МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С. З. ҐЖИЦЬКОГО

На правах рукопису

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

Дисертація на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Науковий консультант:
КИРИЛІВ Ярослав Іванович
доктор сільськогосподарських наук,
професор, член-кореспондент НААН

Львів — 2016

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ…….4
ВСТУП……..6
1. РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ……13
1.1 Біохімія стресу та його вплив на метаболізм…….……..…13
1.2 Вплив стрес-факторів на біохімічний та імунологічний статус організму тварин ……..…….24
1.2.1 Роль поліамінів у метаболізмі ЦНС та гормонів кори надниркових залоз в адаптації організму тварин до дії стрес-факторів……..24
1.2.2 Фагоцитоз — як чинник імунного статусу організму……..35
1.2.3 Вплив стресу на імунологічні показники домашніх тварин …….…42
1.3 Біогенні стимулятори метаболізму та їх використання……..……46
1.3.1 Засоби попередження негативного впливу передзабійного стану на організм тварин……...…46
1.4 Біологічна роль поліамінів у регуляції стресових реакцій організму та їх вплив на біохімічний та імунологічний статус тварин...……..54
1.4.1 Хімічна будова, функції поліамінів……...54
1.4.2 Метаболізм поліамінів та їх перетворення у шлунково-кишковому тракті…….....62
1.4.3 Молекулярні механізми участі поліамінів у загибелі клітин апоптозом….……68
1.4.4 Висновки з огляду літератури та вибір напрямів досліджень..……...…70
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ……..72
2.1 Схема досліджень……...72
2.2 Матеріал, який використовували для досліджень……..……74
2.3 Показники, які визначали в дослідженнях……...78
2.3.1 Хромато-мас-спектрометричний аналіз препарату селезінки свині……..78

2.3.2 Вміст поліамінів у біологічному матеріалі……..…….....…….78
2.3.3 Вміст гормонів…….....80
2.3.4 Визначення імунологічних показників…….....83
2.3.5 Дослідження протеїнових фракцій крові……..86
2.3.6 Фракційний склад ліпідів……..……86
2.3.7 Газорідинна хроматографія для визначення кількості
та форм високомолекулярних жирних кислот ..……...……..87
2.3.8 Активність ензимів……..87
2.3.9 Гістологічні та морфометричні дослідження……89
2.3.10 Використання ультразвукової установки для одержання
біологічно активних речовин…….....91
2.3.11 Методи статистичного аналізу……...……..92
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ…...……93
3.1 Біохімічні та гематологічні показники у лабораторних
та домашніх тварин за умов стресу перед забоєм…….....93
3.2 Одержання біологічно активних речовин із селезінки свині
з використанням ультразвуку…….……..……99
3.3 Вплив передзабійного стресу на біохімічні показники лабораторних тварин
за умов використання препарату селезінки та в залежності від статі……..…..105
3.4 Дослідження впливу біологічно активних речовин на показники клітинного
метаболізму, імунної системи та морфометричні характеристики органів
лабораторних тварин за умов стресу перед забоєм..…….…….....115
3.5 Дослідження впливу прапарату селезінки на біохімічний та імунологічний
профіль крові кроликів перед забоєм……159
3.6 Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки
на біохімічний та імунологічний профіль крові кнурців перед забоє……...169
3.7. Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на
біохімічний та імунологічний профіль крові бугайців перед забоєм……183
3.8 Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на
біохімічний та імунологічний профіль курчат-бройлерів

за умов стресу перед забоєм……..…….200
3.9 Показники природної резистентності у людей за умов споживання м’яса курчат-бройлерів до і після корекції передзабійного стресу……228

РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....233
ВИСНОВКИ…….274
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ…….278
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……...279
ДОДАТКИ……...…….……...361

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АК — амінокислоти

АКТГ — адренокортикотропний гормон;

АлАТ, АЛТ — аланінамінотрансфераза;

АсАТ, АСТ— аспартатамінотрансфераза;

АФО — активні форми Оксигену;

ВРО — вільнорадикальне окиснення;

ВЖК — високомолекулярні жирні кислоти;

ГАМК — γ-аміномасляна кислота;

NMDA-рецептори — іонотропний рецептор глутамату;

AMPA-рецептори — рецептор α-аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти;

ГАМК-рецептори — рецептори гамма-аміномасляної кислоти;

ГМО — генетично модифіковані організми;

ДАГ — диацилгліцерол;

ДНК — дезоксирибонуклеїнова кислота;

мРНК — матрична рибонуклеїнова кислота;

ІЛ — інтерлейкіни;

ІМД — імуномодулятори;

ІМС — імуностимулятори;

ІФН — інтерферон;

КРГ — кортикотропін-рилізінг-гормон;

МФ — макрофаги;

НАДФ — нікотинаміддинуклеотидфосфат;

НГ — нейтрофільні гранулоцити;

НСТ — нітросиній тетразолій;

НСТ-тест — тест з нітросинім тетразолієм;

НЕЖК — неетерифіковані жирні кислоти;

ОДК, (КФ 4.1.1.17) — орнітин декарбоксилаза;

ПАР — поверхнево активні речовини;

ПК — природні кілери;

ПЛР — полімеразна ланцюгова реакція;

П.п. — процентний пункт;

ПСВ — поліамінна стрес-відповідь;

РНК — рибонуклеїнова кислота;

цАМФ — циклічна аденозинмонофосфатна кислота;

ЦК — цитокініни;

ЦНС — центральна нервова система;

AZ — протеїн антизим;

Hb — гемоглобін;

Kd — кадаверин;

Put — путресцин;

Spd — спермідин;

Spm — спермін.

ВСТУП

Актуальність теми. Впродовж свого життя людина зазнає впливу екологічних чинників, способу життя та харчування, сфери діяльності, фізичних та психологічних навантажень тощо. Визначаючи якісні характеристики їжі, на перше місце прийнято ставити її калорійність, смакові характеристики, вміст макро- і мікронутрієнтів, неаліментарних сполук, наявність ГМО, консервантів, барвників та ін. Разом з тим недостатньо вивчені наслідки споживання людиною продуктів від тварин, які зазнали стресу перед забоєм.

Вперше описав вади м'яса, одержаного від тварин (свиней) за умов стресу, американський вчений Briskey E. J. [1], який м'ясо від них назвав PSE-свинина (за першими літерами англійських слів: pale — «бліде», soft — «м'яке», exudative — «водянисте»). DFD-м'ясо (dark — «темне», firm «щільне», dry — «сухе»). У стані тривоги у тварини виділяється адреналін, дія якого призводить до збільшення вмісту молочної кислоти у м'язах. Недостатність аденозинтрифосфату і креатинінфосфату прискорює втрату еластичності м'язових волокон і викликає передчасне їх заклякання [2]. У тварин, які незадовго до забою, наприклад, під час транспортування, зазнавали фізичного і психологічного навантаження, порушуються обмінні процеси у м'язах перед та після забою [3,4,5,6]. Деякі дослідники, зокрема Schaefer L. вважає, що одним із аспектів прижиттєвого стресу, який може вплинути на якість м'яса, є випромінювання твариною тепла; а за активації гіпоталамо-гіпозарно-надниркової ланки та підвищення рівня катаболічних процесів, пов'язаних із стресом перед забоєм, продукування тепла значно зростає [7].

Наведені дані вказують на необхідність глибокого вивчення причин виникнення і розвитку стресу, розроблення методів діагностики і заходів запобігання його негативному впливу. Виникає також питання, як можна запобігти негативним наслідкам стресу за умов промислового ведення

тваринництва? Наявні дані доводять, що шкідливий вплив стресових чинників можна усунути різними методами: селекційними, технологічними та фармакологічними. Найуразливішим у технологічному процесі виробництва тваринної продукції є передзабійний період.

Дисертаційна робота була скерована на дослідження метаболічних процесів у тварин за умов передзабійного стану, створення препарату природного походження, що містить біологічно активні речовини, з метою нівелювання стресу тварин перед забоєм, встановлення впливу споживання тваринної продукції на деякі показники клітинного імунітету людей.

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, що 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 адренокортикотропного 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 самок 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-Österriech Landwirtschaft: Wissenschaft und

Praxis. Tschernivci, 2000; I-st Polish-Ukrainian Scientific Conference ANIMAL SCIENCES IN THE XXI CENTURY, Krakow, 2001; IV Симпозіум «Австрія – Україна. Сільське господарство: наука та практика», 2002 р., Гумпенштайн / Раумберг — Штирія, Австрія; EU-Osterweiterung — Chancen fűr die Wirtschaft Thűringens (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.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

«Medicamentum tuum tibi nutrimentum sit,
nutrimentum que tuum tibi medicamentum»
(Hippocrates)

1.1 Біохімія стресу та його вплив на метаболізм

Термін «стрес» має давню історію і походить, очевидно, від латинського *stringere* — затягувати. Вперше це слово вжив англійський поет Роберт Маннінг на сторінках своєї праці «Handlying Synne» десь у 1303 р [8]. Слова «страждання» (*distress*) та «напруження» (*strain*) часто використовуються в асоціації зі словом стрес.

4 липня 1936 р. канадський вчений-дослідник Ганс Сельє вперше висунув ідею стресу в маленькому повідомленні, яке було опубліковане на сторінках журналу «Nature» під назвою «Синдром, що викликається різними ушкоджувальними агентами», що стало початком створення концепції стресу. Термін «*stress*», що у перекладі з англійської мови означає тиск, натиск, напруга, вперше застосований в медицині Г. Сельє [9].

Великий французький вчений Клод Бернар в другій половині XIX століття — задовго до появи робіт Г. Сельє — вперше вказав на те, що внутрішнє середовище живого організму повинне зберігати постійність за будь-яких коливань зовнішнього середовища. Через 50 років американський фізіолог Кеннон ввів термін «гомеостаз», і звернув увагу, що за умов голоду, страху, люті, дії больових подразників посилюється дихання, частішає серцебиття, підвищується артеріальний тиск, збільшується насичення крові Оксигеном [8].

Вивчаючи механізми стресу, Г. Сельє виявив роль гормонів у стресових реакціях і, тим самим, встановив їх участь в неендокринних захворюваннях. Зміни внутрішніх органів, викликані ін’єкцією витяжки із залоз, аналогічні

змінам, які спостерігали за умов інфекцій, травм, кровотеч, нервового збудження, за дії холоду і жари. Г. Сельє у 1936 р. вперше описав «синдром, що викликається різними шкідливими агентами», який згодом здобув популярність як загальний адаптаційний синдром або синдром біологічного стресу. Розвиток стресу у часі Г. Сельє розділив на три стадії: 1) реакція тривоги; 2) стадія резистентності; 3) стадія виснаження. Для реакції тривоги характерне зменшення розмірів тимуса, селезінки і лімфатичних вузлів, кількості жирової тканини, поява виразок шлунка, кишечнику і зокрема, 12-палої кишки, зникнення еозинофілів у крові і гранул ліпідів у надниркових залозах. Під впливом надзвичайно сильних агресорів організм може загинути вже на стадії тривоги. Якщо адаптаційні здатності організму протидіють впливу стресора, то настає стадія резистентності, яка характеризується практично повним зникненням ознак реакції тривоги; рівень опірності організму значно вищий від звичайного. Якщо стресовий чинник є сильним або ж діє тривалий час, розвивається стадія виснаження. Знову з’являються ознаки реакції тривоги, але тепер ці зміни незворотні, що призводить до загибелі організму [9].

В експериментах на лабораторних тваринах спостерігали, що здатність організму до адаптації не є безмежною. Після того, як Г. Сельє сформулював поняття синдрому біологічного стресу, були виявлені раніше невідомі біохімічні і структурні зміни організму у відповідь на неспецифічний стрес. Лікарі особливу увагу звертали на біохімічні зрушення в організмі і на нервові реакції. На думку Г. Сельє, важливу роль у реакціях стресу відіграють гормони. Екстрене виділення адреналіну — це лише одна сторона гострої фази первинної реакції тривоги у відповідь на дію стресу. Для підтримання гомеостазу настільки ж важливим є зв’язок гіпоталамус–гіпофіз–кора наднирників. Стресор збуджує гіпоталамус, продукується речовина, що дає сигнал гіпофізу виділяти у кров адренокортикотропний гормон (АКТГ), за впливу якого корковий шар надниркових залоз секретує кортикоїди. Це призводить до зморщування вилочкової залози і супутніх змін: атрофії лімфатичних вузлів, гальмування запальних реакцій і продукування глюкози. Інша типова риса

стресової реакції — утворення виразок у шлунково-кишковому тракті, виникненню яких сприяє високий вміст кортикоїдів у крові. На думку Г. Сельє, і холод, і спека, і ліки, і гормони, і смуток, і радість викликають однакові біохімічні зрушення в організмі людини. Кора надниркових залоз і її гормони — кортикостероїди відіграють провідну роль у розвитку і симптоматиці стресу. Геніальність Г. Сельє у тому, що він сформулював нову концепцію, яка дозволяє в розрізнених і строкатих результатах дії всіляких агентів побачити власні прояви цілісного синдрому. Остаточне визначення стресу Г. Сельє дав у книзі «Стресс без дистресса»: «стрес — неспецифічна відповідь організму на будь-яку, пред'явлену йому вимогу» [10]. Концепція Г. Сельє, на думку академіка В. В. Паріна [11], багато у чому змінила принципи лікування і профілактики ряду захворювань. Проаналізувавши засадниче вчення Г. Сельє про адаптаційний синдром, маємо намір розглянути біохімічні аспекти відповіді-реакції організму на стресор.

Науковий підхід до вивчення біохімізму стресу можна розділити на три напрями: 1) стрес як залежна змінна, як відповідь організму на те, що турбує, або на шкідливе оточення; 2) стрес — незалежна змінна, тобто стрес з точки зору стимулювальних дій шкідливого середовища, 3) стрес як реакція-відповідь на відсутність «відповідності» між особистістю та середовищем. Термін «середовище» використовується у найширших значеннях і належить як до внутрішнього, так і до зовнішнього світу істоти, до її фізичного та психологічного оточення [12]. Сучасні уявлення про стрес розширені і детально висвітлені у роботах багатьох вчених [13,14,15,16], зокрема багато праць присвячено вивченню стресів у домашніх тварин [17,18,19,20].

Стресова реакція у людини виникає завдяки складній взаємодії в нейроендокринній системі, що характеризується посиленою секрецією катехоламінів і глюкокортикоїдів (кортизолу) надниркoвими залозами. Яким же чином розвивається ця реакція на стрес? Сигнал про конкретну дію миттєво поступає у кору великих півкуль головного мозку, звідки імпульс посилається в гіпоталамус. Саме в гіпоталамусі, який мобілізує захисні сили організму,

розташовані вищі координувальні і регулювальні центри вегетативної нервової та ендокринної систем, де вловлюються щонайменші порушення, які виникають в організмі за несприятливої ситуації. Гіпофіз синтезує гормони-трофи, які впливають на діяльність інших ендокринних залоз: АКТГ — на кору надниркових залоз; тіреотропний гормон — на функцію щитовидної залози; гонадотропні гормони — на функцію статевих залоз. Крім того, гіпофіз синтезує гормони, які безпосередньо впливають на організм, наприклад, соматотропний гормон і пролактин. Синтез і секреція гормонів гіпофізу регулюються гіпоталамусом, який містить особливі клітини, що виділяють складні хімічні сполуки — рилізинг-фактори [15].

За дії стресора у кров поступає адреналін, який через певні ділянки гемато-енцефалічного бар'єру проникає в ядра гіпоталамуса і викликає у чутливих до нього клітинах стан збудження, яке нервовими і хімічними шляхами доходить до клітин, що виробляють рилізинг-фактори, у результаті в гіпоталамусі утворюється кортикотропін-рилізинг-фактор, який стимулює у передній долі гіпофіза синтез АКТГ, який, у свою чергу, стимулює корковий шар надниркових залоз до продукування і секреції глюкокортикоїдів. Морфологічні і функціональні зміни в органах і тканинах, посилений синтез та секреція гормонів коркової зони надниркових залоз — кортикостероїдів спостерігається під впливом стресорів, які через нервову і ендокринну системи підвищують рівень АКТГ. Підвищене утворення і виділення гормонів адаптації — кортикостероїдів, підвищує резистентність організму на дію стресорів і сприяє подоланню зворотних порушень, які вже відбулися. Вірогідність виникнення загального адаптаційного синдрому (ЗАС) стресу тим вища, чим менш специфічним є стресор і чим менший його вплив на певну ділянку організму. Неспецифічність стресора й обумовлює його дію одночасно на багато органів збільшенням тривожних сигналів, які поступають у мозок [13].

У мобілізації джерел енергії для відновлення реакції важлива роль відводиться центральній нервовій системі (ЦНС), в яку органи чуття повідомляють про силу чинників. З мозкової речовини надниркових залоз

вивільняються норадреналін і адреналін, який мобілізує запаси глюкози з печінки розщепленням глікогену, що міститься у ній. З жирової тканини адреналін вивільняє високомолекулярні жирні кислоти (ВЖК). Глюкоза необхідна для роботи ЦНС і поперечносмугастих м'язів, ВЖК — джерело енергії для міокарду [14].

Адреналін та норадреналін утворюються не тільки у мозковій речовині надниркових залоз, але й на нервових закінченнях. Адреналін виділяється з наднирників у кров і розноситься в однакових концентраціях до усіх частин організму, що забезпечує адреналіну широку сферу діяльності, але не дає можливості вибірково впливати на окремі локальні ділянки. Навпаки, гормон, що виділяється на нервових закінченнях, може ефективно діяти на обмеженій ділянці навколо того місця, де він утворився; його концентрація є високою і не викликає побічної дії на інші частини тіла [17].

Генетичні аспекти стресочутливості. Характер відповіді організму на різні чинники включає неспецифічні та специфічні реакції. Найважливішою неспецифічною реакцією клітин на дію стресорів є синтез особливих протеїнів. Встановлено гени, які кодують протеїни, і показано, що стрес індукує експресію генів, що дає змогу визначити, які саме гени відповідають за стійкість до стресу. На сьогодні виявлено, що за умов стресу синтезуються як загальні, так і спеціальні протеїни. Стресові протеїни — різноманітні групи високомолекулярних і низькомолекулярних протеїнів. Протеїни з однаковою молекулярною масою представлені різними поліпептидами і кожну групу протеїнів кодує не один ген, а сімейство близьких генів. Зміни у структурі гена, який порушує синтез протеїнів, призводять до втрати стійкості клітин. За зміни дії чинника або кількох чинників змінюється життя клітини на стресову програму, гальмується експресія генів, активність яких характерна для життя клітини у нормальних умовах, і активуються гени стресової відповіді. Абіотичні стрес-фактори активують рецептори у плазматичній мембрані, де починається сигнальний ланцюг, який через інтермедіати (протеїнкінази, фосфатази) призводить до утворення фактора транскрипції. Ці фактори в ядрі

активують гени зв'язуванням зі специфічними промоторами. Зміни відбуваються й у протеїнсинтезувальному апараті: розпадаються полісоми, що синтезують нормальні протеїни і формуються полісоми, що синтезують стресові протеїни; спостерігається послаблення, а потім і припинення синтезу звичайних протеїнів у клітині, і перемикання апарату протеїнового синтезу на синтез стресових протеїнів. Вже через 15 хв після початку дії теплового стрес-фактора у клітинах виявляються стресові протеїни, синтез яких поступово наростає, досягаючи максимуму, а потім слабшає. Після закінчення дії стресора синтез стресових протеїнів припиняється і поновлюється синтез протеїнів, характерних для клітини у нормальних умовах. За нормальної температури мРНК стресових протеїнів швидко руйнується, тоді як самі протеїни можуть зберігатися довше, забезпечуючи підвищення стійкості клітин до нагрівання. Дія стресових чинників на організм тварин викликає напругу адаптаційних механізмів, що призводить до зниження неспецифічної резистентності організму, а також до пригнічення функцій, пов'язаних з відтворювальною і продуктивною здатностями. За тривалого стресу в організмі розвиваються функціональні зрушення, що призводять до глибоких дистрофічних порушень, некомпенсаторних змін процесів обміну речовин і, навіть, до загибелі тварини [21,22,23,24].

Фахівцями з Медичного Центру Університету Д'юка (Duke University Medical Center) виявлений механізм, який пояснює відповідь організму на стрес, що виявляється пошкодженням ДНК. Учені вводили в організм мишей хімічну сполуку, що нагадує адреналін, і яка впливає на так звані адренергічні бета-рецептори. Моделювання хронічного стресу на мишах показало, що за умови цього стану активуються певні біохімічні сигнальні шляхи, що викликають накопичення пошкоджень ДНК. Результати дослідження підтвердили той факт, що хронічний стрес викликає тривале зниження концентрації протеїну p53, що належить до групи протеїнів-супресорів пухлинного росту. Цей протеїн запобігає виникненню мутацій в геномі і має назву «вартовий геном». Лефковітц довів існування особливих рецепторів

і охарактеризував рецептори, зв'язані з G-протеїном, такі як адренергічні, які розташовані на поверхні клітинних мембран і є мішенями більше половини лікарських препаратів, включаючи бета-адреноблокатори, які використовуються для лікування пацієнтів із захворюваннями серця, антигістамінні препарати і препарати для лікування виразкових хвороб. Вчені отримали докази, що G-протеїни мають власну ензимну активність, виявили молекулярний механізм, за допомогою якого хімічні сполуки, які нагадують адреналін, діючи через G-протеїн і бета-арестиновий сигнальний шлях, провокують пошкодження ДНК. Ін'єкції протягом чотирьох тижнів в організм мишей хімічної сполуки, яка нагадує адреналін, призводять до руйнування протеїну p53, під час експерименту концентрація якого у клітинах тварин поступово знижувалася. У генетично модифікованих мишей з дефіцитом протеїну бета-арестину-1 пошкодження ДНК не відбувалося. Відсутність бета-арестину-1 стабілізувала концентрації протеїну p53 у клітках тимуса — органу, який реагує на гострий або хронічний стрес, і сім'яників, в яких стрес, перенесений батьком, може вплинути на генотип потомства. Фахівці з лабораторії Лефковітца, помістивши лабораторні миші в умови постійного стресу, змусили організм тварин виробляти власний адреналін і провокувати розвиток реакції на стрес [25].

Стреси у домашніх тварин та його наслідки. Одним із основних завдань сільського господарства є забезпечення населення екологічно чистими продуктами харчування за умов інтенсивного розвитку м'ясного і молочного тваринництва. У період економічної кризи істотно змінюються звичні умови існування тварин, які з певним напруженням різних фізіологічних систем змушені адаптуватись до цих умов, що призводить до погіршення стану здоров'я, супроводжується розвитком стресового стану, і врешті решт негативно впливає на продуктивність та якість продукції, завдаючи великих збитків фермерським господарствам. Стрес у тварин — одна із важливих проблем у галузі тваринництва, адже стрес зустрічається частіше, ніж захворювання. Тому необхідно вивчати причини виникнення і розвитку стресу,

розробляти методи діагностики і заходи запобігання його небезпечного впливу. Домашні тварини постійно зазнають впливу різноманітних зовнішних чинників: технологія виробництва (спосіб утримання, щільність розміщення, величина груп, мікроклімат приміщення, тип і рівень годівлі, біологічна цінність раціонів, способи підготовки й роздавання кормів, якість води); ветеринарно-профілактичні та зоотехнічні заходи (вакцинація, санітарна обробка тварин, зважування, кастрація тощо). У відповідь на дію несприятливих чинників в організмі тварини розвивається особливий стан адаптації — стрес [26].

