

УДК 612.176:599.735.51

НЕСПЕЦИФІЧНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА ВМІСТ ОКРЕМИХ ГОРМОНІВ У КРОВІ БУГАЙЦІВ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ ПЕРЕДЗАБІЙНОГО СТРЕСУ

О. С. Грабовська¹, С. С. Грабовський²

¹Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38; Львів,
79034, Україна, alice_grb@ukr.net

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, Львів, 79010, Україна, grbss@ukr.net

У статті представлені дані про окремі показники неспецифічної резистентності організму та концентрацію деяких гормонів у крові бугайців при застосуванні імуномодуляторів природного походження за умов передзабійного стресу. Антистресорами та імуномодуляторами у передзабійний період слугували біологічно активні речовини екстракту селезінки — поліаміни. Бугайцям дослідної групи за п'ять діб до забою до корму вносили екстракт селезінки аерозольним методом. Бичкам контрольної групи за п'ять діб до забою таким же чином додавали до корму 70 ° розчин етанолу в аналогічному об'ємі. У крові бугайців, які з кормом отримували екстракт селезінки (дослідна група), після транспортування перед забоєм, встановлено вірогідно нижчий рівень адренотропічного гормону (АКТГ), кортизолу та альдостерону порівняно з контролем, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм. Встановлено зростання фагоцитарної активності нейтрофілних гранулоцитів крові у бугайців дослідної групи порівняно з контролем як до — на 7 % ($P < 0,01$), так і після транспортування, перед забоєм — на 9 % ($P < 0,05$) відповідно. Як імуномодулятори та анти стресори, поліаміни з екстракту селезінки мали найбільший вплив на вміст окремих гормонів та деякі показники неспецифічної резистентності у крові бугайців після транспортування, перед їх забоєм.

Отримані результати можуть бути використані в дослідженнях показників клітинного імунітету, неспецифічної резистентності та концентрації стресових гормонів і, зокрема кортизолу, у сільськогосподарських тварин та птиці з метою підвищення резистентності організму, корекції та нівелювання стресового стану тварин перед забоєм і, як наслідок, поліпшення якості продукції, отриманої від них.

Ключові слова: НЕСПЕЦИФІЧНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ, ГОРМОНИ, БУГАЙЦІ, ЕКСТРАКТ СЕЛЕЗІНКИ, ПЕРЕДЗАБІЙНИЙ СТРЕС

NONSPECIFIC RESISTANCE AND SOME HORMONES CONTENT IN BULLS BLOOD UNDER PRE-SLAUGHTER STRESS CORRECTION

O. S. Grabovska¹, S. S. Grabovskyi²

¹Institute of Animal Biology NAAS, V. Stus str., 38, Lviv,
79034, Ukraine, alice_grb@ukr.net

²Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named
after S. Z. Gzhytskyj, Pekarska str., 50, Lviv, 79010, Ukraine, grbss@ukr.net

The data about content some nonspecific body resistance indices and certain hormones in bull blood after using of animal natural origin immunomodulators at pre-slaughter stress are presented in the article.

Spleen extract biologically active substances polyamines were as the immunomodulators and antistressors at pre-slaughter stress. The spleen extract (70°alcohol solution in volume 0.7 ml/kg) were added to the diet of bulls of experimental group by aerosol method. The 70°alcohol solution in the same volume and the same method were added to the diet of control group bulls five days before slaughter. Adrenocorticotrophic hormone, cortisol and aldosterone level in blood of bulls which received food with

spleen extract (experimental group) were reliable lower after transportation compared to control group bulls that caused decreasing pre-slaughter stress.

Phagocytic activity of blood neutrophils were increased in the experimental group bulls blood compared with controls both, before — by 7 % ($P<0.01$) as well as after transportation before slaughter — by 9 % ($P<0.05$), respectively were established. Spleen extract polyamines as the immunomodulators and antistressors most effectively influenced on certain hormones content and some nonspecific body resistance indices in bulls blood after transportation before slaughter.

