-бройлери, передубойний стрес, екстракти селезенки, ультразвук, білкові фракції, кортизол, глутатіон.

UDC 636. 52/. 58:519. 11:612. 176

### **Natural Origin Immunomodulators Influence on Protein Fractions, Cortisol and Glutathione Content in Broiler Chickens Blood under Stress**

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

**Abstract.** The results of determination of protein fractions, cortisol and glutathione content in blood of broiler chickens, which further added to the feed of natural origin biologically active substances are presented in the article.

As an antistressors and immunomodulators in pre-slaughter period are using of spleen extract biologically active substances were obtained with and without ultrasound application.

The purpose of research – determination of changes of protein fractions, cortisol and glutathione content in broiler chickens blood before slaughter and their correction of natural origin biologically active substances (spleen extract).

Object and research methods. The experiment was conducted on 15 broiler chickens with standard diet.

Three groups of broiler chickens one month of age (5 chickens each) was formed for research.

The spleen extract was obtained with (I research group) and without ultrasound application (II research group), were using as an biologically active substances to the feed broiler chickens in pre-slaughter period (five days before slaughter).

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

The control group chickens (group III) received to the feed in the same way of 70 ° alcohol solution in the same volume.

The feed eating by broiler chickens was exercised daily. The broiler chickens ate food completely. The broiler chickens slaughter was carried out in the morning.

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

Cortisol level were determined in broiler chickens blood plasma. Glutathione concentration were determined in broiler chickens blood.

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

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

As a result of research was found that aerosol introduction of the spleen extract to the broiler chickens feed increases the  $\gamma$ -globulin concentration in broiler chickens blood plasma of the two experimental groups compared to the control.

Cortisol level in broiler chickens (which further added to the feed of spleen extract obtained with ultrasound application (I research group) blood plasma was reliable lower ( $P < 0.05$ ) compared to control, that may to indicate decreasing of stress before slaughter.

The free cortisol level decreasing in broiler chickens blood plasma, perhaps, is associated with increasing of globulin fraction content.

The glutathione level was found reliable higher ( $P < 0.05$ ) in the broiler chickens blood of the control group.

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

The results which obtained can to use in researches of cell immunity indices and stress hormones, such as cortisol, on farm animals for organism resistance increasing, correction and avoid their pre-slaughter stress and improve product quality.

**Keywords:** broiler chickens, pre-slaughter stress, spleen extract, ultrasound, protein fractions, cortisol, glutathione.

*Рецензент – проф. Дубінін С. І.*

*Стаття надійшла 25. 07. 2014 р.*