Як в умовах промислового ведення тваринництва запобігти негативним наслідкам стресу? Селекційними, технологічними та фармакологічними методами можна попередити наслідки стресу, хоча, правдоподібно, передзабійного стресу у тварин у технологічному процесі ведення тваринництва уникнути не вдається. До недавнього часу найбільше значення надавали звичним та постійним фізичним стресорам тварин: шум, холод, надмірне тепло, м’язове навантаження, травми, вимушена нерухомість тощо. Однак, тварини піддаються й психологічним навантаженням, перш за все під час переходу з одного приміщення в інше, за умов введення нових технологічних прийомів, переведення та перевезення тварин. У наш техногенний вік перетворення організму тварини на «продукуючу машину» призводить до надмірного перевантаження продуктивністю, втрати властивості створювати захисний бар’єр і втримувати гомеостаз. Нелабільна і недостатньо ефективна реакція тварини на екстремальні навантаження призводить до захворювань, пов’язаних з адаптацією. Тварини, яких відібрали за високою продуктивністю, вимагають більшої уваги, оскільки нові умови утримання створені для зменшення затрат праці і одержання максимального економічного ефекту. Технологічні прийоми змінюються надзвичайно швидко, організм тварини не встигає виробляти відповідні реакції на стресові чинники. Проблема стресочутливості може бути вирішена створенням спеціальних технологій для стрес-чутливих тварин, використанням антистресових і зміцнюючих адрено-

кортикоїдну сферу фармакологічних препаратів та генетико-селекційними підходами [24, 27,28,29, 7,30].

На нашу думку, найбільшою і мало вивченою проблемою у технологічному процесі одержання тваринної продукції є передзабійний період, коли тварина піддається впливу передзабійного стресу і відчуває смертельну загрозу, а засобів його усунення існує недостатньо.

Вплив стресів на якість м'яса. В умовах промислових технологій виробництва тваринної продукції значно зростає навантаження на тварин, знижуються їх адаптаційні можливості, тому за умов вимушеного забою або забою тварин, які були піддані емоційному стресу, одержують м'ясо низької якості. Американський вчений Briskey E. J. У 1966 р. вперше описав вади м'яса, отриманого від свиней у стресі [1], м'ясо від яких він назвав PSE-свинина (за першими літерами англійських слів «бліде», «м'яке», «водянисте»). DFD-м'ясо («темне», «щільне», «сухе») також є з вадами, які виникають внаслідок порушення швидкості післязабійного розпаду глікогену і утворення молочної кислоти в м'язах. За умов нормального проходження цього процесу (6–10 год) м'ясо дозріває, стає світло-рожевим, щільним, соковитим, має високу стійкість за тривалого зберігання, довший час утримує вологу, має приємний запах, мармуровий вигляд, переробляється з невеликими втратами і може бути використане для виробництва високоякісних м'ясних виробів.

Щодо ролі живлення у зниженні передзабійного стресу і впливу на якісні показники м'яса, то канадські вчені [31] звернули увагу на біохімічні зміни за умов активації гіпоталамо-гіпозарно-надниркової системи. Стресовий стан тварин під час транспортування призводив до зневоднення тканин та змін електролітичного балансу організму [32], підвищення рівня лактату [33], зростання акивності протеолітичних ензимів [34], змін у показниках ліпідного обміну у свиней [35]. A. L. Schaefer та інші вважають, що одним із аспектів прижиттєвого стресу, який може вплинути на якість м'яса, є випромінювання твариною тепла, тому автори провели термографію (дослідження в інфрачервоному діапазоні довжин хвиль) великої рогатої худоби та свиней до і

після транспортування і встановили, що за активації гіпоталамо-гіпозарно-надниркової вісі та підвищенні рівня катаболічних процесів, пов’язаних із стресом перед забоєм, значно зростало продукування тепла (Рис.1) [31].

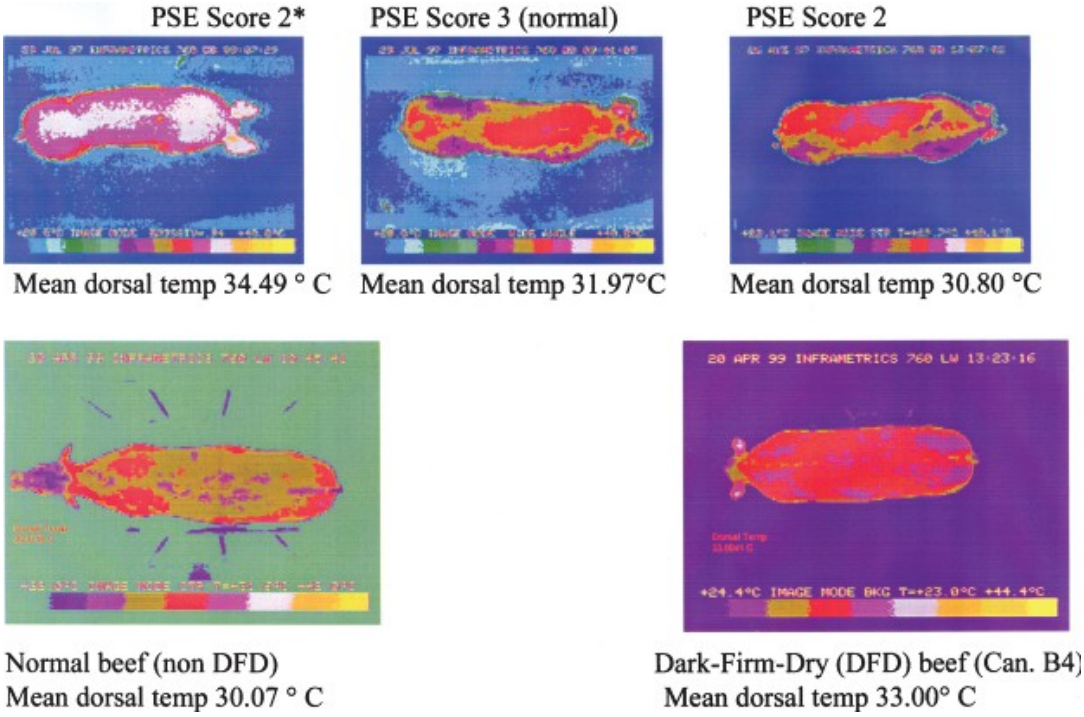


Рис. 1. Дорзальна інфрачервона термографія великої рогатої худоби та свиней до і після транспортування та вплив на якість м’яса

Усі ці зміни автори пов’язували із режимом годівлі у передзабійний період, незбалансованою за амінокислотами, мінеральними речовинами годівлею і недостатньою кількістю води у період транспортування тварин, що призвело до погіршення якості м’яса, одним із основних показників якої є активна кислотність — pH. Концентрація водневих іонів у м’ясі залежить від вмісту глікогену і молочної кислоти у м’язах в момент забою тварини та відображає післязабійні процеси у туші. З pH тісно пов’язані такі якісні показники м’яса, як колір, вологоємність, ніжність, а відхилення від норми pH м’яса туш призводить не лише до економічних втрат, але й до зниження якості м’яса, що виражається у швидкості перерізу площі м’язового волокна за певний час, здатності утримувати вологу, яка впливає на вихід готових продуктів і

тісно пов’язана з технологічними характеристиками м’яса: соковитістю, гідратаційною здатністю тощо. Деякий час після забою тварини м’язи зберігають властивості, притаманні їм за життя тварини: еластичність, збудливість, здатність до скорочення. Через певний період м’язи тверднуть, втрачають еластичність і переходять у стан, який визначається як «rigor mortis» (трупне заклякання), коли у м’язових волокнах відбуваються різноманітні хімічні зміни і переважають процеси катаболізму. Гліколітичні ензими розщеплюють глікоген і глюкозу до молочної кислоти і до зміни величина pH, що є показником дозрівання, зберігання та придатності м’яса до різноманітних способів кулінарної обробки. Дуже важливо, щоб ці процеси проходили повільно: наприклад, м’ясо великої рогатої худоби має характерне значення pH через 48 год, у свинині за нормальних умов кінцеве значення pH досягається через 24 год і становить 5,6–6,4.

Адреналін, який виділяється у стадії тривоги тварини, є активатором обміну речовин у м’язах і пришвидшує накопичення молочної кислоти. Недостатність аденозинтрифосфату і креатинінфосфату прискорює втрату еластичності м’язових волокон і викликає передчасне їх заклякання. Зокрема 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 [2].

У тварин, які незадовго до забою, наприклад під час транспортування, піддавались фізичному та психологічному навантаженню, порушуються метаболічні процеси, які відбуваються у м’язах як перед, так і після забою тварини [3-6].

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Грабовський С. С. Стреси сільськогосподарських тварин та його наслідки [текст] / С. С. Грабовський // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С. З. Ґжицького. Серія «Ветеринарні науки». 2012. — Т. 14. — №3 (53). — Ч. 2. — С. 47–58.

1.2 Вплив стрес-факторів на біохімічний та імунологічний статус організму тварин

1.2.1 Роль поліамінів в метаболізмі ЦНС та гормонів кори надниркових залоз в адаптації організму тварин до дії стрес-факторів. Для пояснення впливу препарату селезінки свині на біохімічні особливості стану тварин та адаптаційні можливості організму за умов стресу перед забоєм необхідно детальніше зупинитися на ролі поліамінів в ЦНС. Однією з основних відмінностейміж глією і нейронами є накопичення біогенних поліамінів; астроцити, які виділяють аргініндекарбоксилазу, можуть виробляти агматин, що є основним субстратом обміну поліамінів у мозку, отже, гліальні клітини можуть бути депо агматину [36].

Такі поліаміни, як Spd та Spm беруть участь у зв’язку глія–нейрони, особливо у періоди стресу, наприклад, під час ішемії і травм, а механізм їх накопичення і використання вивчені ще недостатньо. Оскільки нейродегенерація — серйозна проблема під час стресу, ішемії та захворювань ЦНС, визначення потенційних нейропротекторних механізмів може забезпечити нові можливості для терапевтичного втручання. У 1980-х роках, було виявлено, що Spm — головна радикальна група в отруті павука [37], і, що частина Spm отрути може блокувати глутамат рецептори. У кінці 1990-х років поліаміни таки були помічені у неврології, проте, не були відомі джерела їх походження в головному мозку [38]. Хоча стало відомим, що поліаміни впливають на внутрішнє направлення каналів глії [39]. У головному мозку і периферичній нервовій системі Spd та Spm відомі як такі, що мають специфічні внутрішньоклітинні та позаклітинні дії [40]. Spd впливає на численні рецептори і канали в нейронах з різною спорідненістю, що коливається від 10 нМ до 200 mM [41]. Оскільки гліальні клітини можуть вивільняти поліаміни для того, щоб контролювати синаптичну активність, ці канали рецепторів мають спорідненість з Spm в мікромолярному діапазоні.

Поліаміни Spd та Spm накопичуються в глії (Рис.2), їх розподіл, очевидно, був визначений еволюційно; вони розповсюджені по всьому мозку, сітківці, периферичній нервовій системі і в гліал-нейронах різних видів, включаючи і людину [42,43]

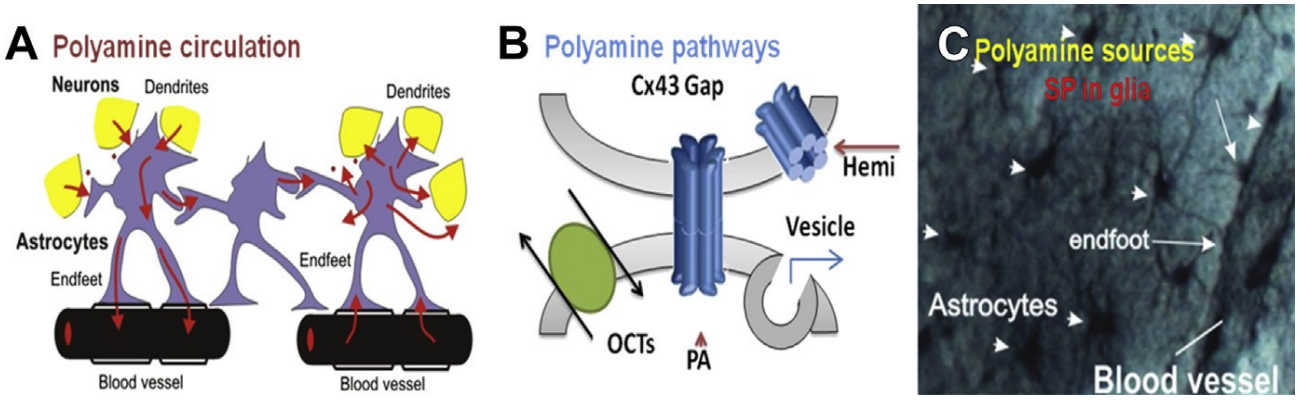


Рис. 2. Циркуляція поліамінів в головному мозку [42]

(A) Запропонована взаємодія між астроцитами, нейродендритами, і синапсами і кровоносними судинами, базується на двоспрямованих поліамінових потоках (1) між нейронами і астроцитами, (2) між астроцитами і їхніми синцитами, і (3) між астроцитами і кровоносними судинами. Поліаміни поступають і виділяються з глії в нейронах, а також поширюються через синцитії (червоні стрілки).

(B) Запропоновані поліамінові шляхи (поглинання і вивільнення) в глії через коннексин 43 (Cx43) геміканали, Cx43 щілинні контакти, зворотні органічні транспортери катіонів (OCTs), і везикулярне вивільнення.

(C) Накопичення сперміну Spm в астроцитах показано за допомогою імуноцитохімічного методу в гіпокампі щурів. Астроцити залучають у кров'яні судини і з'єднуються один з одним. Примітка: жодні маркери Spd та Spm не знайдено в нейронах у цьому шарі radiatum hippocampus гіппокампі щурів CA1.

Поліаміни можуть бути гліотрансміттерами, хоча у цьому аспекті вони ще недооцінені і мало вивчені; проте, у контексті стресу і гліальних функцій, можуть бути ключовим елементом у допомозі модулювання нейронів. Поліаміни можуть мати нейропротекторну дію, яка проявляється різними способами. Наприклад, блокуючи Ca^{2+}-проникні GluR2 AMPA рецепторні канали за допомогою Spm зменшується приплив Ca^{2+} і таким чином

відбувається запобігання ексайтотоксічності (патологічний процес, що призводить до пошкодження або загибелі нервових клітин під дією нейромедіаторів, які здатні гіперактивувати рецептори (α-амінометил-ізоксазолпропіонат (AMPA)) [44,45].

Таким чином, від кількості поліамінів, які поступають і виділяються з глії, може залежати сила нейропротекції, що пов’язане з ефектом старіння, оскільки кількість поліамінів, які зберігаються в мозку, зменшується з віком [46,47,48].

Тому S. N. Skatchkov та співавтори [49] припускають, що, в інтактному мозку, гліальні клітини забезпечують захист від травм і екзотоксічності, принаймні, у тій частині, де використовуються поліаміни як буфер, тим самим, запобігаючи окисненню. Зразу ж виникає питання — якщо поліаміни можуть розглядатися як нейропротекторні агенти, то якими є фізіологічні діапазони концентрацій поліамінів і якими є вільні форми зв’язку поліамінів в мозку? Загальна концентрація внутрішньоклітинного Spm в ненейронних клітинах є високою (3–10 ммоль), хоча Spm значно буферизується у клітинах за допомогою негативно заряджених фосфатів, АТФ, гуанозин-5'-трифосфату, ДНК, РНК, протеїнами та іншими поліпептидами [50]. Оскільки Spm і Spd не синтезуються в глії [51], а накопичуються в ній (Рис. 2.С), то поліаміни Put, Spd та Spm можуть взаємно обмінюватися за різних умов.

Окремі дані [49] показують переважне накопичення Spd та Spm в глії, що оточує кровоносні судини (Рис. 2). Spd та Spm не виявлені в більшості нейронів сітківки і у мозку. Ці дані узгоджуються з останніми дослідженнями, припускаючи, що концентрація вільних Spd та Spm в глії (<800 М33) може бути вищою, ніж встановлено в нейронах — 10 нМ до 80 mM [41]. У мозку поліаміни є розподілені нерівномірно. Використовуючи радіоактивні мітки поліамінів і поліклональні антитіла, специфічні до Put або Spd та Spm, деякі дослідники [52,53,54] показали, що поліаміни в мозок поступають через астроцити (Рис. 2). Тому, якщо поліаміни синтезуються в деяких нейронах [55], то вони повинні вивільнятися з цих нейронів, ймовірно, з синаптичних

нервових закінчень у позаклітинний простір через везикулярну транспортну систему, що вказує на негайне накопичення і зберігання поліамінів в гліальних клітинах (Рис. 2А). Альтернативним джерелом поліамінів може бути їх надходження з крові, з якою астроцити підтримують контакт, огортаючи судинний інтерфейс [56] (Рис. 2А, С), де гліальні клітини можуть використовувати кілька шляхів поглинання: за допомогою транспортерів та через великі пори тощо (Рис. 2, В).

Амнезія, депресія, стрес, занепокоєння, аутизм, гліобластома, глаукома, мігрені, невропатичні болі, безсоння і наркоманія — усі ці порушення можуть бути тісно пов’язані з механізмами обміну поліамінів. Були зареєстровані чисельні біологічні ефекти поліамінів, включаючи збільшення тривалості клітинної проліферації і диференціювання, регуляції рецепторів і каналів, модуляції поведінки, навчання і пам’яті, а також нейропротекторні, антидепресантні, і антиоксидативні ефекти [57,58,59].

Хоча функціонування поліамінів в мозку все ще залишаються таємницею, відомо, що вони тісно пов’язані з гліальними клітинами. Зміна метаболізму поліамінів може лежати в основі деяких захворювань мозку, включаючи депресію з суїцидальною тенденцією. Ендогенне виснаження Spd та Spm дієтичними засобами [60] Spd- та Spm-ацетил-трансферази призводить до зменшення концентрації поліамінів і з втратою нейропротекції [61].

Була висунута гіпотеза, що глія отримує поліаміни з крові, спинномозкової рідини, або з макрофагів, які проникають через гематоенцефалічний бар’єр. Одним із можливих шляхів надходження поліамінів є система органічно-катіонного транспорту, яка є в глії [62]. Невідомі механізми, як саме поліаміни накопичуються в глії [63]. Переконливими доказами теорії є висновок про те, що ін’єкції радіоактивних міток Put, введених в аксони, спричиняють передачу радіоактивної мітки до оточуючих гліальних клітин. Таким чином, накопичення поліамінів в гліальній цитоплазмі не спричиняється первинно синтезом Spd та Spm, а відбувається пасивним чи активним транспортуванням поліамінів.

Поліаміни регулюють функціонування деяких медіаторів, у тому числі катехоламінів [64], глутамату та глютамінової кислоти [40, 65], вважається, що агматин функціонує як нейротрансмедіатор [66]. Стан організму, пов'язаний із фізичними, емоційними і гормональними стресами (у тому числі глюкокортикоїдними), відображається на рівнях поліамінів у мозку ссавців [620]. Активація стресу призводить до підняття рівнів Put і агматину, як в мозку, так і в периферійних тканинах. В експериментах на тваринах було встановлено, що високі рівні Put і агматину в мозку необхіді, їх суміші діють як транквілізатор і мають ефекти антидепресантної дії [36], а недостатній рівень поліамінів може спричиняти змінену емоційну реактивність і поведінку з ознаками занепокоєння [67]. Експериментальні дані на людях повідомляють, що агматин має властивості антидепресанту [68].

Інтенсивний пошук засобів та методів, за допомогою яких можна було б нормалізувати порушення гомеостазу і функції найважливіших адаптивних систем організму, зміцнюючи його захисні властивості — з однієї сторони та активно втручатися у патологічні процеси — з іншої, спонукав до того, що була доведена важлива роль гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи в живому організмі, а кортикостероїдам відведена неабияка роль. Кортикостероїди — похідні циклопентанопергідрофенантрену, в основі хімічної структури якого лежить стероїдне кільце з 17 атомів Карбону. На сьогодні відомо біля 100 сполук, з яких лише деякі є біологічно активними і поділяються на чотири групи: глюкокортикоїди, мінералокортикоїди, андрогени та естрогени. Початковим субстратом синтезу кортикостероїдів є холестерол, який утворюється в основному у печінці і відіграє важливу роль в метаболізмі, є проміжним продуктом (попередником) при синтезі *in vivo* стероїдних гормонів, жовчних кислот, вітаміну D_3 [69].

Велика частина холестеролу (80–90 %) зв'язана з жирними кислотами і лише 10 % припадає на вільний холестерол, який в наднирниках присутній головним чином в ендоплазматичних мембранах і мітохондріях, а естери холестеролу зосереджені в ліпідах цитоплазми. Холестерол поступає

в наднирники з плазми крові або синтезується з ацетил-КоА. Поповнення запасів холестеролу здійснюється під контролем кортикотропіну, під дією якого прискорюється надходження вільного холестеролу з плазми, посилюється внутріклітинний синтез холестеролу *de novo* і стимулюється гідроліз естерів холестеролу в самих наднирниках. АКТГ регулює швидкість стероїдогенезу в наднирниках, змінюючи метаболізм холестеролу і його перерозподіл як всередині клітини, так і в мітохондріях. Поступлення і транспортування холестеролу в мітохондрії здійснюється специфічним протеїном, біосинтез якого стимулюється протеїнкіназою, яку активує АКТГ [70].

Позаклітинні ліпопротеїди — важливі регулятори синтезу холестеролу в наднирниках: за достатньої кількості позаклітинного холестеролу спостерігається пригнічення його внутрішньоклітинного синтезу. Процеси стероїдогенезу забезпечують ензими, які локалізовані в мітохондріях і гладкій ендоплазматичній сітці. Біосинтез кортикостероїдів починається в мітохондріях, де з холестеролу, що поступає, під впливом ензиму десмолази утворюється прегненолон, який є попередником для більшості кортикостероїдів. Біологічно активним глюкокортикоїдом є кортизол, на частку якого припадає 80 %, а на інші — 20 % у порядку зменшення їх активності: кортизол, кортикостерон, 11-дезоксикортизол та 11-дезоксикортикостерон. Кортизол — основний кортикостероїд, який здійснює контроль секреції кортиколіберину та АКТГ. Основним місцем обміну кортизолу є печінка [71,72].

Головний регулятор синтезу глюкокортикоїдів — АКТГ, локалізується та синтезується у клітинах передньої долі гіпофізу. Секрецію АКТГ та споріднених пептидів контролює кортикотропін-рилізінг-гормон (КРГ), який продукує гіпоталамус. КРГ поступає в передню долю гіпофізу, де в свою чергу викликає секрецію АКТГ [73,74].

За добу наднирники продукують 15–30 мг кортизолу, майже 90 % якого циркулює в крові у зв’язаному стані з протеїном — транскортином і лише невелика його частина зв’язана з альбумінами. Близько 8 % кортизолу плазми

крові перебуває у вільному стані. Це, власне, і є біологічно активний кортизол. Низькі концентрації інсуліну та естрогенів підвищують вміст транскортину, що приводить до збільшення кортизолу, зв'язаного з протеїнами, внаслідок чого збільшується загальна концентрація кортизолу в плазмі крові. Проте рівень вільного кортизолу, мабуть, залишається незмінним, а ознаки і симптоми надлишку глюкокортикоїдів інколи бувають відсутні. Більшість синтетичних аналогів глюкокортикоїдів зв'язуються з транскортином менш ефективно (приблизно 70 %). Це можна пояснити здатністю деяких з них навіть у малих дозах спричиняти побічні ефекти, наприклад, послаблення імунітету, старіння наднирників тощо [69]. При захворюваннях печінки і нирок, а також за тривалого вживання глюкокортикоїдів знижується вміст транскортину і фракції кортизолу, зв'язаного з цим протеїном, що призводить до клінічних ознак надлишку глюкокортикоїдів [75]. Час циркуляції кортизолу визначається міцністю зв'язку з транскортином (період напіврозпаду кортизолу складає 80–120 хв, кортикостерону — менше 60 хв). Основним місцем обміну кортизолу є печінка, але нирки, кишечник і легені також беруть участь в обміні кортикостероїдів [71,72].