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

Keywords: NONSPECIFIC RESISTANCE, HORMONES, BULLS, SPLEEN EXTRACT, PRE-SLAUGHTER STRESS

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ БЫЧКОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ПРЕДУБОЙНОГО СТРЕССА

А. С. Грабовская¹, С. С. Грабовский²

¹Институт биологии животных НААН, ул. В. Стуса, 38, Львов, 79034, Украина, alice_grb@ukr.net

²Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого, ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина, grbss@ukr.net

В статье представлены данные об отдельных показателях неспецифической резистентности организма и содержании некоторых гормонов в крови бычков с применением иммуномодуляторов естественного происхождения в условиях предубойного стресса. В качестве антистрессоров и иммуномодуляторов в предубойный период использовали полиамины — биологически активные вещества из экстракта селезенки. За пять дней до убоя бычкам опытной группы аэрозольным методом в корм вводили экстракт селезенки. Бычкам контрольной группы за пять дней до убоя таким же образом давали в корм 70 ° раствор этанола в аналогичном объеме. В крови бычков, которые с кормом получали экстракт селезенки (опытная группа), после транспортировки, перед убоем, установлена достоверно меньшая концентрация адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола и альдостерона по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об уменьшении стресса перед убоем. Установлено увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов крови у бычков опытной группы в сравнении с контролем как до — на 7 % ($P<0,01$), так и после транспортировки, перед убоем — на 9 % ($P<0,05$) соответственно. В качестве иммуномодуляторов и антистрессоров, полиамины из экстракта селезенки проявили наибольшее влияние на содержание отдельных гормонов и некоторых показателей неспецифической резистентности в крови бычков после транспортировки, перед убоем.

Полученные результаты могут быть использованы в исследованиях отдельных показателей клеточного иммунитета, неспецифической резистентности и концентрации стрессовых гормонов и, в частности кортизола, у сельскохозяйственных животных и птицы с целью повышения резистентности организма, коррекции и нивелирования стрессового состояния животных перед убоем и улучшения качества их продукции.

Ключевые слова: НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ, ГОРМОНЫ, БЫЧКИ, ЭКСТРАКТ СЕЛЕЗЕНКИ, ПРЕДУБОЙНЫЙ СТРЕСС

Завантажування у транспортний засіб, скупчення, змішування тварин різних груп, відсутність корму, незвичні звуки і шум, поштовхи під час перевезення, а також тривалість транспортування,

метеорологічні чинники створюють стресову ситуацію, яка може ще більше посилити стресовий стан тварин після прибуття на м'ясокомбінат. Збудження та передзабійний стрес у тварин і, бугайців

зокрема може призвести до травматизму, а також до змін метаболізму, що впливає на якість отриманої від них продукції і супроводжується втратою продуктивності, а нерідко й до загибелі тварин. При забезпеченні населення м'ясом основна увага зосереджена на інтенсифікації виробництва, впровадженні сучасних технологій вирощування, організації повноцінної годівлі і створенні оптимальних умов утримання великої рогатої худоби, скороченні втрат м'ясної продукції у процесі її виробництва, реалізації та зберігання [1–4]. У цьому технологічному процесі найуразливішим є передзабійний стрес, а застосування антидепресантів гормональної природи недопустиме, оскільки вони негативно впливають на якість тваринницької продукції, а згодом і на здоров'я людей, які споживають її.

Приблизно 30 років тому у ветеринарній практиці почали використовувати імуномодулятори (ІМД) для підтримки імунної системи. Іноді властивості ІМД незаслужено приписують звичайним білково-вітамінним сумішам або, наприклад, гуміновим кислотам, яким властива антиоксидантна активність. ІМД — це група препаратів, які безпосередньо впливають на певні ланки імунної системи, здатні позитивно або негативно модулювати імунореактивність організму і підвищувати його резистентність. Зміна імунореактивності у відповідь на введення ІМД залежить від багатьох чинників: хімічної структури ІМД, дози, способу і схеми введення, стану організму тощо. Практично будь-який ІМД має гранично допустиму дозу, перевищивши яку, можна, замість очікуваної стимуляції імунної відповіді, отримати імуносупресію. Слід надавати перевагу ІМД природного походження (із залоз внутрішньої секреції, дріжджів, бактерійних клітин, рослин), які, як правило, не дають побічних ефектів. По-перше, екзогенний ІМД після введення в організм здатний подавити синтез ендогенного ІМД за принципом механізму

зворотного зв'язку і викликати дисбаланс у системі стимулювання продукції інтерферону (ІФН). По-друге, рекомбінантні ІФН антигени швидко інактивуються. Навпаки, індуктори ІФН стимулюють синтез ендогенного ІФН, а також, у більшості випадків, запускають синтез і продукцію інших цитокінів, і активніше впливають на В-, ніж на Т-клітини [5]. Показаннями для застосування ІМД є будь-яка імунологічна недостатність, викликана стресом, інфекцією, медикаментозною терапією [6] тощо.