Функції глюкокортикоїдів різноманітні — від регуляції метаболізму до модифікації імунологічної і запальної відповідей. Глюкокортикоїди впливають як на метаболізм вуглеводів, так і на утворення інсуліну та виділення його β-клітинами підшлункової залози [76].

Глюкокортироїди збільшують розпад білків, а утворені при цьому амінокислоти (АК) використовуються як основний субстрат для глюконеогенезу [77]. Дія глюкокортикоїдів на обмін Кальцію виражається в негативному балансі. Вони інгібують всмоктування Кальцію в кишечнику, оскільки пригнічується активність вітаміну D, знижують концентрацію циркулюючих естрогенів і підвищують екскрецію Кальцію з сечею. Крім того, глюкокортикоїди сповільнюють дозрівання остеобластів, знижують їх активність і, як наслідок, зменшують кількість кісткової тканини, що утворюється під час кожного циклу ремоделювання. Вторинний

гіперпаратиреоїдизм, який виникає при використанні глюкокортикостероїдів, також зумовлює ремоделювання кісткової тканини, що у подальшому прискорює резорбцію компенсаторного росту, призводячи до швидкої втрати кісткової маси [78,79].

Глюкокортикоїди використовуються в лікуванні вертебрально-базилярної недостатності (зворотні порушення функцій мозку, який живиться хребцевими та основними артеріями, спричинені зменшенням його кровопостачання). Ефективність використання кортикокостероїдів, особливо в лікуванні вазогенного набряку, розроблена в експерименті і в ряді клінічних робіт, однак переконливих доказів доцільності застосування глюкокортикоїдів в лікуванні набряку мозку на сьогодні не одержано [80].

Глюкокортикоїди застосовують при запальних процесах і травмах органів зору, для профілактики симпатичного запалення у післяопераційний період. Кортикостероїди блокують ексудативну фазу запалення, попереджують проліферацію клітинних елементів, однак не впливають на причину виникнення запального процесу і тому повинні поєднуватись зі специфічною терапією. Глюкокортикоїди не можна використовувати при порушеннях епітеліального шару рогівки. У літературі наявні повідомлення стосовно порушень глюкокортикоїдної функції кори надниркових залоз при розсіяному склерозі [81,82,83,84].

У високих дозах глюкокортикоїди виступають як імунодепресанти (їх застосовують для попередження відторгнення трансплантованих органів) за рахунок інгібування активності нейтрофілів і моноцитів. Глюкокортикоїди використовують у тих випадках, коли інші препарати уже не допомагають, але стероїди часто викликають побічні реакції. Таким чином, питання лише в тім, як скоро появляться побічні ефекти. Виходячи з цього можна сказати, що лікування як глюкокортикоїдами, так і іншими препаратами протизапальної дії, веде до загострення інших захворювань. Внутрішньосуглобові ін’єкції глюкокортикоїдів дають швидкий і сильний протизапальний ефект, зменшують біль, кількість виділення ексудату в порожнині суглобу, але, оскільки, препарат

діє тільки на цикл арахідонової кислоти і простагландинів, то він не вливає на патогенез дегенерації хряща. Препарати з групи кортикоїдів майже завжди дають тимчасовий ефект, а інколи запальний процес посилюється після припинення їх застосування (так званий синдром відміни). У зв'язку з вищесказаним, можна рекомендувати використання глюкокортикоїдів у виключних випадках, одиничними ін'єкціями (1–2 рази) при наявності сильно вираженого артриту з великою кількістю ексудату. Неконтрольоване використання глюкокортикоїдів при лікуванні бактеріальних дерматитів нерідко призводить до переходу у хронічну фазу процесу через пригнічення опірності організму [85].

Потрібно визнати, що на сьогодні медицина не має лікарських засобів, які б при лікуванні суглобів та хребта для ефективного зняття запалення та болю, не впливали б шкідливо на організм.

У народній медицині при захворюваннях опорно-рухової (кістково-суглобової) системи здавна застосовували витяжки із рослин, які знімали біль при запальних процесах. Рослинні екстракти не викликають залежності, не мають шкідливої дії на організм в цілому. Правильно підібрані натуральні засоби, які складаються з кількох природних інгредієнтів, діють комплексно і мають оздоровчий вплив на весь організм.

Виходячи з вищесказаного найперспективнішим напрямом сьогодення буде використання безпечних стимулювальних препаратів природного походження, які б впливали на синтез організмом та дію глюкокортикоїдів і не мали негативних побічних ефектів.

Амінокислоти, що потрапляють в організм, забезпечують синтез власних білків, нуклеїнових кислот, ензимів, багатьох коензимів, гормонів та інших біологічно активних речовин. Амінокислоти використовуються також як джерела енергії, включаючись у катаболізм, їм належить єднальна роль в інтеграції основних метаболічних процесів, оскільки, рівень вільних амінокислот і їх похідних є регулюючим чинником багатьох вузлових ланок метаболізму [86,87].

Амінокислоти поділяють на незамінимі (валін, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, треонін, триптофан і фенілаланін), умовно незамінимі (гістидин), п’ять амінокислот вважаються частково замінимими (аргінін, гліцин, тирозин, цистин і цистеїн), замінимі та функціональні амінокислоти, які включають у себе аргінін, цистеїн, глютамін, лейцин, пролін і триптофан [560]. Все це визначає їх унікальну роль у побудові і проміжному синтезі основних структурних компонентів клітини (протеїни, нуклеїнові кислоти, низмолекулярні нітроген- і сульфурвмісні сполуки) і реалізації через ці компоненти більшості функцій клітини.

Деякі з амінокислот, такі як глутамінова кислота, аспарагінова кислота, гліцин, гістидин, триптофан, фенілаланін, тирозин, таурин беруть участь у синтезі ендогенних біологічно активних сполук, деяких гормонів, нейромедіаторів тощо. Обмін цих сполук контролюється різними біохімічними і фізіологічними механізмами, визначальними відносно постійності концентрації амінокислот у крові і тканинах. Оскільки амінокислотам також належить роль інтермедіаторів, що зв’язують між собою основні метаболічні шляхи, дослідження амінокислотного складу мозку може слугувати інтегральним показником функціонального стану регуляторних систем організму. Деякі з науковців вважають АК основними нейротропними речовинами, хоча результати окремих досліджень є суперечливими [88,89].

Зупинимося детальніше на функціях окремих амінокислот як модуляторів антистресорної дії. У цьому аспекті не викликає сумніву важлива роль аргініну. Ендогенний синтез аргініну здійснюється основним чином з цитруліну, який синтезується у слизовій оболонці тонкого кишечнику як кінцевий продукт глутаміново/глутаматного метаболізму і з кров’ю потрапляє у нирки, де за участю аспартату у циклі сечової кислоти перетворюється на аргінін. Через ниркові вени розноситься до різних клітин і тканин організму. Синтез аргініну також можливий з орнітину і проліну, але виражений слабо [90,91].

Кількість аргініну, що синтезується у дорослої людини (приблизно 2 г на день), достатня, щоб забезпечити його фізіологічні потреби в нормальних умовах. І що основне — аргінін бере участь у синтезі поліамінів (путресцину, сперміну, спермідину, агматині та ін.), які присутні в усіх клітинах у відносно великих (мілімолярних) концентраціях. (Рис. 3).

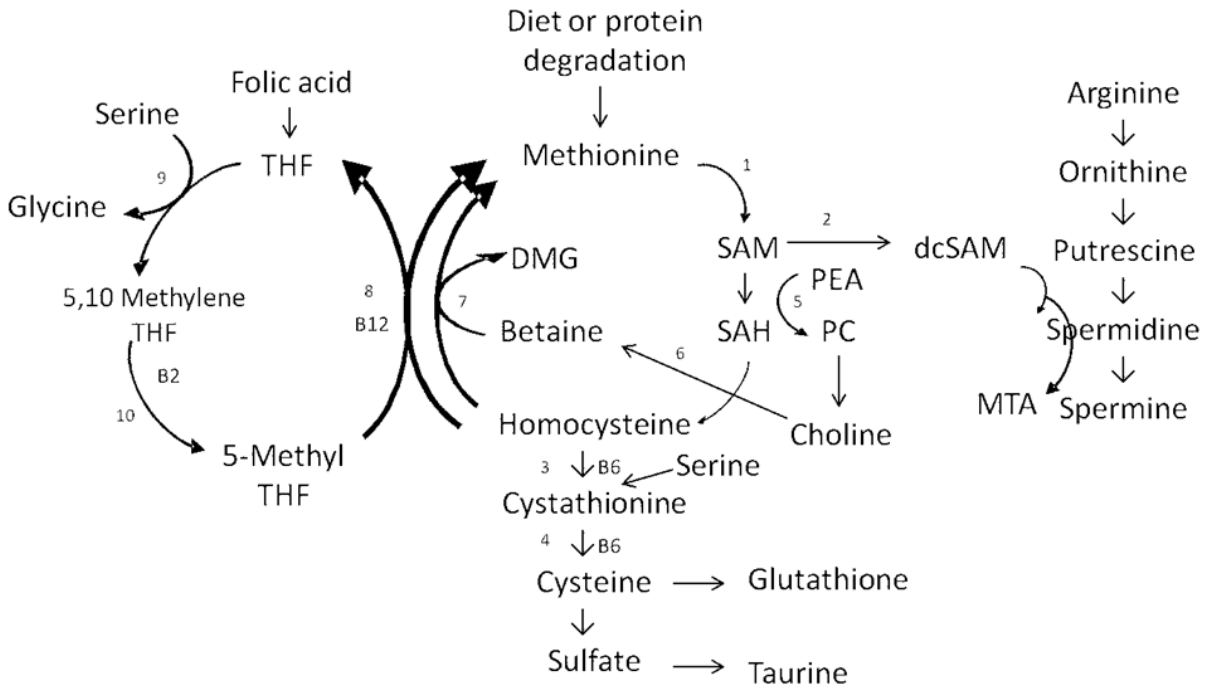


Рис. 3. Схема метаболізму окремих амінокислот

У ряді робіт (92, 591,592 ,93, 651), а також в наших дослідженнях показано, що тварини розрізняються за своєю реактивністю у відповідь на стрес-дію. Поліаміни можуть впливати і на продукцію цитокінів, пригнічуючи клональну експансію лімфоцитів. Поряд з тим поліаміни беруть участь в диференціюванні імунних клітин і одночасно проявляють регулюючу функцію на фагоцити, моноцити і лімфоцити, які абсорбують поліаміни [94] (Рис. 4).

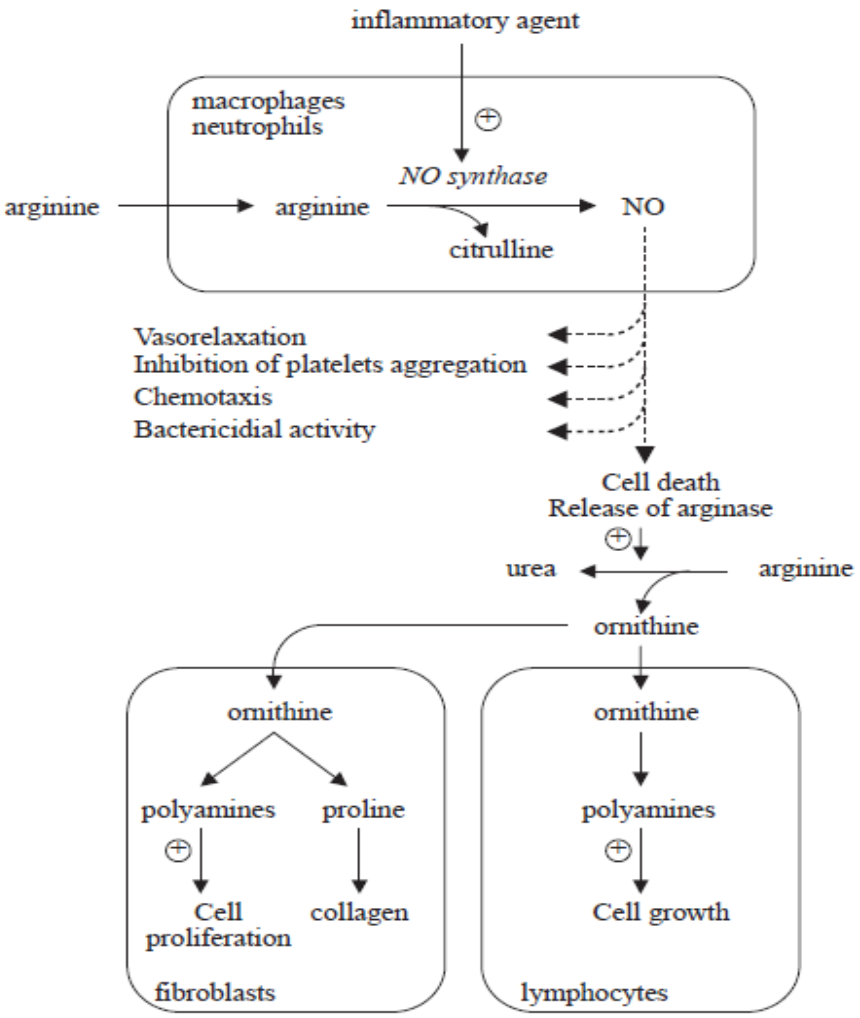


Рис. 4. Схема синтезу NO та поліамінів за умов взаємодії фагоцитів, лімфоцитів та фібропластів [546]

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці: Грабовський С. С. Особливості впливу глюкокортикоїдів на живий організм / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2007. — Том 9. — № 1–2. — С. 65–69.

1.2.2 Фагоцитоз — як чинник імунного статусу організму. Основоположником вчення про фагоцитоз був наш співвітчизник І. Мечников, який у 1885 р. у доповіді «О целебных силах организма» на з'їзді лікарів і природознавців в Одесі вперше проінформував та сформулював положення про значення фагоцитозу в захисті організму людини і тварин від інфекції, і тим

самим заклав основи клітинної теорії імунітету. У 1908 р. І. Мечникову було присуджено Нобелівську премію за відкриття центральної ролі фагоцитарних клітин — нейтрофільних гранулоцитів (НГ) і макрофагів (МФ) — у неспецифічному захисті організму від більшості патогенів. Геніальність цього відкриття полягає у тому, що були не тільки виявлені бактерицидні властивості цих клітин, але й припускалися інші можливі їх функції, як, наприклад, передача імунітету за допомогою білих корпускул через продукцію ними «секретинів» (цитокінів) [95,96].

За останні роки фагоцитоз розглядається не лише як центральна ланка неспецифічної резистентності проти чужорідних екзогенних агентів (мікроорганізмів), але й як імунорегуляторна система, спрямована на стабілізацію внутрішнього середовища макроорганізму, — захист чужорідних екзогенних агентів (видозмінених аутолітичних клітин) [97,98].

Захисні функції в організмі виконують клітинні форми, які різняться за структурою, місцем зосередження в органах і тканинах, але в цілому діють як єдина система, яка функціонує завдяки двом видам клітин — поліморфноядерним та моноцитарним лейкоцитам, створюючи захист від багатьох чинників, які дестабілізують антигенний гомеостаз [95,96, 98,99]. При цьому НГ є високоспеціалізованими клітинами з більш вираженою біологічною активністю, ніж моноядерні, що дозволяє їм ефективніше нейтралізувати та елімінувати патогени [98,99,100,101,102].

Захист організму від інфекцій полягає у послідовному включенні в боротьбу зі збудниками інфекції трьох різних складових: 1) факторів природної резистентності, 2) ранньої імунної відповіді, 3) набутої імунної відповіді [103,104]. Фактори природної резистентності включаються до захисту моментально після проникнення збудником через шкірні та слизові оболонки і до внутрішнього середовища організму.

На шляху до проникнення мікроорганізму стоять дві могутні перешкоди: клітинні та гуморальні фактори природного імунітету. До перших відносяться тканинні МФ, НГ та природні кілери (ПК або NK клітини); до других —

природні антитіла та комплемент [105]. Практично будь-який антиген, який проник до макроорганізму, має здатність індукувати альтернативний шлях активації комплементу, в результаті чого утворюються його фрагменти, що є прозапальними медіаторами з хемотоксичною активністю. Вони індукують приплив НГ до запального вогнища, тобто підготовляють мікроорганізм до поглинання фагоцитами. Першими клітинами, з якими взаємодіють прониклі в організм збудники інфекцій, є МФ, які поглинають опсонізовані мікроорганізми, руйнують їх, активуються та синтезують цитокініни (ЦК).

Дія ЦК, які продукують МФ протягом ранньої імунної відповіді, визначає основні механізми протиінфекційного захисту на початкових етапах розвитку інфекційного процесу [105,106]. Одним із найважливіших ЦК є інтерлейкін (ІЛ)-12, від якого залежить характер імунної відповіді: переважно клітинного чи гуморального спрямування. Активовані таким чином фагоцити (МФ, НГ, ПК) інтенсивніше поглинають мікроорганізми, знешкоджують і перетравлюють їх. Дія інших прозапальних ЦК (ІЛ-1, ІЛ-2, Іл-8) повністю визначає характер запального процесу, який розвивається за умов проникнення патогенних збудників у макроорганізм.

Головними захисниками від позаклітинних бактерій на стадії ранньої імунної відповіді є НГ, яким відводиться фундаментальна роль у руйнації позаклітинних патогенів і їх токсинів [105].

Загальноприйнято, що МФ і НГ беруть участь у захисті організму за допомогою ідентичного багатоступеневого процесу [95,96, 107].

Процес попереднього стимулювання бактерій, що супроводжується зростанням функціонального потенціалу НГ і МФ, отримав назву праймінга (priming), тобто підготовка, переведення клітин у робочий стан [96, 108,109].

Процес фагоцитозу здійснюється за допомогою механізму, що діє як замок–змійка (від англ. *zipper*, тобто послідовного розпізнавання патогенів псевдоподіями фагоцитів). Поглинання мікроорганізмів відбувається шляхом інвагінації плазматичної мембрани клітин і утворення фагоцитарної вакуолі [110]. При цьому активуються дві функції фагоцитів: викид вмісту гранул у

фагосому та оксигенний вибух — каскад послідовних реакцій утворення реактивних метаболітів Оксигену, здатних руйнувати мікроорганізми.

На теперішній час схема взаємодії фагоцитів з патогенними мікробами представляється таким чином [111]. По-перше, відмічається довший період життя НГ, особливо при запальному процесі та інфекціях; по-друге, виявлено нові рецептори, здатні розпізнати ІМД; по-третє, чітко встановлена здатність цих клітин до синтезу різних біологічно активних речовин (ЦК, дефенсинів та ін.). НГ здатні кооперувати з клітинами, що представляють антиген, через обробку та протеоліз антигенів, а також здатні до секреції різних пептидів — біологічно активних протеїнових компонентів у вогнище запального процесу [97, 107, 112,113,114,115,116].

Фагоцитарний процес складається з низки послідовних взаємозв'язаних стадій: рух, адгезія, поглинання, дегрануляція, утворення активних форм Оксигену та Нітрогену, кілінг і розщеплення об'єктів фагоцитозу [108, 117,118].

Рух. Стимулом для фагоцита є компоненти комплементу — С3а, С5а, ІЛ-8 (хемоатрактанти). Ці речовини накопичуються у вогнищі запального процесу та впливають на пересування фагоцитів, одночасно посилюючи експресію на мембрані фагоцитів молекул адгезії.

Адгезія. Адгезійні властивості НГ та МФ зумовлені поверхневими рецепторами — селектинами та інтегринами. За допомогою селектинів здійснюється «гойдання» (*rolling*) фагоцитів на поверхні ендотеліальних клітин перед їх твердим прикріпленням за допомогою інтегринів до своєї поверхні.

Поглинання. Поглинальна здатність фагоцитів часто порушується при гострих і хронічних інфекційних хворобах, а також при аутоімунних процесах. Зміни поглинальної здатності фагоцитів можуть бути пов'язані з порушеннями опсонізуючих властивостей сироватки крові [119].

Дегрануляція. Процес полягає у тому, що зливається фагосома з лізосомами та утворюються фаголізосоми, в яких відбувається кілінг і руйнація захопленого патогену.

Кілінг і розщеплення. Кілінг мікроорганізмів, які поглинаються як НГ, так і МФ, здійснюється за допомогою оксигензалежних і оксигеннезалежних механізмів. У першому випадку відбувається окиснення Оксигену НАДФ-оксидазної системи, у результаті утворюються активні форми Оксигену, які виявляють сильну бактерицидну дію. У другому випадку загибель і руйнування мікроорганізмів відбувається за впливу кислої реакції середовища фаголізосоми, гідролітичних ензимів і значного числа білків і пептидів.

Утворення активних форм Оксигену. За даними [95, 120,121,122,123,124] процес фагоцитозу супроводжується респіраторним вибухом, тобто утворенням активних форм Оксигену. За допомогою НАДФ-оксидазної системи Оксиген окиснюється до супероксидазного радикалу, який за дії супероксиддисмутази утворює Гідрогену пероксиду. При її відновленні супероксидним радикалом відбувається утворення гідроксильного радикалу. Одночасно з цим може утворюватися синглетний Оксиген, що несе, на відміну від Оксигену, на одній орбіті два електрони. Гідрогену пероксид та мієлопероксидаза окиснюють іони Хлору чи інші галогени з утворенням гіпохлорної кислоти та інших продуктів. Усі ці сполуки мають мікробіоцидні властивості.

У НГ майже весь спожитий Оксиген, минаючи численні мітохондрії, використовується на утворення оксидантів для здійснення прямої бактерицидної активності цих клітин. У МФ є у наявності велика кількість мітохондрій, система яких гіпертрофується при активації клітин. У зрілих МФ на місці ензиму мієлопероксидази існує друга альтернативна система руйнування перекису Гідрогену та інших активних форм Оксигену, що складається з каталази та глутатіонпероксидази. Є ще одна особливість цих клітин, яка визначає їх функціональне призначення як ключових клітин запального процесу. У процесі дозрівання МФ відмічається чітке зниження внутрішньоклітинної кількості азурофільних гранул, які включають основний арсенал бактерицидних ензимів: мієлопероксидазу, катіонні протеїни, серинові протеази та лактоферин, характерні для НГ [96, 125,126].

За нормального функціонування фагоцитарної системи імунітету теоретично інфекційні процеси повинні бути маловірогідною подією. Проте вони існують. Це пов'язано не лише з появою мікроорганізмів з підвищеною вірулентністю. Однією з причин розповсюдження інфекційних захворювань є порушення функціональних властивостей фагоцитів та інших захисних сил організму, які працюють у комплексі з ними [108, 127, 128].

Зміни у функціонуванні НГ можуть призвести до персистенції інфекційних агентів, порушення елімінації антигенів та імунних комплексів організму, і як наслідок — до обтяження основного патологічного процесу [108, 99, 127, 129]. Кількісна та функціональна недостатність НГ розглядається як фактор ризику ґенези інфекційних процесів [108,97, 99, 127, 130,131]. Сьогодні проводяться систематичні наукові дослідження, спрямовані на розширення уявлень про функціональну активність фагоцитів при інфекційних хворобах людини і тварин, оскільки ця проблема в багатофункціональному процесі формування антиінфекційної резистентності ще недостатньо вивчена [103].

Добре відомо, що поліаміни: спермідин (Spd), спермін (Spm) та путресцин Put відіграють важливу роль у контролі вродженої імунної відповіді у вищих хребетних. Цей ефект поліамінів на клітинні імунні реакції пов'язаний з експресією генів. Були проведені дослідження *in vitro* з використанням лейкоцитів морського ляща. Лейкоцити інкубували з поліамінами — Put, Spd та Spm у концентрації: 0,005 і 0,0025 % тривалістю 0,50, 1, 2 та 4 год. Спостерігалося збільшення респіраторного вибуху та фагоцитарної активності, коли лейкоцити інкубували з Put (0,005 і 0,0025%) через 2 і 4 год після початку експерименту. Експресії імунних генів, асоційованих (IgM, MHCIα, MHCIIα, C3, IL-1β, CD8, Hep, NCCRP-1, CSF-1 та TLR) були кількісно визначені за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі і деякі з них (C3, MHCI, CD8, IgM та Hep) були регульовані концентрацією поліамінів. Ці результати показують, що поліаміни можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції. Необхідно ще з'ясувати, як поліаміни

контролюватимуть імунну систему морських лящів, а також які механізми беруть в цьому участь [109, 111].

Вивчаючи механізми патогенезу пневмонії в організмі людини було виявлено, що кількість альвеолярних МФ зменшується і вони мають вади фагоцитозу. Це серйозно впливає на вроджений імунітет до інфекційної пневмонії. Встановили, що висока концентрація внутрішньоклітинних поліамінів може бути причиною апоптозу. Показали, що експресія протеїну *antizyme inhibitor* (AZI) значно зростає. З цим протеїном посилюється поглинання екзогенних поліамінів і стабілізується орнітиндекарбоксилаза (ОДК), яка є ключовим ензимом синтезу поліамінів. Встановлено причини зниження фагоцитарної активності та регуляцію експресії ряду рецепторів МФ і диференціювання моноцитів у МФ [124, 132].

Сьогодні проводяться дослідження з проектування безпечних і ефективних невірусних носіїв для доставки генів з участю поліамінів. Для підвищення ефективності дуже важливим є розуміння механізмів, які відбуваються в клітинах-мішенях. Поліаміни присутні у фагоцитах і впливають на їх антимікробну активність. Було встановлено, що поліаміни мають протигрибкову активність [133].

Таким чином, фагоцитоз є однією з найважливіших захисних реакцій організму у розпізнаванні, ізоляції та знешкодженні носіїв чужорідної генетичної інформації, що відіграє важливу роль у підтриманні гомеостазу. Вивчення фагоцитозу має велике значення для оцінки імунного статусу організму, резервів захисних можливостей у випадку захворювань, визначення глибини, динаміки та перспектив розвитку патологічних процесів, у тому числі інфекційної природи.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Маслянко Р. П. Сучасні уявлення про фагоцитоз / Р. П. Маслянко, С. С. Грабовський, О. С. Грабовська. — Біологія тварин. — 2013. — Т. 15. — № 3. — С. 63–69.

1.2.3 Вплив стресу на імунологічні показники домашніх тварин.

Природний імунітет притаманний живим організмам, зокрема рослинам, комахам і навіть бактеріям, які мають захисні механізми проти вірусів-бактеріофагів. Специфічний (адаптивний) імунітет притаманний лише вищим тваринам — хордовим, і досягає найскладнішої організації у теплокровних тварин (птахів і ссавців). Природний імунітет діє швидко, і, як правило, ефективно, оскільки не залежить від клонального розмноження антиген-специфічних клітин, притаманних адаптивному імунітету. Клітини природного імунітету відіграють важливу роль в адаптивному імунітеті — деякі з них (дендритні клітини) є антиген-презентувальними клітинами, що здатні до стимуляції антиген-специфічних клітин адаптивного імунітету (Т- і В-лімфоцитів) [134].

З літературних даних відомо про вплив різного характеру стресів на Т- і В-клітинний імунітет [135,136,137,138,139, 140, 141,142], механізм розвитку реакцій гомеостатичних систем на зовнішній подразник [143,144].

У регулюванні імунного статусу важливу роль відіграють і поліаміни. Добре відомо, що поліаміни: Put, Spm, Spd відіграють важливу роль у контролі вродженої імунної відповіді у вищих хребетних. Цей ефект поліамінів на клітинні імунні реакції пов’язаний з експресією генів. Поліаміни можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції [145, 109, 111]. Поліаміни поглинаються Т- та В-лімфоцитами [141], регулюють апоптоз В-клітин при делеції клону [197]. В-лімфоцити ініціюють транспорт позаклітинних поліамінів до різних тканин організму [146].

Важливого значення при дослідженні показників імунітету тварин надається визначенню кількості Т- і В-лімфоцитів, як провідних імунокомпетентних клітин крові, які характеризують рівень захисних сил організму і стан специфічного (адаптивного) імунітету.

Характерною особливістю усіх живих організмів, яку вони отримали у процесі еволюції, є здатність адаптуватися до різних зовнішніх чинників та підтримувати постійність внутрішнього середовища. Існують дві найважливіші

фізіологічні відповіді на стрес: стимулювання симпатичної нервової системи і активування системи гіпоталамус–гіпофіз–кора наднирників. Стресор збуджує гіпоталамус, продукується речовина, що подає сигнал гіпофізу виділяти у кров АКТГ, під впливом якого корковий шар надниркових залоз секретує кортикоїди [147, 148].

За багатьох стресових ситуацій у сироватці крові змінюється співвідношення протеїнових фракцій, хоча загальний вміст протеїну залишається стабільним. Основна маса білків плазми крові синтезується у печінці: альбуміни (10–16 г / добу), α-глобуліни, частина β-глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори). У клітинах імунної системи синтезується більша частина β- та γ-глобулінів. Відносний вміст протеїнових фракцій крові є показовим, оскільки має велике значення для діагностики багатьох захворювань. Альбуміни становлять найбільшу частину протеїнів крові, відіграють важливу роль у підтриманні онкотичного тиску крові, у транспортуванні багатьох біологічних речовин: вуглеводів, ліпідів, окремих гормонів, а також мікроелементів (Купрум, Цинк, Магній тощо) [312]. Вміст альбуміну сироватки крові має діагностичне значення, його зменшення вказує на дисфункцію печінки, нирок або інших органів. Рівень альбуміну в крові характеризує протеїнсинтезувальну функцію печінки [313].

Дикі тварини мають свою специфіку розподілу біологічно ативних речовин, макро- і мікроелементів у крові та органах. Встановлення макро- та мікроелементного складу в окремих органах і тканинах різних видів тварин дасть змогу глибше розкрити біохімічні процеси в організмі, збалансувати раціони для окремих видів тварин за біологічно активними речовинами та макро- і мікроелементами. За вмілого використання природних ресурсів землі можна значно підвищити ефективність сільськогосподарського виробництва. Для цього необхідно зв’язати усі ланки в єдиний ланцюг: грунт–рослина–тварина–людина [149]. Подібні дослідження були проведені на плямистих оленях та маралах і присвячені порівняльній характеристиці вікових змін

морфометричних і цитологічних показників різних зон кіркової речовини наднирників [150,151,152,153].

Фракція γ-глобулінів в основному складається з імуноглобулінів [154,155,156]. Збільшення вмісту α-глобулінів спостерігається при запальних процесах, стресових впливах на організм (травми, опіки, інфаркт міокарда тощо), а також при деяких хронічних захворюваннях, злоякісних новоутвореннях [157]. У той час як за різних патологічних процесів, зокрема за атеросклерозу, цукрового діабету, нефротичного синдрому зниження вмісту α-глобулінів і зростання β-глобулінів. Зміна рівня гамма-глобулінів характерна для захворювань, пов’язаних із виснаженням та пригніченням імунної системи [158, 159].

Особливий інтерес представляють дослідження впливу біологічно активних речовин природного походження на співвідношення протеїнових фракцій крові та їх корекція у передзабійний період, тобто за стресового стану організму тварини, коли зростає рівень кортизолу [350]. Адаптація та стресочутливість тварин оцінюється у першу чергу за показниками крові, яка віддзеркалює зміни, що відбуваються в організмі.

Функціонуючою основою імунної системи є складний комплекс імунокомпетентних клітин (Т-, В-лімфоцити, макрофаги). На відміну від В-лімфоцитів, здатних розпізнавати антигени у розчині і зв’язувати протеїнові, полісахаридні і ліпопротеїдні розчинні антигени, Т-лімфоцити здатні розрізняти тільки короткі пептидні фрагменти протеїнових антигенів [295]. З літературних джерел відомо про вплив стресу різного характеру на Т- і В-клітинний імунітет [135,345,137,138,139,140,141,347], про механізм розвитку реакцій гомеостатичних систем на зовнішній подразник [143,144].

Деякі автори [160] повідомляють, що випоювання бройлерам, як самого настою з евкаліпту, так і з додаванням вітаміну С, мало стимулювальний вплив на активність Т-В-клітинної ланки імунітету. Кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілінрезистентних) і В-лімфоцитів у крові гусенят та індичат, яким додатково до раціону вводили вітамін Е, була більша, ніж

у контролі, вища функціональна активність імунокомпетентних клітин за рахунок перерозподілу авідності рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів, а саме збільшення кількості лімфоцитів із низькою і середньою щільністю рецепторів і зменшення недиференційованих у функціональному відношенні клітин. Констатовано стимулювальний вплив токоферолу на бластогенез Т-лімфоцитів крові індичат і гусенят дослідних груп [346].

Найпоширенішими об’єктоми імунологічних досліджень є кролики, що мають високореактивну імунну систему [161,162,163]. Порівняно з іншими тваринами кролики піддатливими до стресового стану, зокрема у результаті відлучення, перегрупування і транспортування тварин різних технологічних прийомів та за недостатньої фізичної активності [164,163].

Під час перевезення тварин підвищуються м’язовий тонус, діурез і дефекація, збільшуються рефлекторна збудливість і потовиділення. У результаті — загальна дегідратація організму, і, як наслідок, виникає гіпоксія м’язових і паренхіматозних тканин, що призводить до різкої інтенсифікації катаболічних процесів. Такі зміни в організмі виявляють впродовж 20–35 днів, а іноді й довше [161,165,166].

Стрес та імунодефіцитний стан організму невід’ємні один від одного: стрес пригнічує імунну реактивність організму, що призводить до порушення його стану і в результаті — до захворювань різної етіології. Стресовий чинник збуджує гіпоталамус, далі нейросекреторні клітини виділяють кортикотропін-рилізинг фактор. Чутливі до цього фактора клітини гіпофіза виділяють (АКТГ), під впливом якого наднирники секретують кортикоїди [147,148].

Сьогодні як одне з перспективних напрямів підвищення захисних сил організму є використання ІМД, які безпосередньо впливають на активізацію адаптаційних властивостей імунобіологічного статусу організму тварин [167].

1.3 Біогенні стимулятори метаболізму та їх використання

1.3.1 Засоби попередження негативного впливу передзабійного стану на організм тварин. Незважаючи на досягнення класичної медицини, яка впродовж тисячоліть базувалася на скальпелі та хімічних препаратах, сучасні лікарі успішно ведуть боротьбу з інфекційнимипроцесами, які ще півстоліття тому забирали мільйони життів, проводять ювелірні операції, у тому числі з пересадки органів, проте часто виявляються безсилими перед прогресуючими формами раку, СНІДом, цукровим діабетом, хворобою Альцгеймера. І як не дивно, саме в еру глобальної техніфікації подальший розвиток медицини, спрямований, перш за все, на боротьбу зі злоякісними новоутвореннями, СНІДом, тяжкими анатомічними аномаліями, пов'язують саме з необмеженим терапевтичним потенціалом організму хворого, а точніше з його власними стовбуровими клітинами, які після відповідної обробки можуть набувати властивостей унікальних ліків, здатних атакувати як злоякісні клітини, так і вірус імунодефіциту людини, або ж диференціюватися у структури нервової чи серцевої тканин.

У 1942 р. В. П. Філатов висунув гіпотезу тканинного лікування, згідно з якою у тваринних і рослинних організмах, а також у віддалених тканинах у процесі їх адаптації до несприятливих впливів, відбувається біохімічна перебудова і утворюються речовини з вираженою біологічною активністю — біогенні стимулятори, які допомагають органам і тканинам протистояти руйнівним факторам і введені в організм хворого підвищують його опірність та сприяють одужанню. В. П. Філатов підкреслював важливе значення принципу саморегуляції організму, широкий діапазон його пристосувальних можливостей, вважав, що поява біогенних стимуляторів під впливом несприятливих чинників середовища — загальний закон живої природи. В. П. Філатов писав, що біогенні стимулятори утворюються всюди, де ведеться боротьба за життя і пристосування до нових умов існування. Особливої уваги заслуговують дослідження про позитивний вплив тканинних препаратів на

обмінні процеси в організмі, зокрема біосинтез білків та його імунологічну реактивність[168].

Основні положення гіпотези тканинної терапії були сформовані у 1951 р.: спочатку біогенні стимулятори вводили в організм методом пересадок консервованих тканин, згодом — вприскували під шкіру за допомогою шприца. Отримані дані про хімічний склад стимулювальних речовин тканинних препаратів: у результаті переважання анаеробного обміну в ізольованих тканинах, які перебувають в умовах зниженої температури, у них накопичується велика кількість карбонових кислот і амінокислот з високою біологічною активністю.

Тканинна терапія почала широко застосовуватись на практиці: у комплексному лікуванні гінекологічних, онкологічних захворювань, за умов туберкульозу легень [169,170,171]. Тканинна терапія призначається у відновлювальному періоді за поліміеліту і має неабиякий ефект [172].

Ефективність тканинної терапії доведена і в геріатрії, особливо у боротьбі з передчасним старінням. У цьому нас переконують дані клінічних досліджень, проведених співробітниками Інституту геронтології АМН СРСР. Препарати консервованих за В. П. Філатовим тканин сприяють нормалізації життєвих функцій у старих і літніх людей [173].

Препарати плацентарної тканини мають сприятливий вплив на функцію серцево-судинної системи, покращують скорочувальну здатність міокарду, підвищують електроактивність серця. Під впливом тканинної терапії у людей похилого віку стимулюється ниркова діяльність, нормалізується андрогенна функція кори наднирників, суттєво покращується самопочуття [174].

Важливу роль тканинних препаратів у ветеринарії і тваринництві передбачив В. П. Філатов ще на початковій стадії розвитку цього методу терапії. Дослідження, проведені на тваринах, підтвердили високу біологічну активність тканинних препаратів не тільки для лікування і профілактики різних захворювань, але й з метою стимуляції фізіологічних функцій організму, для

підвищення засвоюваності поживних речовин і отримання більших приростів при відгодівлі домашніх тварин.

Клінічні та експериментальні спостереження свідчать про безсумнівну доцільність комбінації тканинних препаратів з вітамінами, антибіотиками, антикоагулянтами, ендокринними препаратами та іншими медикаментозними засобами, ефективність яких при цьому помітно посилюється і розширюються можливості застосування тканинної терапії у лікувальній медицині. Отримано чимало даних про активні компоненти тканинних препаратів, які виступають як індуктори біосинтезу. Наприклад, препарати з плаценти містять стероїдні гормони, через малі концентрації яких ці препарати не можуть розглядатись як виключно гормональні. Разом з тим при парентеральному введенні ці гормони самі по собі та у поєднанні з іншими речовинами мають виражений вплив на метаболізм. Вони можуть виступати як індуктори біосинтезу ряду ензимних протеїнів. Індукція біосинтезу протеїнів крові екстрактом алое яскраво продемонстрована в дослідах за допомогою радіоактивної індикації. Після парентерального введення цього препарату кроликам встановлено підвищення біосинтезу протеїнів сироватки крові, особливо після втрати крові. Включення мічених амінокислот у цьому випадку збільшувалось на 30 %. Слід вважати, що втрата крові знімає репресію біосинтезу протеїнів, і тому індукція його екстрактом алое особливо виражена [175].

Без сумніву, що одним з основних механізмів впливу біологічно активних речовин в тканинних препаратах є ензимні системи. Наявність специфічних компонентів або переважання якихось метаболітів у препараті може призвести до посилення або послаблення направленості окремих процесів, посилення анаболічних або катаболічних реакцій. У кінцевому результаті це відбивається на фізіологічному стані, зокрема виражається у підвищенні опірності організму.

Тканинні препарати містять цілий комплекс біологічно активних речовин, які завдяки індукції, репресії, інгібуванню, підвищенню енергетичного рівня різних ензимів, можуть впливати на метаболізм не тільки хворого, але й

відносно здорового організму. Ці препарати бувають дієві і тоді, коли нема вираженої патології: маючи у своєму складі індуктори, а, можливо, й інгібітори ензимів, вони обумовлюють постійну діяльність ауторегулюючих механізмів клітини і завдяки цьому стимулюють функціональну пластичність клітини, оскільки порушення індукції ензимів, природної реакції в клітині, що лежить в основі її функціональної пластичності, може призвести до ушкодження ауторегулюючих механізмів організму. Поряд з класичними фармакологічними тестами для перевірки біологічної активності тканинних препаратів застосовуються методи, в основі яких лежить властивість їх активувати ріст і розмноження клітин, здатність прискорювати процеси регенерації, впливати на обмін речовин, виявляти антитоксичну дію і підвищувати загальну опірність організму. Активність тканинних препаратів перевіряється також на їх здатності підвищувати фагоцитарні властивості лейкоцитів [100, 101, 102].

Використовуються наступні тести [176]:

Дріжджовий тест — заснований на властивості тканинних препаратів прискорювати ріст і розмноження дріжджових клітин. За величиною екстинкції показника електрофотоколориметра встановлюють процент активності препарату.

Роговидний тест — активність препарату оцінюють за впливом його на процес регенерації штучно викликаного дефекту рогівки ока жаби.

Парабіотичний тест — дію препарату оцінюють за швидкістю виходу зі стану парабіозу ізольованого м’язу жаби.

Антитоксичні тести — після введення в організм тварин тканинних препаратів знижується прояв токсичності специфічних фармакологічних речовин, що застосовуються в отруйних дозах: строфантину, стрихніну, дикумарину, ціаністого натрію.

Дослідження механізму дії тканинних препаратів на організм сприяє розробленню раціональних схем тканинної терапії, уточненню показань до її застосування і використанню з найбільшим лікувальним ефектом [176].

Тканинні препарати підвищують активність ензимів трансамінування: аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ). Закономірно посилюється також дія комплексу дегідрогеназ: гліцерофосфатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази і глютаматдегідрогенази, що особливо помітно в таких органах, як серце, печінка, нирки, слизова оболонка тонкого кишечнику. Підвищується активність найважливіших ензимів вуглеводного обміну [177].

Уведення тканинних препаратів викликає також реакцію зі сторони гормональної системи організму: збільшується утворення (АКТГ) і стимулюється виділення кортикостероїдів та підвищується продуктивність тварин [178]. Під впливом тканинних препаратів підвищується утворення в наднирниках стероїдних гормонів, у сечі збільшується кількість 17-кетостероїдів, підсилюється інкреторна функція сім’яників і підшлункової залози. Тканинні препарати підвищують метаболізм, пов’язаний з біосинтезом рибосомальної і ядерної білкової фракції клітин печінки[179].

Тканинні препарати викликають глибоку перебудову організму, що супроводжується зміною ряду важливих його систем. Як відомо, старіння супроводжується певним підвищенням концентрації холестеролу в крові і деяким його зниженням після 60 років [180]. Одночасно змінюється у зворотному порядку обмін лецитину — кількість його у плазмі крові помітно зменшується. Зворотна залежність між кількістю лецитину і холестеролу виражається коефіцієнтом лецитин/холестерол, який для людей середнього віку є в межах 1,0–1,1.

Пусковий механізм фізіологічної стимуляції тісно пов’язаний з усіма ланцюгами нейрогуморального апарату, який регулюється ЦНС, тому дія стимулятора відбувається не локально, а охоплює сукупність систем тваринного організму, забезпечуючи зміну біотонусу. Тому у практиці біотехнології розмноження і акушерства застосовують найрізноманітніші методи і засоби для інтенсифікації відтворення тварин [181,182].

Деякі автори вивчали гормональний склад тканинного препарату «Фетоплацентат» та його вплив на вміст статевих гормонів у крові нетелів [183]. Особливо ефективним є застосування іхглюковіту, катозалу і тривітаміну та тканинного препарату з плаценти кобили або корови для підвищення моторної функції статевих органів та синхронізації охоти у корів-первісток [184].

Л. П. Афанасієва [185] застосовувала коровам у сухостійний період за 14 днів до отелення двохкратне підшкірне введення тканинного препарату «Фетоплацентат» у комплексі з мінеральними добавками для дослідження вмісту Свинцю і Кадмію в материнській, фетальній частині плаценти, амніотичній рідині, корковому слизу корів, які знаходилися в радіаційно забрудненій та відносно чистій зонах.

У сучасних несприятливих умовах навколишнього середовища та при матеріальній скруті ветеринарної медицини, велике значення набуває підвищення загальної резистентності організму тварин при застосуванні неспецифічних стимулювальних препаратів [182, 186].

І. В. Паращенко [187] досліджувала ефективність одноразового підшкірного застосування біостимулятора ПДЕ, виготовленого з пуповини та плацентарних тканин людини, і комплексного його використання з внутрішньом’язовим уведенням тривітаміну. Уведення телицям парувального віку різних порід викликає прояв повноцінної стадії збудження та запліднення від першого осіменіння, скорочення строку прояву феномену охоти та зменшення кількості телиць, які проявляють статевий цикл вдруге.

У зв’язку з цим багато дослідників знову звернули увагу на відомі, але забуті засоби лікування — використання тваринної і рослинної сировини для виготовлення різних препаратів [188]. Увага біологів, фізіологів та клініцистів уже давно звернена на позитивний вплив компонентів плаценти на організм людини і тварин. Проте, за неодноразових спроб використання біологічних властивостей цих тканин, окремими авторами були отримані різні результати, що найбільш за все пов’язано з втратою активності екстрагованих речовин [181,

188]. У нашій країні цей метод набув широкого використання завдяки роботам В. П. Філатова, І. А. Калашника, М. П. Тушнова, Н. І. Краузе та ін. [181, 188].

Найбільшого поширення набули тканинні препарати В. П. Філатова, які практично нешкідливі, містять у собі такі природні фізіологічні сполуки, як органічні кислоти, у т. ч. і незамінні, комплекс вітамінів, макро- і мікроелементів [189,187].

Американські вчені з Університету Брауна встановили, що Put виконує суто захисну функцію при епілептичному нападі. Протягом декількох годин після приступу він перешкоджає активації і руйнуванню нейронів в головному мозку. Результати роботи опубліковані в журналі Nature Neuroscience. У тривалій серії експериментів на моделі епілепсії у пуголовків жаби виявили підвищення рівня Put в мозку після приступу і встановили, що Put перетворюється на γ-аміномасляну кислоту (ГАМК). Оскільки ГАМК є основним гальмівним нейромедіатором у нервовій системі, сприяє зниженню активності нейронів у ході їх генералізованої розрядки під час нападу і перешкоджає їх повторному збудженню, яке може призвести до розвитку нового нападу. Активний синтез Put триває до чотирьох годин після нападу епілепсії, і цього вистачає, аби захистити нейрони протягом найвідчутнішого «тимчасового вікна». Провідний автор роботи Карлос Айзенман вважає, що подальші дослідження цього механізму допоможуть у розробці нових лікарських препаратів для протиепілептичної терапії у дітей. «Ми описали нову роль амінів — захисний ефект для мозку, що розвивається, — цитує ученого портал EurekAlert. — Пуголовки і наші діти не дуже схожі один на одного, а ось хімічні процеси в мозку тих і інших мають багато спільного» [190].

Франк Мадео та вчені з університету Граца додаючи Spd в середовище одноклітинних і багатоклітинних організмів виявили, що дріжджі на живильному середовищі з додаванням цього поліаміну живуть у 3–4 рази довше, ніж без нього, а людські імунні клітини — майже в 3 рази. Тривалість життя мушок дрозофіл і мікроскопічних круглих черв’яків при додаванні в їх їжу Spd збільшувалася приблизно на 30 відсотків. У мишей, яких годували

їжею багатою на поліаміни, спостерігалося виражене зменшення вікового пошкодження білків організму. Імовірно, така дія Spd обумовлена його позитивним впливом на генетичну регуляцію процесу аутофагії. Він полягає у переробці клітиною своїх компонентів, пошкоджених зовнішніми чинниками, наприклад, ультрафіолетовим випромінюванням або хімічними окиснювачами. Коли аутофагія відбувається недостатньо інтенсивно, клітина переповнюється «відходами». Spd запобігає цьому, принаймні, частково [191].