Однією з центральних ланок в ендокринній системі організму є надниркові залози, основними гормонами кори яких є глюкокортикоїди, зокрема кортизол. Кортизол задіяний у метаболічних процесах, процесах адаптації організму, він стимулює накопичення ліпідів в жирових депо і у внутрішніх органах. Разом з альдостероном кортизол діє на мінеральний обмін в організмі, впливає на виведення Натрію і Фосфору через нирки. Надмірне збільшення концентрації кортизолу в крові сільськогосподарських тварин може вказувати на стрес, який зазнають тварини [3, 4]. Зокрема, у поросят після відлучення від свиноматки розвивається стресовий синдром, доказом чого є підвищення рівня глюкокортикоїдів у крові [7]. У ряді досліджень показано, що у жуйних тварин концентрація кортизолу у плазмі значно вища, ніж у слині [8, 9].

Відомо, що альдостерон синтезується з холестеролу в мітохондріях клітинами клубочкової зони кори надниркових залоз. При його синтезі ключову роль відіграє ензим альдостерон-синтаза [10]. Експериментальні дослідження показали, що окрім кори надниркових залоз, синтез альдостерону може здійснюватися і на локальному рівні — в ендотеліальних клітинах і гладеньких м'язах кровоносних судин, головному мозку і міокарді. Концентрація альдостерону у плазмі крові непостійна і змінюється впродовж дня: максимальний рівень спостерігається у ранішні години

($8^{00}-9^{00}$), знижується вдень (14^{00}) і стає мінімальним увечері (21^{00}) [11].

Метою роботи було дослідити деякі показники неспецифічної резистентності (фагоцитарну активність нейтрофілів) та концентрацію окремих гормонів (АКТГ, кортизолу, альдостерону) у крові бугайців за умов корекції передзабійного стресу біологічно активними речовинами з екстракту селезінки.

Матеріали і методи

Дослід провели на бичках 12-місячного віку української чорно-рябої молочної породи, яких утримували на стандартному раціоні піддослідного господарства смт Комарно Городоцького району Львівської області.

Біологічно активні речовини (поліаміни) з екстракту селезінки слугували антистресорами та імуномодуляторами у передзабійний період (за п'ять діб до забою). Екстракт наносили на комбікорм аерозольним методом (70° спиртовий розчин об'ємом 0,7 мл/кг). Тваринам контрольної групи таким же способом додавали до корму 70° розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Контроль за поїданням комбікорму здійснювали щоденно. Бугайці корм поїдали повністю. Забій тварин проводили в обідній час. Дослід тривав п'ять діб. Забір крові у бичків з яремної вени проводили перед постановкою на дослід, до транспортування та перед забоєм після транспортування.

У цільній крові, стабілізованій гепарином, визначали: фагоцитарну активність нейтрофілів, а також

вираховували фагоцитарне число (ФЧ) та індекс (ФІ), у плазмі крові — концентрацію АКТГ, кортизолу і альдостерону [12].

Математичну обробку результатів досліджень опрацьовували статистично за допомогою пакету програм Statistica 6.0 і Microsoft Excel for Windows XP. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стюдента.

Результати й обговорення

З даних, наведених у таблиці 1 видно, що після транспортування та перед забоєм, у бугайців контрольної групи порівняно з дослідною концентрація АКТГ збільшилася майже вдвічі — на 45 % ($P<0,05$). Отже, можна припустити, що застосування екстракту селезінки бугайцям дослідної групи нівелювало передзабійний стрес у тварин.

У плазмі крові бугайців, які з кормом отримували екстракт селезінки (дослідна група), рівень кортизолу був вірогідно нижчим на 31 % ($P<0,05$) порівняно з контролем, що може вказувати на зменшення стресу після транспортування та перед забоєм (табл. 1).