Хронічне введення щурам починаючи з 6-місячного віку екстрактів ксеноорганів не впливає на зміну маси тварин, обумовлену фізіологічними причинами. Концентрація ТБКАП у плазмі крові дослідних тварин достовірно не відрізнялась від цього показника у контролі протягом усього строку спостереження (12 місяців). При уведенні суміші екстрактів 24-місячним щурам спостерігаються зниження активності пероксидації ліпідів в організмі та збільшення тривалості життя тварин.

Доведено, що використання суміші екстрактів печінки, селезінки та підшлункової залози свиней протягом 10 діб сприяє гальмуванню росту карциноми Герена у початковий період на 24,7 %, якщо введення починали відразу після трансплантації пухлини. При цьому збільшується тривалість життя щурів. Перевага використання тканинних і клітинних екстрактів у тому, що пацієнт одержує збалансовані сполуки природного походження, які впливають на метаболізм цілісного організму[192].

Можна припустити, що терапевтичний ефект ґрунтується на тому, що за умов введення в організм реципієнта фетальних клітин і тканин відбувається активація спеціалізованих і прогеніторних клітин, відновлення клітинного і тканинного гомеостазу.

Попит на тканинні препарати з кожним роком зростає, не тільки в нашій країні, але й за кордоном. Подальший розвиток тканинної терапії — принципово нового методу лікування — одна з актуальних задач теоретичної і практичної медицини.

Тканинні препарати, як стимулятори функціональної діяльності організму, близькі організму за своїм хімічним складом, нетоксичні і не мають побічної дії, ефективні при патологічних процесах, які важко піддаються лікуванню звичними ліками, тому доцільно продовжити вивчення хімічного складу препаратів, їх стандартизації та ідентифікації.

1.4 Біологічна роль поліамінів в регуляції стресових реакції організму та їх вплив на біохімічний та імунологічний статус тварин

1.4.1 Хімічна будова, функції поліамінів. Поліаміни (Spm — [H_2N–$(CH_2)_3$–NH–$(CH_2)_4$–NH–$(CH_2)_3$–NH_2], Spd — [H_2N–$(CH_2)_3$–NH–$(CH_2)_4$–NH_2], Put — [H_2N–$(CH_2)_4$–NH_2]) —обов’язкові компоненти усіх біологічних систем: від вірусів до клітин тварин та людини. Багато досліджень вказують на первинну роль поліамінів у регуляції різних біологічних процесів, що протікають в живій клітині. Регулююча дія поліамінів, мабуть, пов’язана з їх впливом на синтез протеїну і нуклеїнових кислот. В останні роки неабияка увага приділяється вивченню поліамінів, зокрема похідним поліметиламів (продуктів метаболізму морських організмів, павуків та комах, а також мікроорганізмів) — алкалоїдів тваринного походження. Ці алкалоїди є прекрасними моделями для розробки засобів та методів лікування багатьох захворювань не тільки тварин, а й людей. Практичне використання деяких синтетичних аналогів цих алкалоїдів полягає в розробленні сучасних препаратів для хелатної терапії надлишкового вмісту Феруму в крові, протитуберкульозних, антипроліферативних та імунодепресивних ліків [193].

Кристали Spm Antony van Leewenhoek виявив у спермі ще у 1678 р. [194]. Іншими представниками сімейства поліамінів є Spd і Put, молекулярна маса яких становить 150–350 Да. Концентрація цих речовин в біологічних рідинах у здорових людей підвищена у періоди фізіологічного росту, а також у хворих на псоріаз, у разі злоякісних новоутвореннях, за уремії [195].

Про важливість ролі поліамінів говорить той факт, що поліаміни залучені в збереженні структури ДНК [196,197], процесах експресії генів [198], диференціації клітин [199], синтезі позаклітинного матриксу [200]. При уремії доведеним ефектом поліамінів є пригнічення міграції поліморфно-ядерних лейкоцитів, продукції ними вільних радикалів Оксигену, зростання еритроїдних колоній [201], поступлення іонів Кальцію у клітини головного мозку [202], зростання активності NO-синтетази [203]. D. Stabellini зі співавторами [200] виділили поліаміни з розчину гемодіалізних хворих і хроматографічно розділили на чотири піки, два з яких містили Spm, Spd і Put. Молекулярна маса поліамінів становить від 1000 до 5000, що вказує на те, що поліаміни кон'югуються з різними білковими носіями. Виділені поліаміни і діалізуючий розчин впливали на синтез протеїну і позаклітинного матриксу у культурі клітин. Put, Spd та Spm виявлені в ядрах клітин усіх органів людини. Ці поліаміни мають великий позитивний заряд, легко зв'язуються з негативно зарядженими молекулами ДНК та РНК, входять до складу хроматину і беруть участь у реплікації ДНК, стимулюють транскрипцію і трансляцію та в інших важливих біологічних реакціях.

Цікавими є дослідження, які пов'язані з вивченням добових та сезонних коливань концентрації поліамінів та їх впливу на активність окремих ензимів синтезу протеїну, нуклеїнових кислот.

Основна увага до поліамінів, як можливих регуляторів погодинного ритму синтезу протеїну пов'язана з такими напрямами: 1) поліаміни стимулюють синтез протеїну, або підтримують його на певному рівні; 2) для поліамінів відомий погодинний ритм концентрації; 3) час півжиття ключового ензиму біосинтезу поліамінів — ОДК (КФ 4.1.1.17) — лише декілька хвилин; основний спосіб підвищення активності цього ензиму — синтез нових молекул, 4) погодинний ритм активності ОДК [194].

Діамін — Put, утворюється при декарбоксилуванні L-орнітину. Процес каталізується ОДК; Put — субстрат для синтезу Spd. У прокаріотів можливий інший шлях утворення Put — з метіоніну. Концентрація орнітину

підтримується в циклі з перетворенням орнітину в напівальдегід глютамінової кислоти, потім у глютамінову кислоту, карбамоїлфосфат, аспарагінову кислоту, аргінін і знову в орнітин з виділенням сечовини. ОДК активна в комплексі з піридоксаль-5'-фосфатом [204,205]. ОДК і поліаміни знайдені у всіх вивчених клітинах. Давно була відмічена кореляція між інтенсивністю росту тканин, активністю ОДК і концентрацією поліамінів в ембріонів, при регенерації, гіпертрофії, рості пухлин (перший огляд: [206]). Так, активність ОДК підвищується в 10 разів під час дроблення бластомерів і далі ще на порядок [207,208]. Специфічне гальмування активності ОДК аналогами субстрату призводить до зупинки ембріонального розвитку морського їжака або миші [205]. Одним із доказів впливу поліамінів на транскрипцію і трансляцію отримано в дослідженнях мутантів з дефіцитом поліамінів [209]. Такі мутанти погано ростуть, а додавання поліамінів стимулює ріст. У тканинах, які не оновлюються та не ростуть, активність ОДК значно нижча, ніж у проліферуючих, наприклад в мозку або в скелетних м’язах у 15–20 разів нижча, ніж у тонкому кишечнику. У печінці, яка не піддавалася ніякому впливу дорослого щура активність ОДК приблизно така ж, як в мозку, але після індукції проліферації, після часткової гепатектомії активність ОДК різко зростає [209,210]. Це ж саме відбувається й при гіпертрофії серця [211]. Фізіологічно активними є Spd і Spm, а Put використовується в основному як попередник поліамінів. Позитивний заряд поліамінів дозволяє їм зв’язуватись з різноманітними негативно зарядженими молекулами. Так, поліаміни абсорбуються на мембранах, впливаючи на активність зв’язаних з мембранами ензимів, наприклад на ацетилхолінестеразу [212]. Поліаміни можуть утворювати амідні зв’язки з кислотами. На цій основі відбувається, наприклад, кон’югація поліамінів з амінокислотами і малими пептидами. Можливі і коливання зв’язку між поліамінами і протеїнами, що є одним зі способів виведення надлишку поліамінів. Утворення кон’югатів відбувається у печінці і каталізується трансглютаміназою.

Електростатичні поліаміни зв'язуються з нуклеїновими кислотами змінюючи їх активність [212,213,214,215]. Під дією Spd посилюється синтез тРНК, змінюється конформація їх молекул і аміноацил-тРНК комплексів. У фракції тРНК, виділених із різних джерел, завжди знаходять поліаміни. Spd може також зв'язуватись з РНК рибосом, змінюючи їх стан. У меншій мірі ці властивості характерні і для Spm, який активніше взаємодіє з ДНК, впливаючи на конденсацію хроматину. Змінюючи конформацію негістонових білків хроматину, поліаміни сприяють їх фосфорилюванню, очевидно, роблячи ці протеїни більш зручним субстратом для дії протеїнкіназ.

Допускають, що ОДК — фактор ініціації РНК-полімерази I — ензиму синтезу рибосомних РНК [216]. Авторадіографічні дослідження з використанням ^{3}H-дифторорнітину показали, що ОДК локалізується як в цитоплазмі, де реалізується основна функція цього ензиму, так і в каріоплазмі і в ядерці [217]. Відомі, однак, приклади значніших впливів поліамінів на трансляцію, ніж на транскрипцію. Додавання в середовище з клітинами, які мають дефектними за синтезом поліамінів, Spd, призводить до збільшення концентрації білків в клітинах, що відбувається раніше, ніж посилюється синтез РНК [212].

На відміну від ОДК, час життя якої зазвичай 5–10 хв, поліаміни живуть досить довго. Час життя Spd у печінці щура приблизно 4 доби, в мозку — 10–18 діб, а Spm в різних тканинах — 10–40 діб [206,209,218]. У клітинах *in vitro* час життя і запаси поліамінів, можливо, менші, ніж у клітинах *in vivo*. Про це можна судити за гальмуванням мітозів, за скороченням їх проходження в клітинах, відразу після порушення синтезу поліамінів. Так, після блокування синтезу ОДК метилорнітином в культурах CHO, 3T3 і HELA, накопичуються двохядерні клітини, потім G_2-клітини, при великих дозах інгібітора синтез ДНК припиняється [209].

На синтез протеїну впливає як накопичення в клітинах поліамінів, так і в їх перетворення і катаболізм. Spm перетворюється в Spd у реакції, каталізуючої пероксисомної поліаміноксидази. Spd може перетворюватись в Put. Так, деякі

гепатоксини активують спермідинацетилтрансферазу, каталізуючи утворення Put зі Spd.

Пряма регуляція синтезу ОДК здійснюється через рецептори гормонів на плазматичній мембрані і далі через цАМФ і цГМФ, які активують відповідні протеїнкінази. Цей шлях зумовлюється кінетикою активності цАМФ-залежної протеїнкінази і ОДК. Так, при зміні середовища в культурі клітин гліоми спочатку активуються цАМФ-залежні протеїнкінази і лиш тому зростає активність ОДК і концентрація Put. Вважають, що через цАМФ посилюється синтез поліамінів у печінці, нирках, гіпертрофованому серці. Оскільки активність ОДК посилюється і стероїдами, можливий і геномний, незалежний від цАМФ, шлях стимуляції синтезу ОДК. Встановлені погодинні ритми деяких гормонів, які діють через рецептори плазматичної мембрани: тіреотропного, фолікулостимулюючого, лютеінізуючого та ін. Через рецептори плазматичної мембрани синтез цАМФ і ОДК може посилюватись катехоламінами, пептидними та іншими нестероїдними гормонами. Відмічений і зворотний зв’язок. Надлишок поліаміну знижує активність аденілатциклази в печінці щура.

Гальмуюча дія на синтез ОДК виявляється головним чином через утворення ОДК-антиензиму — протеїну, який керує протеїнкіназною активністю [217]. Така поліамінозалежна протеїнкіназа, інактивуюча ОДК, виділена зі слизневого гриба. Синтез ОДК-антиензиму стимулюється Put і його аналогами, наприклад, Kd (Кадаверин). У цих випадках ОДК — ключовий ензим біосинтезу поліамінів, а точніше синтезу Put, контролюється кінцевим продуктом реакції. Синтез Put конкурентно інгібується аналогами субстрату, наприклад, метилорнітином.

Є дані, які показують, що активність ОДК регулюється в основному на рівні цитоплазми і, головним чином, за допомогою механізму трансляції. Алостеричні впливи на ОДК ссавців відомі тільки для низькомолекулярних тіолів. Без них швидко виявляються неактивні форми ОДК. Так як і ОДК, спермінсинтетази модифікуються малими тіолами [216].

Враховуючи широкий спектр дій цАМФ на внутрішньоклітинні процеси, його ефекти не є прямими. Однак цАМФ і цГМФ, нерідко забезпечуючи рецепторний контроль функцій, можуть бути основою ритмічності фізіологічних і біологічних процесів. Зміни концентрації поліамінів також впливають на процеси, які відбуваються в клітині [216].

Активність ОДК в гістозрізах навколовушної залози *in vitro* зазнає таких же змін, як і концентрація цАМФ. Встановлено погодинний ритм ОДК [216], причому максимальні значення її активності відрізнялись від мінімальних у 5–10 разів. Періоди коливань ОДК (30–50 хв) були близькі до коливань цАМФ і швидкості синтезу протеїну в гістозрізах залози. На зрізах однієї і тієї ж залози показано, що ритм ОДК зміщений за фазою відносно ритму швидкості синтезу протеїну: максимуму активності ОДК відповідає мінімальний синтез білків залози, а потім синтез білків посилюється.

В літературі немає даних про кінетику ОДК у подрібненій ікрі. Однак відомі концентрації поліамінів в цьому об’єкті. Є дослідження, які підтверджують погодинні ритми в рівнях поліамінів. Перший максимум коливань концентрацій Put спостерігали через 15 хв після запліднення, Spd — через 30 хв, Spm — приблизно через 40 хв. Про регулюючу дію поліамінів на ритм поділу говорять дослідження фактора активації ДНК-полімерази [219].

Можливість участі поліамінів в регуляції ритму синтезу протеїну була обумовлена в дослідженнях з інгібуванням активності ОДК продуктом реакції Put. Ефект інгібування ОДК був описаний для клітин *in vivo і in vitro*. Зазвичай в клітинах еукаріотів концентрація Put дуже низька, і екзогенний Put легко проникає в клітини. Так мутантні клітини, слабо синтезуючи Put, поглинають його з середовища як шляхом дифузії, так і проти градієнта концентрації.

Низькі концентрації Put у середовищі з гепатоцитами *in vitro* або зі зрізами біля вушної залози не змінювали інтенсивність синтезу протеїну. Зрізи залози інкубували у середовищі з Put 6 год, змінюючи середовище через 3 год, а гепатоцити *in vitro* інкубували 3 год. (час життя Put біля 2 год). У середовищі з Put pH доводили до 7,2–7,4, що відповідало контрольному середовищу.

У моношарі гепатоцитів через 1–3 доби культивування спостерігали звичайний ритм швидкості синтезу протеїну. У гепатоцитах тієї ж культури при інкубації останні 3 год у середовищі з 10^{-8}M Put, ритм не виявився [219].

Активність ОДК змінюється в різні пори року. У березні активність та інтенсивність синтезу ензиму була значно нижча, ніж у жовтні і, особливо, в лютому. У березні знижений рівень синтезу протеїну в навколовушній залозі. Добовий ритм ОДК: її активність в ночі в 2–3 рази вища, ніж вдень.

Таким чином, поліаміни можуть бути фактором нестабільності синтезу протеїну і конкретно погодинних його коливань.

За дії на організм чинників навколишнього середовища, особливо в екстремальних умовах, значно змінюється метаболізм білків і нуклеїнових кислот. Охолодження організму призводить до значних змін метаболізму в цілому, перш за все в обміні білків.

Штучна гіпотермія викликає зниження, і як внаслідок, припинення включення амінокислот у протеїни плазми всіх органів, що свідчить про припинення процесів синтезу протеїну [220]. Є дані про повне пригнічення синтезу протеїну у період гібернації [221].Відомо, що поліаміни беруть участь у стабілізації молекул ДНК і, тим самим, запобігають її денатурації [222, 223].

Put та інші поліаміни беруть участь у регуляції модифікації білків: інгібують активність протеїназ рибосом [224]. За різних стимулюючих (фізіологічних і фармакологічних) впливів активність ключового ензиму ОДК, що визначає рівень синтезу поліамінів, зростає [225].

Фізико-хімічні властивості поліамінів визначили їх вплив на метаболізм клітини через модифікацію активності ряду ензимів. Вплив поліамінів на протеїни мозку за низьких температур може бути пов’язаний з їх здатністю утворювати комплекси із структурними компонентами мембран. Put, Spm і Spd знижують рівень автогемолізу еритроцитів [226]. Про мембранний ефект свідчить зниження вмісту цАМФ в культурі нервових клітин при додаванні (10^{7}) Put, а висока концентрація стимулює накопичення цАМФ.

Вплив на активність ензимів певною мірою може залежати від здатності Spm і Put інгібірувати процес перекисного окиснення ліпідів при гіпотермії [227]. З цією здатністю може бути пов'язана стабілізувальна дія поліамінів на лізосомальні мембрани мозку при гіпероксії [228].

Поліаміни впливають на активність різних ензимів, які беруть участь у синтезі і метаболізмі ДНК і можуть стимулювати або інгібувати активність ДНК-полімерази [229]. У клітинах ссавців поліаміни стимулюють ініціацію синтезу ДНК, а також впливають на реплікацію ДНК [222]. У дослідах *in vitro* поліаміни стимулюють активність залежної для ДНК РНК-полімерази [230].

Вплив поліамінів поширюється і на інші ензими, що беруть участь в метаболізмі нуклеїнових кислот ДНК-ази, РНК-ази, нуклеотидилтрансферази та ін.), що вказує на тісний зв'язок метаболізму нуклеїнових кислот з поліамінами.

Так як поліаміни є компонентами протеїнсинтезувального апарату, то вони беруть участь в біосинтезі протеїну і діють як на рівні трансляції, так і на рівні транскрипції, а також стабілізують структуру рибосом і полісом. Важлива роль поліамінів полягає в ініціації утворення пептидів шляхом зміни конформації рибосом [229]. Показано, що Put має протисудомні властивості [231], а також разом із Spm бере участь в захисті клітинного хроматину від іонізуючої радіації [223].

Поліаміни відіграють важливу регуляторну роль, головним чином у процесах, пов'язаних з біосинтезом білків і нуклеїнових кислот. Біосинтез білків і нуклеїнових кислот зазнає істотних змін при дії на організм екстремальних чинників середовища і за різних патологій.

Завдяки своїм физико-хімічним властивостям поліаміни виконують функції адаптогенів, підвищують резистентність організму до дії екстремальних чинників середовища. Тому вони можуть бути викиростані для нівелювання перед забійного стресу та підвищення резистентності тварин. Захисний ефект поліамінів виявляється в регуляції інтенсивності вільнорадикальних реакцій, перекисного окиснення, активності ряду ензимів, стабілізації біомембран. Недивлячись на те, що молекулярно-біологічні функції

поліамінів до кінця нез'ясовані, абсолютно очевидно, що вони відіграють важливу роль в метаболізмі і функціонуванні протеїнів, нуклеїнових кислот та інших макромолекул.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

Грабовський С. С. Ритми синтезу білків під впливом поліамінів / С. С. Грабовський // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького. — 2010. — Т. 12. — № 3(45). — Ч. 2. — С. 41–50.

1.4.2 Метаболізм поліамінів та їх перетворення у шлунково-кишковому тракті. Історія досліджень біогенних поліамінівSpm і Spd бере початок в другій половині XVII століття, коли Антуан Левенгук виявив у сім'яній рідині невідомі кристали [194], які через 250 років були ідентифіковані як фосфат Spm [232]. Сучасна біохімія поліамінів сформувалася лише в кінці 60-х років минулого століття після відкриття ОДК у савців [233,234], і в першу чергу завершило формування уявлень про систему біосинтезу Put, Spd та Spm) [235]. На початку 70-х років XX століття було встановлено, що клітини пухлин мають підвищений, порівняно з нормальними, вміст поліамінів [236], що послужило потужним імпульсом для розвитку молекулярної біології та біохімії поліамінів.

Поліаміни виявлені у всіх живих організмах (тваринах, рослинах, водоростях, грибах, бактеріях та вірусах). Spm, Spd, Put та Kd присутні у тканинах та біологічних рідинах. У нормі Spm, Spd і їх попередник Put присутні в усіх клітинах в мікромолярних або навіть мілімолярних концентраціях і життєво необхідні для нормального росту [237,238]. Тканини еукаріот містять Spm та Spd у мілімолярних, тоді як Put — у наномолях концентраціях. У прокаріот концентрація Put вища від концентрації Spd. Крім цього, у більшості з них, за виключенням деяких видів бактерій, відсутній Spm [239]. У людини найбільше Spm і Spd міститься у підшлунковій залозі (7–8 мМ) [240]. За даними інших авторів, крім підшлункової залози, поліаміни у великій кількості є у тимусі та в інших залозах, також у печінці, тобто в органах, де

відбувається інтенсивний синтез протеїнів [241,242]. Зменшення внутрішньоклітинної концентрації Spm і Spd призводить до уповільнення росту та апоптозу клітин. Високий вміст при фізіологічному значенні pH протонованих Spm і Spd *a priori* визначає різноманітність їх клітинних функцій, більшість з яких описується як специфічна електростатична взаємодія з негативно зарядженими макромолекулами, у першу чергу ДНК і РНК, а також нуклеопротеїдними комплексами, ділянками мембран і рецепторів [237,243].

Подібно до моноамінів, поліаміни утворюються у результаті декарбоксилування амінокислот, їх метаболізм тісно пов'язаний з багатьма важливими перетвореннями останніх. У тканинах тварин Put утворюється під дією L-орнітиндекарбоксилази на L-орнітин. У бактерій та рослин є інший шлях — декарбоксилування та гідроліз аргініну. Основними ензимом біосинтезу поліамінів є піридоксаль-5′-фосфат-залежна ОДК (КФ 4.1.1.17) і піруват-залежна *S*-аденозилметіоніндекарбоксилаза (AdoMetDC), а у процесах катаболізму поліамінів головна роль відводиться спермін/спермідин-*N*1-ацетилтрансферазі. L-орнітиндекарбоксилаза — один з небагатьох ензимів тварин, період піврозпаду (t 1/2) якого становить 10–30 хв за нормальних умов. Біосинтез цих ензимів регулюється на транскрипційному та трансляційному рівнях, причому основні принципи регуляції встановлені як для нормальних, так і для пухлинних клітин [238,243]. Клітини мають систему активного транспорту поліамінів, яка вносить істотний вклад у внутрішньоклітинний вміст поліамінів, поставляючи до 30 % необхідних кількостей Spm, Spd і Put. Центральна роль у підтримці гомеостазу поліамінів у клітині відводиться невеликому (ММ 27000) білку антизиму (AZ), біосинтез якого індукується у відповідь на підвищення внутрішньоклітинного вмісту Spm і Spd [244]. AZ, з однієї сторони, блокує поступлення екзогенних поліамінів ву клітину, з іншої — викликає дисоціацію ОДК на субодиниці і забезпечує їх доставку в 26S протеосоми [245].

Усе це дозволяє швидко і ефективно регулювати рівень поліамінів у клітинах [246] дією L-орнітиндекарбоксилази на L-орнітин (Рис. 5).

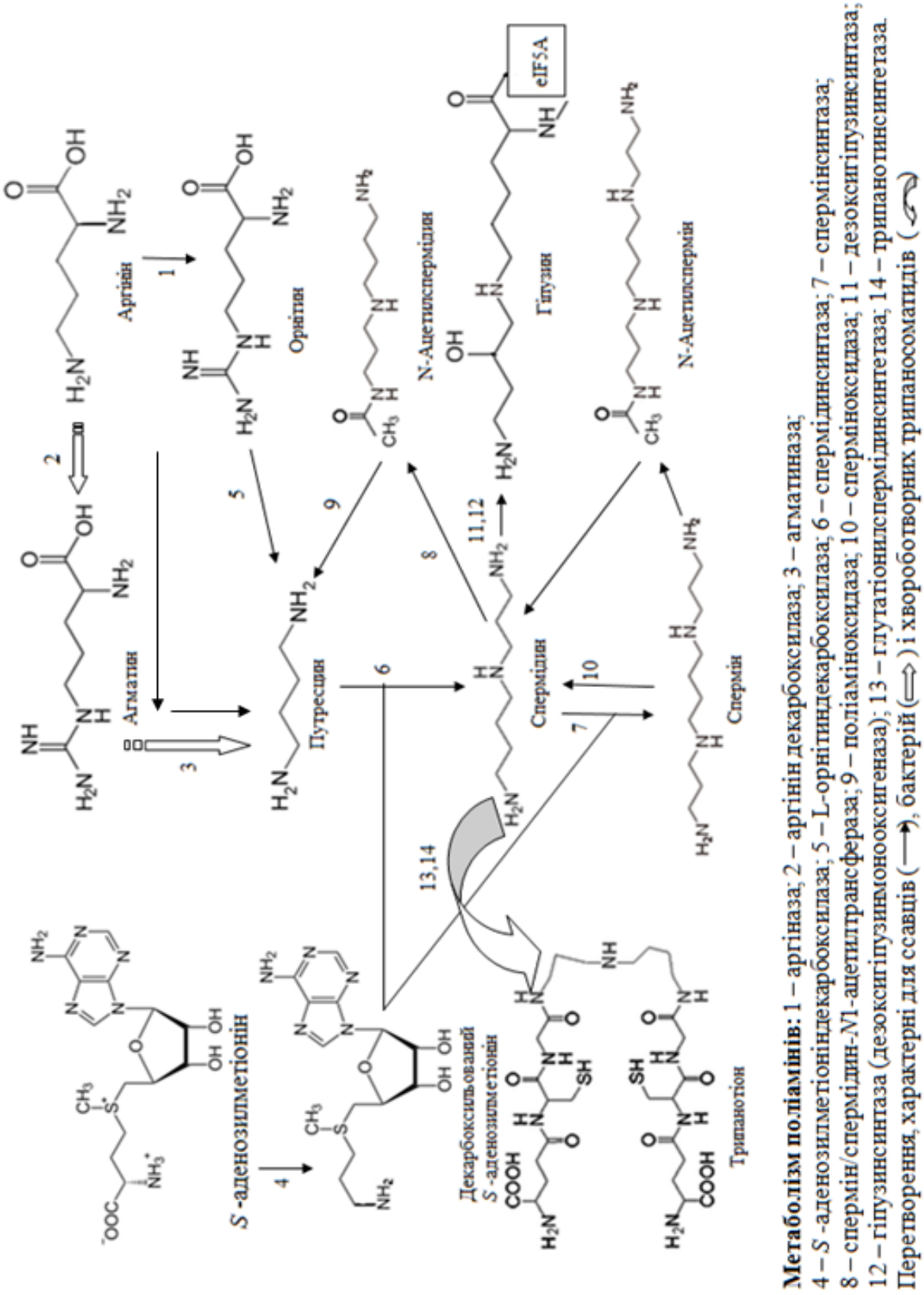


Рис. 5. Метаболізм поліамінів

Джерела поліамінів. Люмінальні (внутрішні) поліаміни є харчового та бактеріального походження. Епітеліальні клітини, виділяючи їх із верхівок ворсинок, також роблять внесок у вміст внутрішніх поліамінів. Спроби визначити важливість поліамінів як харчового, так і бактеріального походження показують, що пацюки з масою тіла 100 г щоденно споживають близько 16 мкмоль поліамінів харчового походження; 3–4 мкмоль мають від бактеріального походження і 14 мкмоль — із синтезу *de novo*. Середня добова доза споживання Put, Spd та Spm людиною за нормального харчування становить близько 220, 100 та 70 мкмоль відповідно [247]. Через труднощі у точному визначенні параметрів, необхідних для цих розрахунків, дані можуть бути неточними. Однак, немає ніяких сумнівів, що поліаміни внутрішнього просвіту кишечнику відіграють ключову роль у регуляції гомеостазу поліамінів в організмі ссавців.

Поглинання поліамінів із просвіту кишечнику. Підвищене використання екзогенних поліамінів є необхідним, якщо синтез *de novo* порушується або, коли потреба у поліамінах збільшується, наприклад, у зв'язку із розвитком стресової ситуації. Зростання поглинання Put спостерігалося у новонароджених щурів [248]. Такий препарат як кленбутерол посилює вплив лектинів на поглинання поліамінів з *lumen* [249]. Концентрації поліамінів у кишковому хімусі відрізняються у різних видів і залежать від типу годівлі [250]. Близько 90 % — «вільні», тобто не зв'зані ковалентними зв'язками з протеїнами [251]. Негативний градієнт, який припадає на Put від голодної до клубової кишки вказує на швидку абсорбцію поліамінів з просвіту кишечнику [251].

Окремі дослідження демонструють поглинання поліамінів з просвіту кишечнику. Після використання всередину просвіту кишечнику міченого [C^{14}]-Put, Spd або Spm, і перфузії у тонкий відділ кишечнику, таким шляхом як через артерію, у ворітній вені через 10 хв було виявлено 61–76 % радіоактивності [252]. Цікаво, що люмінальні поліаміни підсилюють транспорт глюкози у тонкому кишечнику на межі мембрани [253]. Через 30 хв після

внутрішньошлункового введення [C14]-Put, радіоактивність було виявлено в усіх сегментах кишки, у крові та в різних органах дорослих щурів, головним чином як Put, так і амінокислот, з яких утворюються поліаміни. Крім того, під час перфузії Put із просвіту тонкого кишечнику здорових добровольців, 60–80 % Put зникли із просвіту пропорційно з часом. У крові не було відновлено Put, натомість стійке збільшення Spd та Spm було встановлено після транзитного збільшення ацетильованих поліамінів, що вказує на їх утворення із Put та вивільнення в різних органах [254]. Із цих та інших досліджень очевидним є те, що трансепітеліальне транспортування Put відбувається за рахунок дифузії. Цей висновок ґрунтується в основному на тому факті, що жоден з потоків поліамінів, не був ні насичуваним, ні залежним від температури [255]. IEC-6 клітини (крипта кишки щура) мають типову систему поглинання поліамінів. Як і в більшості проліферуючих клітин, поглинання залежить від температури. Put, Spd, та Spm, очевидно, використовують один і той самий транспортер. Дослідження на ізольованих ентероцитах щурів мають схожі властивості [256,257]. Мембрани кишок кролика, очевидно, мають вибіркові ділянки для зв’язування Put. Put та Spd використовують один і той самий елемент для приєднання, і можуть бути асоційовані із транспортною системою. Завдяки більшій кількості позитивних зарядів, Spm зв’язується більш щільно, ніж Spd і Put до аніонних місць мембран. Відомо, що метилгліоксаль-біс (гуанілгідразон) розділяє транспортну систему із поліамінів [258]. Він є сильним конкурентом Put, але не Spd та Spm. На теперішній час прийнято вважати, що поліаміни поглинаються епітеліальними клітинами через носій-опосередкованого активного транспорту. У шлунково-кишковому тракті курки, спорідненість Put до транспортера збільшується від дванадцятипалої кишки і голодної кишки до клубової кишки. Spd і Spm конкурують за поглинання із Put, використовуючи один і той же транспортер для поліамінів [259]. Для вивчення поглинання поліамінів із простору кишково-шлункового тракту використовували везикули ізольованих базолатеральних мембран. Була виявлена секреція Put через базолатеральну мембрану [260]. Із

зазначених вище результатів стала очевидною наступна схема трансепітеліального переміщення природніх поліамінів [261] (Рис. 6).

Значна частина Put і Kd проходить через парацеллюлярний маршрут в лімфатичну систему дифузією. Поліаміни також поглинаються ентероцитами як з просвіту кишечнику, так і з високоспоріднених транспортних систем.

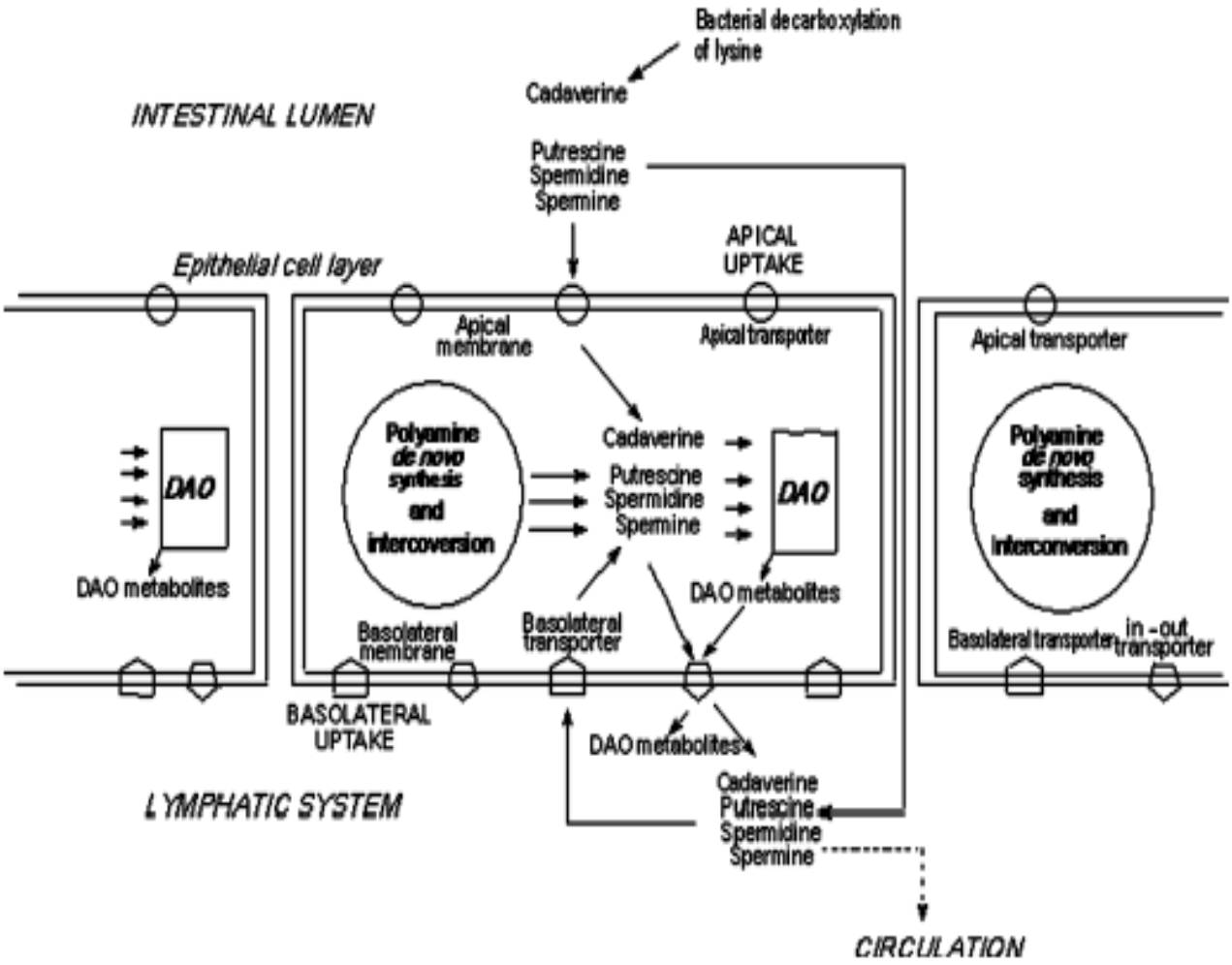


Рис. 6. Кишечні трансепітеальні та епітеальні схеми руху поліамінів через базолатеральну мембрану

Утилізація та метаболізм кишкових поліамінів. Перші дослідження про утилізацію організмом ссавців шлунково-кишкових поліамінів харчового і бактеріального походження пиказали, що при застосуванні антибіотиків та

перебуванні на поліамін-дефіцитній дієті покращувалися протипухлинні властивості шлунково-кишкового тракту [262].

In vivo дослідження участі люмінальних поліамінів показали як швидкий розпад Put, так і його перетворення в Spd і Spm [263]. Не тільки люмінальний Put, але й Put, що входить в кругообіг з черевної порожнини, швидко розкладається до CO_2 через α-аміномасляну кислоту як посередник метаболіту. На противагу, Put, що поглинається ворсинками голодної кишки, метаболізувався повільніше, наводячи на думку, що диаміноксидаза контролює базолатеральне поглинанням Put. Інші поліаміни розкладаються в основному в нирках та печінці. Також є можливим розпад в межах обміну, оскільки диаміноксидаза постійно вивільняється із ентероцитів через лімфатичні судини. Це вивільнення регулюється поживними речовинами. Не залишає сумнівів вплив харчових поліамінів на ріст пухлин, оскільки харчові поліаміни спроможні підтримувати їх ріст у ситуації обмеженої наявності *de novo* синтезованих поліамінів [264] (тобто за рахунок інгібування ОДК).

1.4.3 Молекулярні механізми участі поліамінів у загибелі клітин апоптозом. Основні молекулярні механізми участі поліамінів у функціонуванні збудливих тканин показано на (Рис. 7). Такими механізмами є: здатність поліамінів стабілізувати цитоскелет клітинних мембран через взаємодію з фосфоліпідами [265,266,267]; неспецифічна антиоксидантна дія [268]; виконання функції модулятора мембранних рецепторних іонофобних комплексів, таких як NMDA-, AMPA-, нікотинових і ГАМК-рецепторів [269,270,271]; здатність регулювати стан K^+- і Na^+-каналів і АТФ-чутливих K^+- і мускаринових рецепторів [272,270]; залучення до регуляції потоку іонів Ca^{2+} через клітинні мембрани [273,274]; залучення в інші системи вторинних месенджерів G-білків, протеїнкіназ, нуклеотидциклаз, що характеризує їх не лише як внутрішньоклітинні сигнальні молекули, але й самостійні сигнальні системи [270]; потенціалзалежного

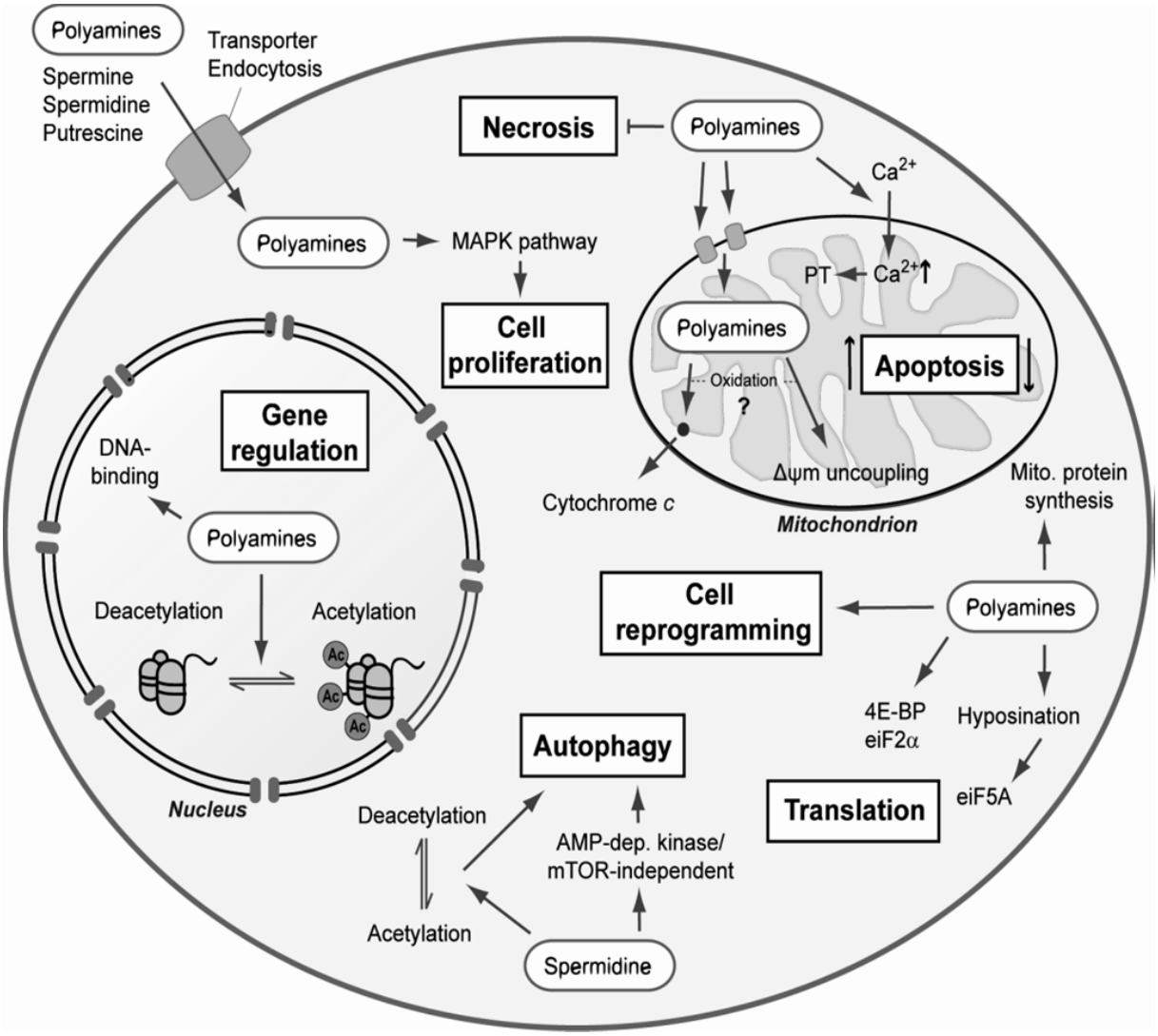


Рис. 7. Основні молекулярні механізми участі поліамінів у функціонуванні клітини [109]

впливу на активність мембран зв’язаних ензимів (Na, K-АТФаза, ацетилхолінестераза та ін.) [275,276]; регуляція метаболізму NO, катехоламінів, глутамату і ГАМК [277, 270]; специфічна взаємодія поліамінів усередині клітини з нуклеїновими кислотами (РНК і ДНК) [268, 209], участь в організації хроматину, трансляції мРНК, регуляції біосинтезу протеїну, генезисі рибосом [278, 265]; прояв як про- так і антиапоптичної дії і регуляція процесів проліферації, диференціювання, росту і розвитку [279,280,281]; регуляція посттрансляційної модифікації білків і міжклітинної взаємодії [282,283]; участь в експресії більше 300 генів [284,285]; регуляція активності багатьох ензимів [270]. Тому цілий ряд вчених проводять дослідження вмісту поліамінів

у продуктах харчування та їх використання в дієтології [286,287]. Введення спермідину, внутріклітинна концентрація якого знижується з віком, помітно збільшує тривалість життя дріжджів, мух і черв'яків, а також імунних клітин людини, що, як вважають автори [288,289], пов'язано із здатністю спермідину запобігати розвитку окиснювального стресу і загибелі клітин за типом некрозу.

1.4.4 Висновки з огляду літератури та вибір напрямів досліджень. Аналіз даних літератури свідчить про неабияке зацікавлення до вивчення впливу біологічно активних речовин, зокрема ліпідів, пептидів і поліамінів, одержаних з органопрепаратів, що є одним із досягнень клінічної біохімії та біології загалом. Розкриття суті та ролі цих сполук у метаболічних процесах має не лише важливе пізнавальне, але й велике практичне значення.

З іншого боку, на сьогодні цікавим моментом для пізнання, вивчення і встановлення дії пептидів, ліпідів, поліамінів на організм тварин у стресових реакціях саме у передзабійний період ще недостатньо вивчено. Зважаючи на те, що за п'ять днів до забою не можна використовувати жодних фармакологічних засобів — основні переваги запропонованого нами методу полягає не тільки в зручності використання, а й у самій можливості їх впровадження, як депо біологічно активних речовин природного походження. Більше того, уже є багато досліджень, спрямованих на вивчення впливу застосування аргініну, фосфатидилхоліну та поліамінів, як дієтичних речовин.

Досі ще невідомо, яка доза поліамінів є фізіологічною, а яка — токсичною. За умов введення додатково у раціон людини і тварин поліамінів різної концентрації, може порушуватися фізіологічна рівновага, викликаючи різноманітний ефект, у тому числі негативний вплив на організм у цілому. Тому краще застосовувати будь-які препарати спочатку на тваринах, але в жодному разі не на людях. Людина повинна вживати біологічно цінну продукцію від здорових тварин, яких не піддавали сильному впливу негативних чинників під час проведення забою.

Ми запропонували використовувати біологічно активні речовини *per os*, попередньо наносячи на сухий корм аерозольним методом, як найбільш зручним в годівлі домашніх тварин.

Зважаючи на те, що застосування поліамінів збільшує тривалість життя таких експериментальних організмів, як дрозофіли та миші, регулює процеси аутофагії, позитивно впливає на імунну систему у ранньому віці ссавців, і людей зокрема — вважаємо за доцільне запропонувати використання біологічно активних речовин з екстракту селезінки у передзабійний період для нівелювання стресу та стимулювання імунітету тварин і тим самим покращення якості їх продукції.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконана у 2004–2014 роках на кафедрі біологічної та загальної хімії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького за тематикою: «Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забоєм» (номер державної реєстрації 00492990). У процесі виконання дисертаційної роботи для вивчення питань, які випливали з мети та завдань досліджень, було проведено сім серій дослідів. Загальна схема досліджень представлена на рисунку 8. Модельний дослід проводили на білих статевозрілих лабораторних щурах — самках лінії Вістар, на кроликах породи сірий велетень у с. Соколівка, Буського району, Львівської області (Приватний підприємець Яремчук М. С.), на свинях породи Петрен в господарстві ТзОВ «Лемберг-Агро» Львівська обл., Жидачівський р-н, м. Ходорів — Керівник ТзОВ Іванець Н. В., на курчатах-бройлерах, яких утримували на стандартному раціоні ТзОВ «Великолюбінське» смт Великий Любінь Городоцького р-ну Львівської обл., бугайцях української чорно-рябої молочної породи дослідного господарства смт Комарно Львівської обл. В експерименті також були задіяні люди, які споживали м’ясо курчат-бройлерів від двох груп (яким в передзабійний період додатково застосовували препарат селезінки та без використання біологічно активних речовин перед забоєм).