Незважаючи на те, що рівень альдостерону за класичною схемою мав би знизитись [11], після транспортування, перед забоєм він значно зріс у плазмі крові бугайців контрольної групи порівняно з дослідною — на 34 % ($P<0,05$) (табл. 1), що може вказувати на значний стрес у перших. За умов ведення екстракту селезінки до корму бугайців дослідної групи прояви стресу вдалося дещо зменшити.

Таблиця 1

Концентрація гормонів у плазмі крові бугайців у передзабійний період, % ($M \pm m$, $n=5$)

Групи	Показники		
	Перед постановкою на дослід		
	АКТГ, пг/мл	Кортизол, нмоль/л	Альдостерон, пг/мл
Дослідна	$6,3 \pm 1,42$	$23,3 \pm 3,67$	$525,7 \pm 76,83$
Контрольна	$6,7 \pm 1,22$	$28,7 \pm 1,10$	$546,3 \pm 78,53$
До транспортування			
Дослідна	$7,1 \pm 1,45$	$28,8 \pm 2,27$	$1136,8 \pm 85,1$
Контрольна	$9,0 \pm 1,84$	$29,9 \pm 2,14$	$1321,9 \pm 137,6$
Після транспортування — перед забоєм			
Дослідна	$7,4 \pm 1,0^*$	$55,6 \pm 7,14^*$	$1149,1 \pm 103,2^*$
Контрольна	$13,6 \pm 1,77$	$80,3 \pm 3,93$	$1733,7 \pm 179,6$

Примітка: статистично вірогідні різниці: * — $P<0,05$ порівняно з контролем

Слід відмітити, що концентрація АКТГ перед постановкою на дослід (підготовчий період) була вірогідно меншою від рівня гормону до транспортування — 6,71 та 9,01 пг/мл ($P \leq 0,01$) відповідно. Оскільки

кров для досліджень брали в один і той же час, то можна припустити, що бугайці контрольної групи мали більший стрес перед забоєм порівняно з бугайцями дослідної групи, яким до корму вносили екстракт селезінки (рис.).

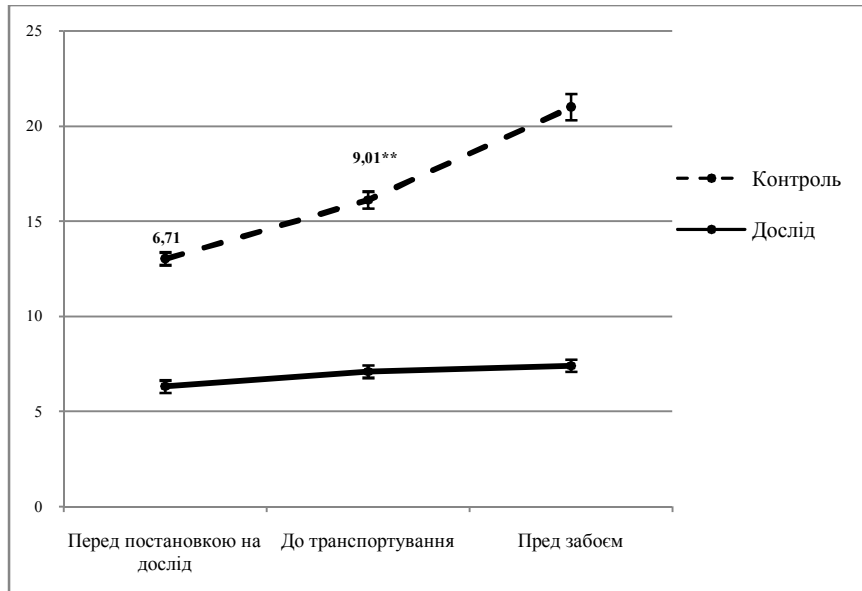


Рис. Рівень АКТГ у крові бугайців в підготовчий та передзабійний періоди, пг/мл ($M \pm m$, $n=5$)
Примітка: статистично вірогідні різниці: ** — $P < 0,01$ (порівняно з початком дослід)