2.1 Схема досліджень

Дослідження виконані за чотирма напрямами (Рис.2.1). Перший напрям стосувався встановлення необхідності використання адаптогенів та імуностимуляторів перед забоєм тварин. Другий напрям досліджень — це одержання біологічно активних речовин з екстракту селезінки та перевірка його

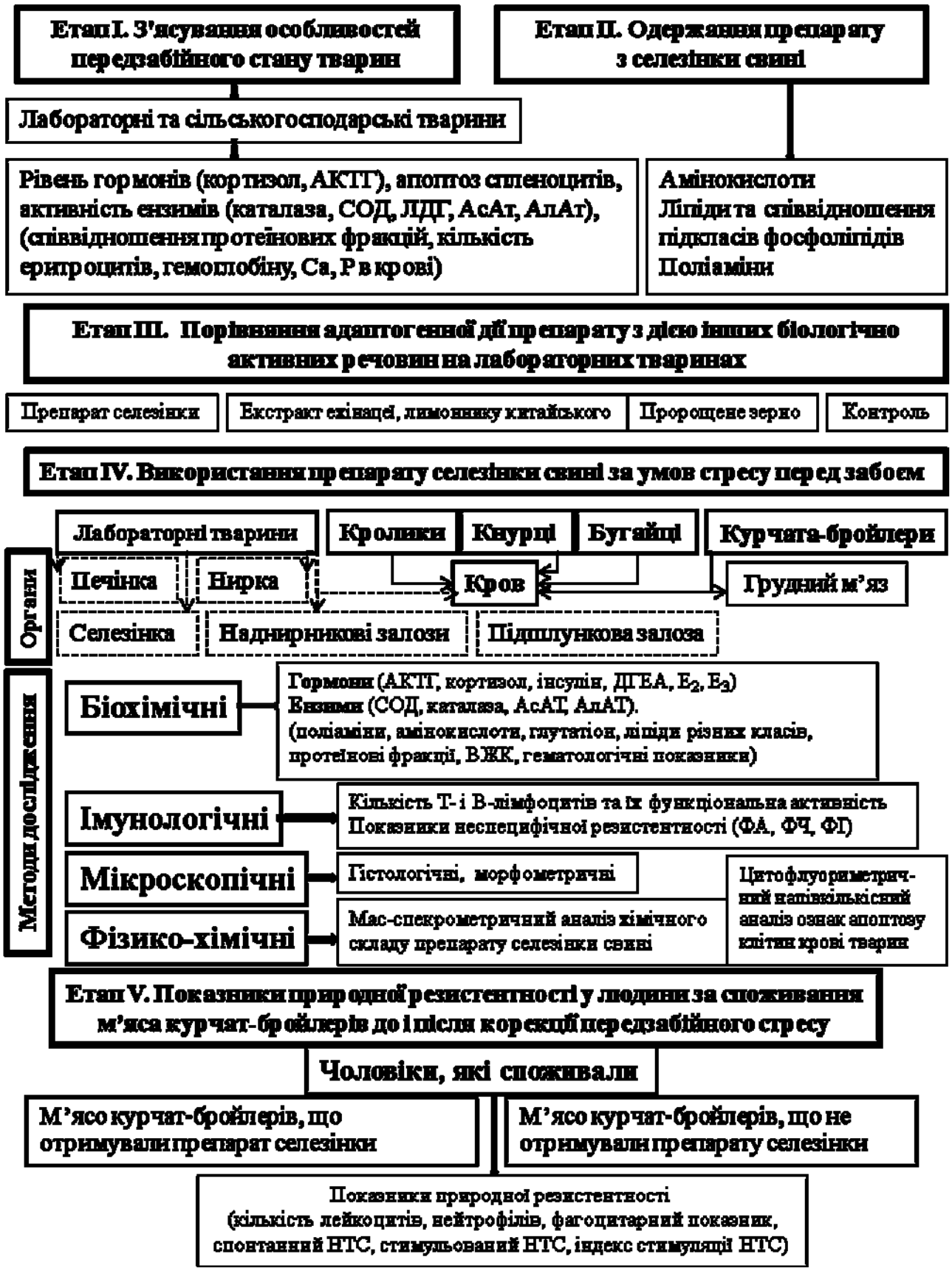


Рис. 2.1. Схема проведених досліджень

ефективності у модельному дослідженні на щурах порівняно з дією екстрактів ехінацеї і лимоннику та пророщеного зерна. Третій напрям досліджень був скерований на застосування одержаного препарату з селезінки свині для домашніх тварин (кролики, кнурці, бугайці та курчата-бройлери) за умов стресу перед забоєм. Четвертий напрям був спрямований на встановлення особливостей впливу споживання м'яса курчат-бройлерів на деякі показники клітинного імунітету організму людей з урахуванням передзабійного стану курчат-бройлерів.

2.2 Матеріал, який використовували для досліджень

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 E. C. 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.

Дослідження проводили на *білих статевозрілих самицях 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 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 досліду 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 (І група). Екстракти наносили на комбікорм аерозольним методом (70% спиртовий розчин препарату селезінки об’ємом 0,3 мл/кг маси тіла). Кроликам ІІ 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 (І дослідна група). Екстракти наносили на сухий корм (70% спиртовий розчин препарату селезінки об’ємом 0,3 мл/кг маси тіла). Тваринам ІІ 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 (І дослідна група) та без ультразвуку (ІІ 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 (ІІІ 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. І група споживала м’ясо курчат-бройлерів, яким у передзабійний період упродовж п’яти днів додавали до корму препарат селезінки свині. ІІ 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 (НТС) спонтанний; НТС стимульований; індекс стимуляції НТС.

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 комісій з біоетики з указаними їх номерами й датами містяться у додатках до тексту дисертації). [290].

2.3 Показники, які визначали в дослідженнях

2.3.1 Хромато-мас-спектрометричний аналіз препарату селезінки свині. Загальне ліпідне екстрагування із матеріалу здійснювали згідно з модифікованою методикою Блайя і Даєра (291)

Розділення та ідентифікацію ліпідних компонентів проводили на системі хромато-мас-спектрометрії фірми Agilent Technologies, яка складається із газового хроматографа 6890N та мас-селективного детектора 5975B. Умови хроматографічного розділення: колонка капілярна HP-5ms довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм, фазою 0,25 мкм. Початкова температура термостата колонки — 50 °С; витримка за початкової температури 2 хвилини; програмоване зростання температури від 50 до 200°С із швидкістю 10°С/хв; від 200–300 °С із швидкістю 20°С/хв ізотерма кінцевої температури складає 8 хвилин. Газ-носій гелій, із швидкістю потоку 1,0 мл/хв подача проби автоматичним інжектором 7683B у кількості 1 мкл із розділення потоку (Split) 20:1. Детектор мас селективний, температура інтерфейсу 280 °С, іонізація — електронним ударом, енергія іонізації 70еВ, температура іонного джерела 230 °С, температура квадруполя 150 °С, збір даних 0,5 секунди в діапазоні мас 30–500 m/z. Відносну кількість процентного вмісту кожного компонента розраховували методом порівняння його середньої площі піку до загальної площі. Ідентифікація продуктів проводили за допомогою програми AMDIS, із порівнянням каталогів мас-спектрів Wiley та NIST 2008.

2.3.2 Вміст поліамінів у біологічному матеріалі. Визначення вміступоліамінів у біологічному матеріалі здійснювали методом рідинної

хроматографії високого тиску на рідинному хроматографі Agilent 1200 (США) [292].

Підготовка зразків. Гомогенізували 500 мг тканини в 1 М розчині хлорної кислоти та залишали на добу у холодильнику. Після цього зразки центрифугували 30 хв при 16000 g. Відбирали надосадову фракцію та додавали до кожного зразка по 300 мкл діетилового етеру. Інтенсивно перемішували та центрифугували 30 хв при 16000 g. Для подальшої роботи відбирали по 300 мкл кислотної фракції. До відібраної аліквоти додавали насичений розчин карбонату натрію з розрахунку 25 мкл карбонату на 100 мкл кислоти. Після цього до кожного зразка додавали по 0,4 мкл розчину 5-диметиламіно-1-нафталін-сульфоніл хлориду (Serva, США) в ацетоні у концентрації 5 мг/мл. Залишали зразки на 20 год за кімнатної температури у темному місці для дансилювання поліамінів. Потім до зразків додавали по 400 мкл циклогексану та інтенсивно перемішували для екстракції дансильованих поліамінів, центрифугували 10 хв. при 16000 g.

Відбирали фракцію циклогексану шляхом висушування у вакуумній сушарці за кімнатної температури у темряві. Осад, що залишився, розчиняли в 400 мкл метанолу та фільтрували через фільтр PTFE-25-2 фірми Supelco з розмірами пор 0,2 мкм. Після цього проводили аналіз зразків на хроматографі.

Приготування стандарту. Як стандарт застосовували еквімолярну суміш стандартних поліамінів (путресцин·2HCl, спермідин·3HCl, спермін·4HCl, N1- та N8-ацетилспермідин, ацетилпутресцин, N1-ацетилспермін) із розрахунку 25 пмоль на пробу. Суміш стандартів, попередньо розчинену в 1 М перхлорній кислоті, готували аналогічно дослідним зразкам. У роботі використовували розчинники та стандарти поліамінів фірми Sigma ChemicalCo. (St. Louis, MO).

Аналіз зразків. Для аналізу використовували колонку Daisopak SP-120-5-ODS-RPS (4,6 mm I.D. Ч 250 mm) фірми Daisoco. Ltd. Аналізували аліквоти по 20 мкл кожного зразка в градієнті концентрації вода/ацетонітрил від 50 до 100 % протягом 20 хв. та чистий ацетонітрил 5 хв при швидкості

потоку 1 мл/хв. Рівень поліамінів визначали при довжині хвилі опромінювання 342 нм та емісії 512 нм. Рівень поліамінів розраховували у наномолях на 1 мг протеїну тканини. Загальна кількість поліамінів визначалась за сумою Put, Spd та Spm.

2.3.3 Вміст гормонів. **Кортизол** визначали за допомогою набору ІФА (**EIA-1887, Cortisol ELISA**) для прямого кількісного визначення методом імуноензимного аналізу в плазмі.

Принцип методу: твердофазний ензимзв'язаний імуносорбційний набір, створений за принципом конкуренції. Лунки на мікропланшетці вкриті моноклональним антитілом проти антигенів молекул кортизолу. Зразок плазми (сироватки) крові з ендогенним кортизолом інкубується у лунці разом з ензимним кон'югатом. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається водою. Кількість зв'язаної пероксидази зворотно пропорційна концентрації кортизолу в зразку. Після додавання субстрату інтенсивність забарвлення, що утворюється, зворотно пропорційна концентрації кортизолу в досліджуваному зразку [293].

Вміст **АКТГ** (адренокортикотропний гормон, що складається з 39 амінокислот), або кортикотропін визначали за допомогою набору DRG Intl АКТГ ELISA — це двохсайтовий твердофазний імуноензимний аналіз для вимірювання біологічно активного АКТГ.

Принцип методу полягає у використанні овечих поліклональних антитіл до АКТГ людини, очищених методом афінної хроматографії, і мишачих моноклональних антитіл до АКТГ людини, які є специфічними до певних ділянок молекули АКТГ. Одне антитіло зв'язується тільки із С-кінцевою частиною АКТГ 34–39, воно біотинільоване. Інше антитіло зв'язується тільки з середніми ділянками і N-кінцевою частиною АКТГ 1–24, воно має ензимну мітку пероксидази хрону.

У ході аналізу калібратори, контролі та зразки одночасно інкубуються з антитілом та з ензимною міткою і біотинільованим антитілом в лунках,

покритих стрептавідином. Після інкубації мікролунки промивають для видалення незв'язаних компонентів і ензим, зв'язаний з твердою фазою, інкубується з субстратом. Реакцію зупиняють додаванням стоп-розчину на основі кислоти і забарвлення вмісту лунок змінюється. Інтенсивність жовтого забарвлення прямо пропорційна концентрації АКТГ в зразку. Будують криву залежності концентрації від одиниць абсорбції за результатами, отриманими під час виміру калібраторів. Концентрацію АКТГ у контролях визначали за кривою.

Вміст **альдостерону** визначали за допомогою набору ІФА (EIA-4128, Aldosterone ELISA) для прямого кількісного визначення методом імуноензимного аналізу у плазмі.

Принцип аналізу заснований на простому конкурентному зв'язуванні між неміченими антигенами (присутніми у стандартах, контролях і зразках) і антигенами з ензимною міткою (кон'югат) за обмежену кількість вільних зв'язків антитіл на мікропланшетній лунці. Незв'язаний матеріал видаляється під час промивання. Потім додається ензимний субстрат. Ензиму реакціяю зупиняється додаванням стоп-розчину. Абсорбцію вимірюють на мікропланшетному ридері. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна до концентрації альдостерону в зразку. Набір стандартів використовують для побудови стандартної кривої, за допомогою якої можна вирахувати концентрацію альдостерону в зразках між дослідом і контролем.

Вміст **естрадіолу** визначали за допомогою набору ІФА **(**DRG Estradiol ELISA**)**

Суть методу базується на принципі конкуренції і планшетного розділення. Лунки мікропланшета покриті антитілом, спрямованим проти унікальної антигенної сторони молекули естрадіолу.

Ендогенний естрадіол конкурує з естрадіолом, кон'югованим з пероксидазою, що конкурують за зв'язування з антитілом, яким покрито дно лунок. Після інкубації планшет промивають. Кількість зв'язаного кон'югата пероксидази обернено пропорційна до концентрації естрадіолу в зразку. Після

додавання розчину субстрату інтенсивність забарвлення буде обернено пропорційна до концентрації естрадіолу в зразку.

Вміст **естріолу** визначали за допомогою набору ІФА (DRG EIA-1612, Free Estriol ELISA) — іммуноензимний аналіз для кількісного визначення в діагностиці ***in vitro*** вільного естріолу (некон'югованого естріолу). Набір представляє собою твердофазний ензимзв'язаний імуносорбційний набір, створений за принципом конкуренції (аналізом, що оснований на принципі конкурентного зв'язування).

Принцип методу: сироватка з естріолом (тобто стандарт або зразок пацієнта) змішують з ензимним кон'югатом і додають в лунки. Естріолове антитіло вже заздалегідь нанесене на дно лунок. Після 1 год інкубації вільна естріол-лужна фосфатаза вимивається буфером. До антитіл-зв'язаної естріол-лужної фосфатази, яка імобілізована в лунках, додають субстрат. Після короткої інкубації додають стоп-розчин, що утворює кольоровий продукт, інтенсивність якого вимірюють на фотометрі.

Дегідроепіандростерон-сульфат визначали методом твердофазного імуноензимного аналізу за допомогою набору реагентів Стероїд ІФА-ДГЕА-сульфат, призначеного для кількісного визначення його вмісту.

У наборі Стероїд ІФА-ДГЕА-сульфат використаний варіант конкурентного твердофазного імуноензимного аналізу. За одночасного додавання в лунки досліджуваного зразка, кон'югата ДГЕА-С-пероксидази і антитіл до ДГЕА-С під час інкубації встановлюється рівновага між кон'югатом і ендогенним ДГЕА-С сироватки крові за зв'язування з поліклональними антитілами кроля до ДГЕА-С. Одночасно відбувається зв'язування антитіл до ДГЕА-С з імобілізованими на внутрішній поверхні лунок поліклональними антитілами кози до імуноглобулінів кроля. Під час видалення вмісту з лунок проходить розподіл вільного і зв'язаного антитілами кон'югата ДГЕА-С-пероксидази, причому кількість зв'язаного антитілами кон'югата обернено пропорційно до кількості ДГЕА-С в аналізованому зразку сироватки крові.

Під час інкубації з ТМБ відбувається фарбування розчину в лунках, який прямо пропорційний кількості зв'язаного антитілами кон'югата ДГЕА-С-пероксидази. Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на основі калібрувального графіка розраховується концентрація ДГЕА-С в досліджуваних зразках.

Інсулін визначали набором для визначення інсуліну DRG Insulin EIA – 2935 імуноензимний аналіз для кількісного визначення інсуліну в плазмі.

Принцип методу: лунки на мікропланшетці покриті моноклональним антитілом проти антигенів молекули інсуліну.

Зразок сироватки з ендогенним інсуліном інкубується у лунці разом з ензимним кон'югатом. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивається водою. Кількість зв'язаної пероксидази обернено пропорційна концентрації інсуліну в зразку. Після додавання субстрату інтенсивність утворюваного забарвлення обернено пропорційна концентрації інсуліну в зразку.

2.3.4 Визначення імунологічних показників. У цільній крові щуріввизначали відносну кількість **Т- і В-лімфоцитів** та їх окремих популяцій у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана у якості маркерів. Принцип методу полягає у здатності лімфоцитів утворювати так звані «розетки» з гетерогенними еритроцитами. У центрі «розетки» є лімфоцит, на мембрані якого містяться специфічні рецептори, а по периферії — еритроцити. За кількістю еритроцитів, адсорбованих одним лімфоцитом, судять про ступінь активності лімфоцитів. Визначали відносну кількість загальних (ТЕ-РУЛ — загальні розеткоутворюючі лімфоцити) та активних Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ — активні розеткоутворюючі лімфоцити). Для відмивання лімфоцитів використовували забуферений фізіологічний розчин (pH розчину 7,2–7,4 (7,3). Мононуклеарну фракцію клітин виділяли із гепаринізованої крові. Зроблені мазки висушували, фіксували метанолом, фарбували 7–10 хв за Романовським-Гімзою. Мікроскопію мазків проводили під імерсією при збільшенні 90 х 7.

Ступінь активності лімфоцитів визначали за кількістю адсорбованих ними еритроцитів: нульові (недиференційовані) — не приєднали жодного; низькоавідні або клітини з малою щільністю поверхневих рецепторів (малодиференційовані) — приєднали 3–5 еритроцитів; середньоавідні субпопуляції — приєднали 6–10 еритроцитів; високоавідні або високодиференційовані — «розетки» з більше як 10 еритроцитами (М — морула).

Визначення відносної кількості теофілінрезистентних лімфоцитів (Т-хелперів, Th) ґрунтується на тому, що ці клітини несуть на своїй поверхні рецептори до імуноглобулінів класу М, а Т-супресори (Ts),— до імуноглобулінів класу G. Хелперні — лімфоцити, здатні формувати розетки після їх інкубації з теофіліном — це теофілінрезистентні клітини. Кількість теофілінчутливих лімфоцитів (Ts) визначали за різницею між кількістю ТЕ–РУЛ та Th. Відносну кількість В-лімфоцитів визначали методом ідентифікації, який ґрунтується на наявності у В-лімфоцитів мембранних імуноглобулінових рецепторів, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, які на своїй поверхні містять комплемент-антиген-комплекс (ЕАС-РУЛ). Як індикаторні клітини використовували еритроцити барана**,** сенсибілізовані антитілами і комплементом. Для приготування комплемент-антиген-комплексу використовували готову рідку гемолітичну сироватку (титр 1:1200) та готовий сухий комплемент морської свинки [293].

Фагоцитарна активність нейтрофілів периферійної крові [294]. Фагоцитоз є головним механізмом природної резистентності, а також обов’язковою ланкою індукції і формування специфічної імунної відповіді. Фагоцитуючу роль виконують поліморфно-ядерні лейкоцити (ПМЯЛ). Нейтрофільні гранулоцити найчастіше фагоцитують збудників гострих інфекцій. У гранулах фагоцитів міститься набір неензимних катіонних білків, лізоцим, мієлопероксидаза, за рахунок яких відбувається пригнічення активності фагоцитованих бактерій та їх перетравлення.

Принцип методу: метод оснований на кількісному визначенні захоплених нейтрофілами гранул латексу.

НСТ-тест [295,296] Метод базується на піноцитозі фагоцитами світло-жовтого розчину НСТ (нітросинього тетразолію), який відновлюється у цитоплазмі клітин у нерозчинний диформазан у вигляді темно-синіх гранул. Принцип методу: при стимульованому НСТ-тесті визначається не тільки спонтанна здатність гранулоцитів відновлювати нітросиній тетразолій, а також, проводиться штучна стимуляція клітин бактеріальними ендотоксинами, зимозаном. Такий тест свідчить про резервну бактерицидну здатність клітин.

Гемоглобін (Hb) при взаємодії з ферумсинеродистим калієм ($K_3Fe(CN)_6$, червона кров'яна солі) окиснюється до метгемоглобіну, утворюючи з ацетонангідридом геміглобінціанід (ціанметгемоглобін, CNMeHb), оптична густина якого при 540 нм прямо пропорційна концентрації гемоглобіну у зразку крові. Описану реакцію дають всі деривати гемоглобіну, які можуть міститися в крові, крім вердоглобіну, але його вміст незначний [293].

Колориметричне визначення кількості **еритроцитів**. Принцип методу базується на фотометричній реєстрації густини розчину залежно від кількості еритроцитів у крові [293].

Визначення вмісту **загального протеїну** біуретовим реактивом

Принцип методу. Під час додавання до розчину протеїну лужного розчину Купруму з'являється фіолетове забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації протеїну. Розвиток забарвлення зумовлений наявністю у протеїнах пептидних зв'язків. Біуретова реакція характерна не тільки для білків, але й для пептидів. Для її перебігу необхідна наявність хоча б двох пептидних зв'язків [293].

Концентрацію **глутатіону** у крові визначали після відновлення глутатіону за зміною оптичної активності, викликаною утворенням аніону тіонітро-бензоат-дианіону у реакції DTNB (5,5'-дитіобіс(2-нітро-бензойної кислоти) з відновленим глутатіоном [293].

2.3.5 Дослідження протеїнових фракцій крові. Поділ протеїнівна типи базується на тому, що суміш молекул протеїнів у пробі під дією електричного поля розділяється на декілька фракцій залежно від електричного заряду, молекулярної маси, розміру та форми протеїнів. Розмір протеїнових молекул, розчинність протеїнів, електричний заряд та інші фізико-хімічні властивості визначають участь протеїнів у процесах обміну речовин і функціях організму. Розділення протеїнових фракцій плазми крові тварин здійснювали на пластинах 7,5 % поліакриламідного гелю (ПААГ). Сироватку крові з вмістом протеїну 6,0–7,0 г % (60–70 г/л) розводять електродним буфером 1:10–12. Відбирають 0,1 мл суміші і додають таку ж кількість 40 % розчину сахарози і 0,02 мл 0,01 % розчин бромфенолового синього. У лунки концентруючого гелю вносять 0,04–0,05 мл проби.

Для проведення електрофорезу у 12,5 % ДСН–ПААГ до супернатанту з досліджуваних тканин (0,1 мл) додають 0,1 мл 10 % ДСН і 0,01 мл 2-меркаптоетанолу та інкубують 10 хв за температури 100 °С, охолоджують та додають 0,1 мл 40 % розчину сахарози. У лунки концентруючого гелю вносять по 0,07 мл приготовлених зразків і маркерний барвник — 0,01 % розчин бромфенолового синього. Протеїнові зони, окремі протеїни виявляють фарбуванням фореграм з наступним вимиванням надлишку барвника. На фореграмі залишаються зафарбовані протеїнові смуги та прозорий незафарбований гель. Фореграми перед фарбуванням доцільно фіксувати в 12,5 % трихлороцтовій кислоті для фіксації протеїнів у гелі. При електрофорезі протеїнів сироватки крові в 7,5 % ПААГ залежно від заряду, величини молекул і рухливості виділяють до 30 фракцій, серед яких найінформативнішими є альбуміни та глобуліни (альфа-, бета-, гамма-) [293].

2.3.6 Фракційний склад ліпідів. Для визначеннявідносного вмісту фракцій ліпідів брали 1 мл плазми крові та екстрагували сумішшю хлороформ-метанол (2 : 1) за методом Фолча [297]. Для розділення ліпідів, у тому числі фосфоліпідів, на фракції використовували метод тонкошарової

хроматографії [293]. Ідентифікацію підкласів фосфоліпідів проводили за Rf та кольоровими реакціями.

2.3.7 Газорідинна хроматографія для визначення кількості та форм високомолекулярних жирних кислот. Концентрацію ВЖК загальних ліпідів визначали за методиками описаними [298,299]. Для цього проводили екстракцію ліпідів, їх омилення, метилювання отриманих жирних кислот і газорідинну хроматографію метилових ефірів на хроматографі «Chrom-5» (Чехія). На хроматограмі отримували піки ВЖК, які знаходились у досліджуваному біологічному матеріалі в неетерифікованій формі.

2.3.8 Активність ензимів. Активності ***амінотрансфераз*** (аланінамінотрансферази — АлАТ, АЛТ, К. Ф. 2.6.1.2 та аспартатамінотрансферази — АсАТ, АСТ, К. Ф. 2.6.1.1) визначали за методом Райтмана-Френкеля.