Відомо, що неспецифічна резистентність тварин забезпечується комплексом показників, які доповнюють один одного, одним з яких є морфологічний склад крові, котрий характеризує загальний стан організму, а лейкоцити відіграють важливу роль в захисних і відновлювальних процесах організму. Основні функції лейкоцитів: фагоцитоз, продукування антитіл, руйнування і виведення токсинів білкового походження. Одним із показників неспецифічної резистентності, які характеризують систему клітинного імунітету тварин, є фагоцитарна активність нейтрофілів крові, тобто процес активного поглинання клітинами організму патогенів із наступним перетравленням їх за допомогою внутрішньоклітинних ензимів. Найважливішу роль у процесі фагоцитозу виконують макрофаги, нейтрофільні гранулоцити та моноцити [13].

Аналізуючи показники неспецифічної резистентності організму бугайців, можна відмітити зростання фагоцитарної активності крові у тварин дослідної групи порівняно з контролем (табл. 2) як до, так і після транспортування — на 7 % ($P < 0,01$) та на 9 % ($P < 0,05$), відповідно. Підвищення фагоцитарної активності у крові бугайців дослідної групи можна пояснити вірогідним збільшенням кількості сегментоядерних нейтрофілів порівняно з контролем, оскільки процес фагоцитозу в основному відбувається за рахунок сегментоядерних нейтрофілів.

Після транспортування та перед забоєм встановлено вірогідне зростання фагоцитарної активності, фагоцитарного індексу на 7 % ($P < 0,01$) та фагоцитарного числа — на 9 % ($P < 0,05$) у бугайців дослідної групи, котрим до корму вносили екстракт селезінки, порівняно з контролем.

Таблиця 2

Фагоцитарна активність нейтрофілів крові бугайців у передзабійний період, % ($M \pm m$, $n=5$)

Групи	Показники		
	<i>Перед постановкою на дослід</i>		
	Фагоцитарна активність крові, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Контрольна	$49,8 \pm 3,96$	$8,06 \pm 0,85$	$4,04 \pm 0,71$
Дослідна	$49,2 \pm 3,7$	$8,13 \pm 0,88$	$4,02 \pm 0,66$
	<i>До транспортування</i>		
Контрольна	$44,6 \pm 2,19$	$7,374 \pm 0,65$	$3,26 \pm 0,45$
Дослідна	$47,8 \pm 2,17^{**}$	$8,212 \pm 0,82$	$3,94 \pm 0,55$
	<i>Після транспортування — перед забоєм</i>		
Контрольна	$48,8 \pm 0,83$	$7,756 \pm 0,13$	$3,94 \pm 0,06$
Дослідна	$53,8 \pm 1,64^*$	$8,35 \pm 0,44^{**}$	$4,317 \pm 0,24^*$

Примітка: статистично вірогідні різниці: * — $P \leq 0,05$, ** — $P \leq 0,01$ порівняно до контролю

Наші дані співпадають з дослідженнями авторів [14], які використовували мікроелементний премікс, що містить Селен, Йод, Цинк, Кобальт. Цей комплекс підвищував загальну природну резистентність організму, тим самим мав позитивний вплив на кількісні і якісні показники м'яса тварин. За умов стресу в досліджуваних тварин виникав стан напруги імунного статусу, особливо у бугайців контрольної групи, який починається перед транспортуванням і зберігається до початку забою, як і в дослідженнях [15], де при хірургічному втручанні спостерігали зниження неспецифічної резистентності організму.

Таким чином, отримані результати дослідження вказують на те, що біологічно активні речовини (поліаміни) екстракту селезінки, при їх додаванні до корму бугайців дослідної групи, підвищують резистентність організму, нівелюють вплив стресу перед забоєм.

Висновки

1. Застосування екстракту селезінки нівелює передзабійний стрес: після транспортування, перед забоєм у бугайців дослідної групи концентрація АКТГ зменшується майже вдвічі ($P < 0,05$), рівень кортизолу знижується на 31 % ($P < 0,05$), альдостерону — на 34 % ($P < 0,05$).

2. Застосування біологічно активних речовин екстракту селезінки перед забоєм тварин підвищує резистентність їх організму: у бугайців зростає фагоцитарна активність крові як до, так і після транспортування — на 7 % ($P < 0,01$) та на 9 % ($P < 0,05$), відповідно. Після транспортування, перед забоєм збільшується фагоцитарний індекс — на 7 % ($P \leq 0,01$) та фагоцитарне число — на 10 % ($P \leq 0,05$) у бичків за введення до раціону екстракту селезінки.

Перспективи подальших досліджень. Для більш повної характеристики метаболічних процесів у крові бугайців за умов передзабійного стресу буде досліджено вплив біологічно активних речовин екстракту селезінки на фракції білків плазми.

1. Semenova I. A. The effectiveness of new drugs to reduce productivity losses of calves under stress syndromes [Tekst] : thesis ... biol. sciences. Semenova Iraida Aleksandrovna. Volgograd, 2004, 110 p. (In Russian).

2. Levahin V. I., Belomytcev E. S., Ljapin O. A. Prevention of transport and pre-slaughter stress in young cattle beef. Cattle breeding — intensive development. Orenburg, 1988, 5 p. (In Russian).

3. Palme R., Robia C., Baumgartner W., Möstl E. Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolite

concentrations. *Veterinary Record.*, 2000, v. 146, № 4, P. 108–109.

4. Bristow D. J., Holmes D. S. Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. *Physiol. Behav.*, 2007, v. 90, № 4, P. 626–628.

5. Sanin A. V., Narovljanskij A. N., Ozherelkov S. V., Pronin A. V., Sanina V. Ju. Immunomodulators in veterinary practice — application and contradictions. Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya RAMS, Moscow, 2011. <http://www.gama-market.ru> (in Russian).

6. Sanin A. V., Zajceva L. G., Kireeva I. V., Berezina L. K., Sanina V. Ju., Pronin A. V., Narovljanskij A. N. Gamavit — antidote therapy for oxidative stress. *Veterinary Doctor*, 2008, № 6, P. 7–8 (in Russian).

7. Chumachenko V. Yu., Chumachenko V. V., Pavlenko O. I. The study of the immune system. Factors affecting the resistance of animals. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 2004, № 5, P. 33–37 (in Ukrainian).

8. Negrao J. A., Porcionato M. A., de Passille A. M., Rushen J. Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking. *J Dairy Sci.*, 2004, v. 87, P. 1713–1718. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73324-X.

9. Hernandez C. E., Thierfelder T., Svennersten-Sjaunja K., Berg C., Orihuela A., Lidfors L. Time lag between peak concentrations of plasma and salivary cortisol following a stressful procedure in dairy cattle. *Acta Vet Scand.*, 2014, v. 56, № 1, P. 61. doi: 10.1186/s13028-014-0061-3.

10. Zennaro M. C., Rickard A. J., Boulkroun S. Genetics of mineralocorticoid excess: an update for clinicians. *Eur. J. Endocrinol.*, 2013, v. 169, № 1, P. 15–25. doi: 10.1530/EJE-12-0813.

11. Slavnov V. N., Savickij S. Ju., Stroganova N. P. Renin-angiotensin-aldosterone system in patients with hypertension and endocrine hypertension. *Ukr. cardiology J.*, 2013, № 4, P. 111–116 (in Russian).

12. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. [et al.] *Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary* : Reference book ; Edited by V. V. Vlizlo. Lviv : SPOLOM, 2012, 764 p. (In Ukrainian).

13. Maslyanko R. P., Grabovskyi S. S., Grabovska O. S. Modern notion of phagocytosis. *The Animal Biology*, 2013, v. 15, № 3, P. 63–69 (in Ukrainian).

14. Belaja O. A., Kogut L. N., Mishanin Ju. F. The dependence of the natural resistance of the level of micronutrients in the diet of animals. Modern problems of quality and food safety in the light of the requirements of technical regulations of the Customs Union: collection of materials of the international scientific and practical Internet-conference on March 26, 2014, Krasnodar: publishing house. KubSTU, 2014, P. 48. (In Russian).

15. Gimranov V. V., Jusupov I. Z. Biochemical parameters of blood in the wound process in cattle. Actual problems of veterinary surgery. 2011, P. 43–50. http://www.cnsnb.ru/jour/j_as.asp?id=116259 (in Russian).