Принцип методу. У результаті переамінування, яке проходить під дією АлАТ і АсАТ, утворюються щавелевооцтова і піровиноградна кислоти, які при додаванні 2,4-динітрофенілгідразину утворюють в лужному середовищі забарвлені гідразони, що мають максимум поглинання за довжини хвилі 500–560 нм [293].

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД, К. Ф. 1.15.1.1) в еритроцитах *Принцип методу.* Активність супероксиддисмутази (СОД) визначають за рівнем інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) при наявності NADH і феназинметасульфату (ФМС).

Реактиви: 0,15 М фосфатний буфер pH 7,8; ЕДТА; 10 % розчин желатину; НСТ; ФМС; NADH; етиловий спирт 96º; хлороформ.

Хід визначення. Для визначення активності СОД еритроцити відмивають від плазми фізіологічним розчином при повторному центрифугуванні, t +4 ºС. Гемоглобін осаджують сумішшю спирту з хлороформом. Для цього до 0,1 мл

еритроцитів, попередньо гемолізованих і розведених у 10 разів 5 м тріс-HCl (pH 7,4), додають 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу. Перемішують і центрифугують 15 хв при 7–8 тис. об/хв. Активність СОД визначають в надосадовій рідині. Інкубаційна суміш містить 1 мкл ЕДТА, 1 мг желатину, 0,407 мМ НСТ, 1,8 мкМ ФМС, 0,1 мл 1 мМ NADH. Супернатант додають в інкубаційну суміш в об'ємі 0,1 мл, що викликає гальмування відновлення НСТ. Загальний об'єм інкубаційної суміші доводять до 3 мл фосфатним буфером (0,15 М, pH 7,8). Контрольні проби містять ті ж самі компоненти, крім супернатанту, замість якого додають адекватну кількість буфера. Запускають реакцію додаванням 0,1 мл NADH у дослідні та контрольні проби. Інкубацію здійснюють протягом 10 хв у темноті при кімнатній температурі. Оптичну густину дослідних і контрольних проб визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм.

Активність СОД, виражену в умовних одиницях/мг білка, визначають за формулою:

$$A = \frac{КЕ - ДЕ/ЛЕ x2}{C}$$

де:

А — активність СОД;

С — кількість білка в пробі, мг;

КЕ — екстинкція контрольної проби;

ДЕ — екстинкція дослідної проби.

Визначення активності каталази (К. Ф. 1.11.1.6) в еритроцитах. *Принцип методу.* Принцип методу оснований на здатності перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс.

Реактиви: 4 % розчин молібдату амонію, 0,03 % розчин перекису водню, 0,25 N H_2SO_4.

Хід визначення. Ставлять дослідну і контрольну проби. У дослідну пробірку вносять 0,1 мл гемолізату еритроцитів (1:10) і 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. У контрольну пробу замість гемолізату еритроцитів вносять

1 мл 4 % розчину молібдату амонію і 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. Інкубують 10 хв і додають 1 мл 0,25 N H_2SO_4. Потім у дослідну пробу дають 1 мл молібдату амонію, а в контроль — 0,1 мл гемолізату еритроцитів. Центрифугують 5 хв при 3000 об/хв. Інтенсивність забарвлення вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм проти води.

Активність каталази, виражену в мМоль/хв·мг білка, визначають за формулою:

$$A = \frac{КЕ - ДЕ \text{ x } 4 \text{ x } n}{110{,}6 \text{ x } 10 \text{ x } 0{,}1 \text{ x } c}$$

де:

А — активність каталази;

с — кількість білка в пробі, мг;

КЕ — екстинкція контрольної проби;

ДЕ — екстинкція дослідної проби;

4 — загальний об’єм суміші в кюветі, мл;

n — розведення вихідного екстракту;

0,1 — об’єм екстракту, мл;

110,6 — коефіцієнт екстинкції перекису водню;

10 — час інкубації, хв.

2.3.9 Гістологічні та морфометричні дослідження. Дослідження спленоцитів. ***Подвійне фарбування клітин анексином V і пропідій йодидом для проточної цитофлуориметрії*** **.** Клітини, виділені із селезінки тварин, осаджували центрифугуванням при 1200 об/хв протягом 5 хв і інкубували 15 хв у буфері зв’язування (BD, США), що містив 1/50 об’єму анексину V та пропідію йодиду (50 мкг/мл). Після цього зразки розводили у 2 рази відповідним об’ємом буферу зв’язування та досліджували на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur (Becton-Dickinson, Palo Alto, США).

Дослідження впливу речовин на клітинний цикл методом проточної цитофлуориметрія. Після виділення клітин із селезінки, відбирали $2x10^6$ клітин і осаджували їх центрифугуванням при 1000 обертів за хвилину, 5 хв, після чого двократно промивали забуференим фізіологічним розчином (ЗФР). До клітин додавали 1 мл охолодженого до 0° С ЗФР і фіксували внесенням 4 мл абсолютного етанолу, температура якого була -20° С. Клітини зберігали у згаданому середовищі не більше двох тижнів при -20 ^oC. Для цитофлуориметрії зафіксовані клітини центрифугували, зливали надосадову рідину і ресуспендували в 1 мл ЗФР. Додавали 100 мкл РНК-ази (концентрація 200 мкл/мл) та інкубували 30 хв при температурі 37°С, після чого додавали 100 мкл пропідію йодиду (1 мг/мл) та інкубували при кімнатній температурі 5-10 хв.

Зразки поміщали у пробірки для цитофлуориметрії і досліджували на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur (Becton-Dickinson, Palo Alto, США).

Методика виділення спленоцитів. Виділену селезінку поміщали у чашку Петрі та додавали 1-кратний лізуючий буфер (8,9 г NH_4Cl; 1,0 г $KHCO_3$; 0,372 г EDTA-2Na на 1000 мл дистильованої H_2O) для видалення еритроцитів. Після цього селезінку гомогенізували шляхом її розтирання між скельцями для мікроскопування. Далі суспензію клітин у лізуючому буфері пропускали тричі через шприци з голками різного діаметру (18G, 22G, 26G) до досягнення однорідної суспензії клітин. Всі маніпуляції з клітинами проводилися на льоді. Після цього клітини центрифугували при 1500 об/хв та видаляли супернатант. Процедуру повторювали до відсутності у осаді еритроцитів.

З метою виконання морфологічних досліджень [300] виділяли фрагменти підшлункової залози, печінки, селезінки, нирки та наднирники й фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у низці розчинів етанолу з висхідними концентраціями (70 °, 80 °, 90 °, 96 °) і заливали у парафін. На санному мікротомі виготовляли зрізи завтовшки від 5 до 15 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином. Світлову мікроскопію і мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа

OLYMPUS CX 41 та фотокамери OLYMPUS C–5050. Морфометрію проводили з використанням програми DP-SOFT для мікроскопа OLYMPUS CX 41.

Хромафінна реакція на адреналін і норадреналін за Хіларпом та Хюкфельтом [301]. Після фіксації мозкової речовини наднирників в калії дихроматі або хромовій кислоті в багатьох клітинах появляється темно коричневе забарвлення.

Принцип виявлення. Хромафінність виникає у результаті наявності у тканинах речовин, подібних до ароматичних фотопроявників, — гормонів адреналіну та норадреналіну, які під дією помірних окиснювачів поступово перетворюються у пофарбовані продукти реакції хінгідрону.

2.3.10 Використання ультразвукової установки. Розроблено експериментальний пристрій для ультразвукового екстрагування селезінки, який має акустичну потужність 100 Вт і працює у діапазоні 37–50 кГц. Резонансна чистота пристрою залежить від об’єму і густини речовини, що використовується (Рис. 2.2).

Підготовка зразків: 100 г селезінки свині витримували в морозильній камері п’ять–шість діб, розморожували і подрібнювали у м’ясорубці. Подрібнену селезінку заливали 200 мл дихлоретану в герметичному посуді та протягом 5 хв обробляли ультразвуком частотою 45 Гц. Потім перемішували одну добу на шутель апараті за температури +18 °С. Екстракт відфільтровували через лійку 6–8 шарів марлі, дихлоретан відганяли до повного видалення за температури +45° С під вакуумом (640 мм рт ст).

Вологий залишок підігрівали в емальованому посуді за температури +40° С і розчиняли у 100 мл 70 % етанолу [302]. Препарат селезінки свині у вигляді аерозолі застосовували перед забоєм тварин.

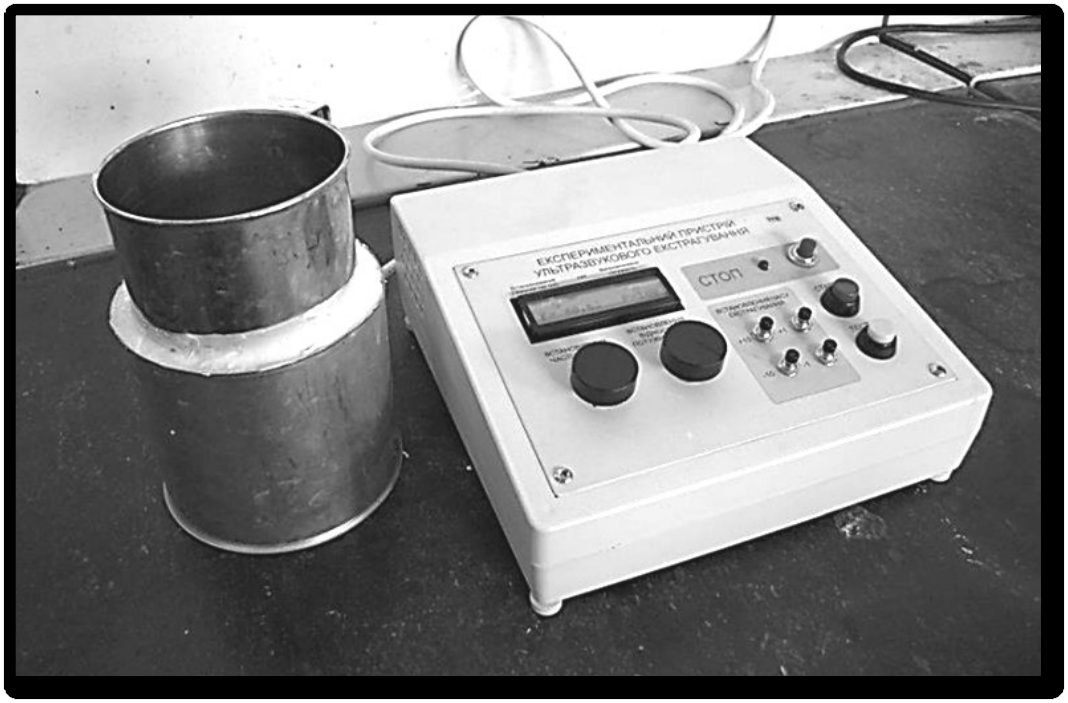


Рис. 2.2. Ультразвукова установка

2.3.11 Методи статистичного аналізу. Математичну обробку результатів опрацьовували статистично за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Результати вважали вірогідними при P < 0,05. Визначали середнє арифметичне і його похибку. Застосовано один із статистичних методів оцінювання щільності кореляційного зв'язку за даними групування, а саме використано таку міру щільності зв'язку як кореляційне відношення $\eta^2 = \frac{\delta^2}{\sigma^2}$ де δ^2 — міжгрупова дисперсія, яка вимірює варіацію залежної ознаки під впливом фактора, а σ^2 — загальна дисперсія. У нашому випадку кореляційне відношення η^2 дозволяє оцінити наявність та силу впливу згодовування екстрактів рослинного і тваринного походження на рівень кортизолу у крові від першої до останньої тварини у клітці. Різницю двох масивів експериментальних даних вважали вірогідною при P<0,05.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Біохімічні та гематологічні показники у лабораторних та домашніх тварин за умов стресу перед забоєм

Дані літератури про вплив стресової ситуації на поведінку тварин є доволі суперечливими, однак більшість авторів схильні вважати, що стратегією поведінки людей і тварин в основному є активна (агресія та втеча) та пасивна (завмирання) реакції. Вперше усі ці реакції описав Кеннон [303] у своїх дослідженнях на котах, вважаючи, що у підготовці і здійсненні різних форм поведінки тварини основне значення має функція симпатичної нервової системи і мозкового шару надниркових залоз. Для різних біологічних видів характерна перевага або однієї, або іншої реакції [304]. Але жодна з цих форм реакцій на стрес не підходить і не порівнюється зі станом тварин перед забоєм, в якому вони мають відчуття не просто небезпеки, а безвихідного становища і, на нашу думку, це призводить до змін у цілому організмі на метаболічному рівні більшою мірою, ніж за таких форм реакцій як агресія, втеча або за реакції завмирання.

У дослідженнях деяких авторів [305,306] враховувались тривалість транспортування та процес розвантаження тварин і було встановлено, що ці чинники стали причиною ушкодження шкіри тварин із зазначенням впливу на окремі біохімічні показники.

Інші дослідники [34, 307] вважають, що одним із аспектів прижиттєвого стресу, який може вплинути на якість м’яса, є випромінювання твариною тепла. Ними була проведена термографія (дослідження в інфрачервоному діапазоні довжин хвиль) великої рогатої худоби та свиней до і після транспортування. При цьому було встановлено, що за активації гіпоталамо-гіпозарно-

надниркової ланки та підвищення рівня катаболічних процесів, пов'язаних із стресом перед забоєм, значно зростає виділення тепла, яке випромінює тварина.

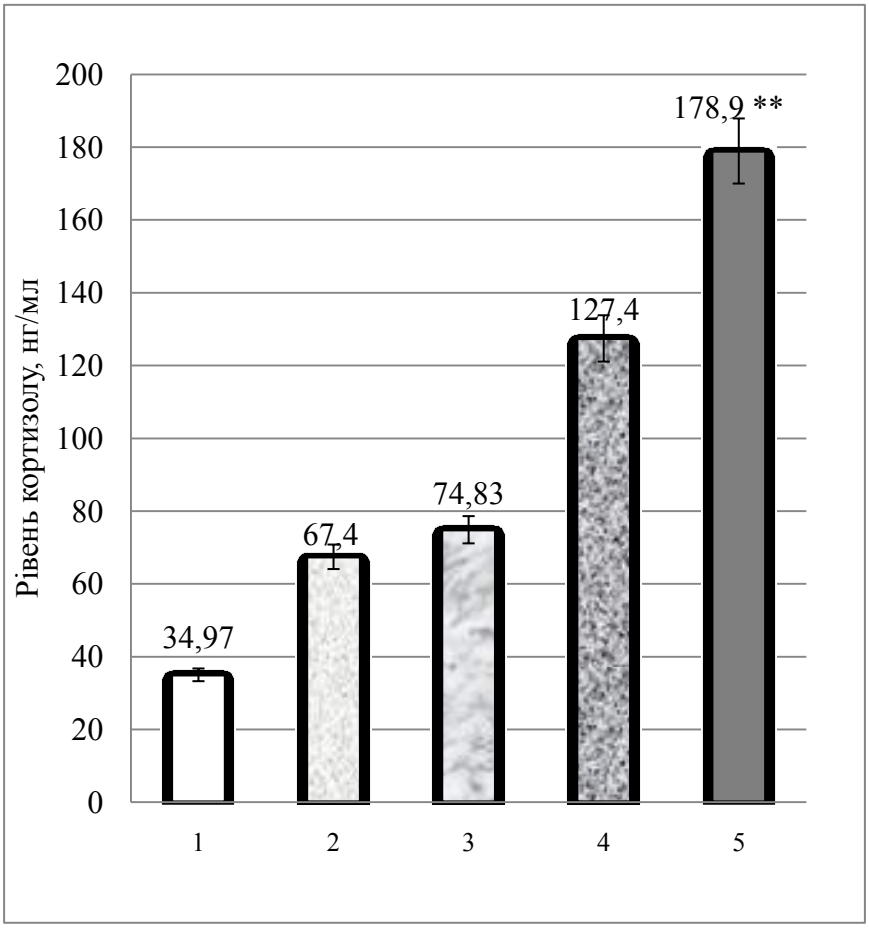
Дослідження стресової реакції на лабораторних тваринах переважно проводять у серіях експериментів моделювання стресу — «відкрите поле» [308], «чорно-біла камера» [309], тест «вимушеного плавання» Порсолта [310], тест «підвішування за хвіст» [311], проте є недостатньо досліджень, в яких зверталася б увага на метаболічні зміни в організмі тварин у передзабійний період на біохімічному рівні.

Відносний вміст протеїнових фракцій крові є показовим, оскільки має важливе значення для діагностики багатьох захворювань. Альбуміни складають найбільшу частину протеїнів крові, відіграють важливу роль у підтриманні онкотичного тиску крові, у транспортуванні багатьох біологічних речовин: вуглеводів, ліпідів, окремих гормонів, а також мікроелементів (Купрум, Цинк, Магній тощо) [312]. Тому вміст альбуміну у сироватці крові має діагностичне значення, його зниження вказує на дисфункцію печінки, нирок або інших органів. Рівень альбуміну в крові також може характеризувати протеїнсинтезувальну функцію печінки [313].

Зважаючи на вищевикладене, ми поставили перед собою мету — на основі окремих біохімічних, морфологічних та гематологічних досліджень встановити вплив стресу перед забоєм на організм лабораторних тварин. Одержані результати дали б можливість на основі вивчення метаболічних змін в організмі лабораторних тваринах створити біологічно активні кормові добавки, обґрунтувати необхідність одержання екологічної та безпечної продукції тваринництва для потреб людини.

Для досліджень було сформовано три групи щурів по п'ять тварин у кожній. Дослід, який тривав 45 хв, всіх тварин почергово виймали з кліток і декапітували під етерним наркозом. Брали з кожної групи по першому щуру, потім по другому, третьому, четвертому та п'ятому. Кров для досліджень брали у ділянці декапітації.

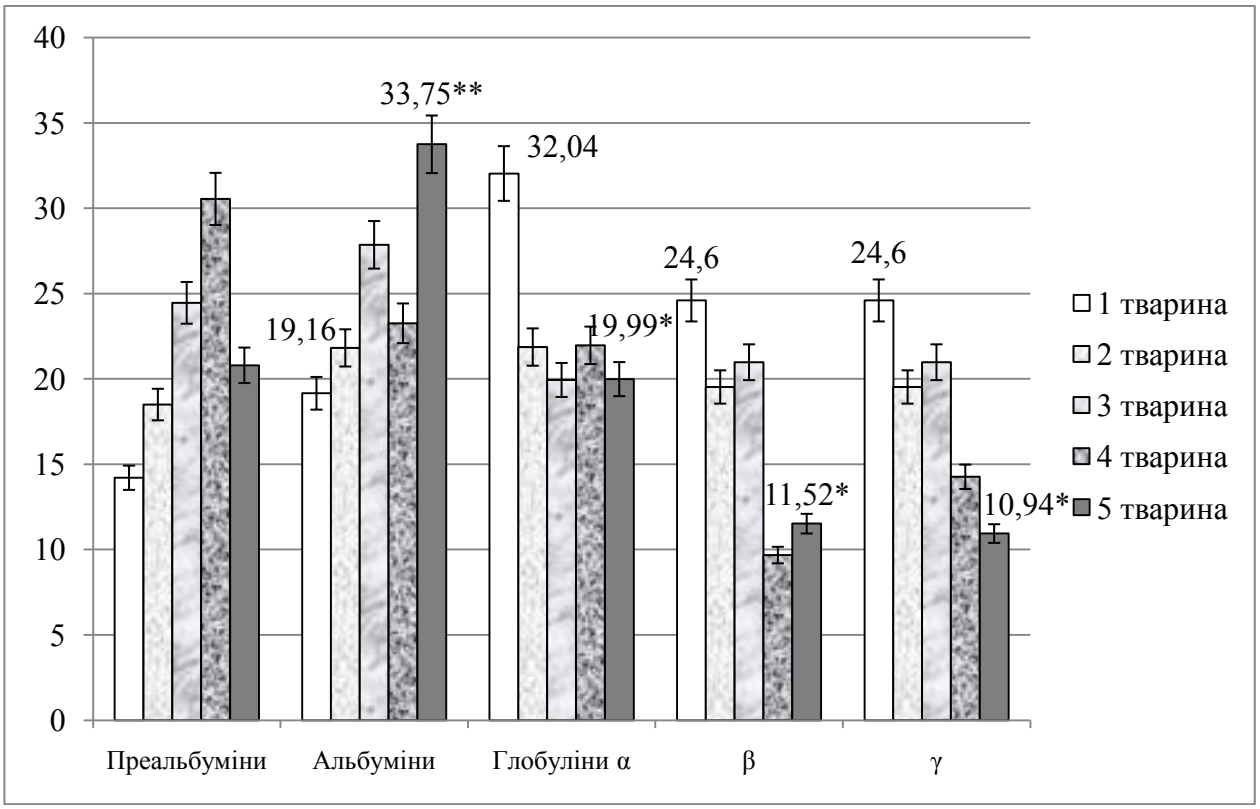
Визначення концентрації кортизолу у плазмі крові щурів проводили залежно від порядку взяття тварин із кліток. При цьому рівень гормону коливалася від 34,97 (тварини, яких брали з кожної групи першими) до 178,9 нг/мл (тварини, яких з кліток брали останніми) (Рис. 3.1). Характеризуючи рівні гормона у плазмі крові лабораторних тварин, необхідно відмітити, що рівень кортизолу у плазмі крові щурів залежно від порядку взяття їх із кліток коливається від 34,97 (тварини, яких брали з кожної групи першими) до 178,9 нг/мл (тварини, яких з кліток брали останніми.



Примітка. Статистично вірогідні різниці: ** — P<0,01 (стосовно четвертої та п’ятої тварини)

Рис. 3.1. Рівень кортизолу в щурів залежно від порядку взяття із клітки перед забоєм (M±m, n=5), нг/мл.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів, яких із клітки брали останніми, тобто п'ятими, виявлено певні зміни у відсоткових співвідношеннях відносний вміст протеїнових фракцій: у плазмі крові щурів вірогідно знизилась концентрація α-глобулінів на 38 % (P<0,05), β- і γ-глобулінів — на 54 % (P<0,05). Поряд з тим слід відмітити зростання концентрації фракції альбумінів на 41 % (P<0,01) у тій же групі тварин, тобто тих, яких з клітки брали останніми (Рис. 3.2).



Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно першої та п'ятої тварини)

Рис. 3.2. Співвідношення протеїнових фракцій у плазмі крові щурів (%; M±m; n=5)

Відомо, що приблизно 75 % глюкокортикоїдів зв'язано з транскортином, 10 % — з альбуміном крові, 6–7 % — з еритроцитами і лейкоцитами і тільки до 5–10 % знаходиться у вільному, незв'язаному стані. Вважається також, що активною формою гормона є його вільна форма [314]. Менший вміст вільного

кортизолу у плазмі крові тварин, яких брали з клітки першими, пов'язане з підвищенням вмісту глобулінової фракції, що збігається з даними, отриманими при дослідженнях на щурах за умов стресу — вимушеного плавання [315]. Деякі автори відмічають надзвичайно динамічну роль глобулінів, які регулюють концентрацію глюкокортикоїдів під час гострого стресу [316].

Характеризуючи активність амінотрансфераз та гематологічні показники, які представлені у таблиці (табл. 3.1), необхідно відмітити вірогідні зміни активності АлАТ між тваринами, яких брали з клітки другими і третіми з кожної групи, де різниця становила 14 % (P<0,01), та активності АсАТ між тваринами, яких з кліток брали третіми і п'ятими з кожної групи, де різниця становила 9 % (P<0,01). За іншими досліджуваними показниками змін в групах щурів не спостерігали.

Таблиця 3.1

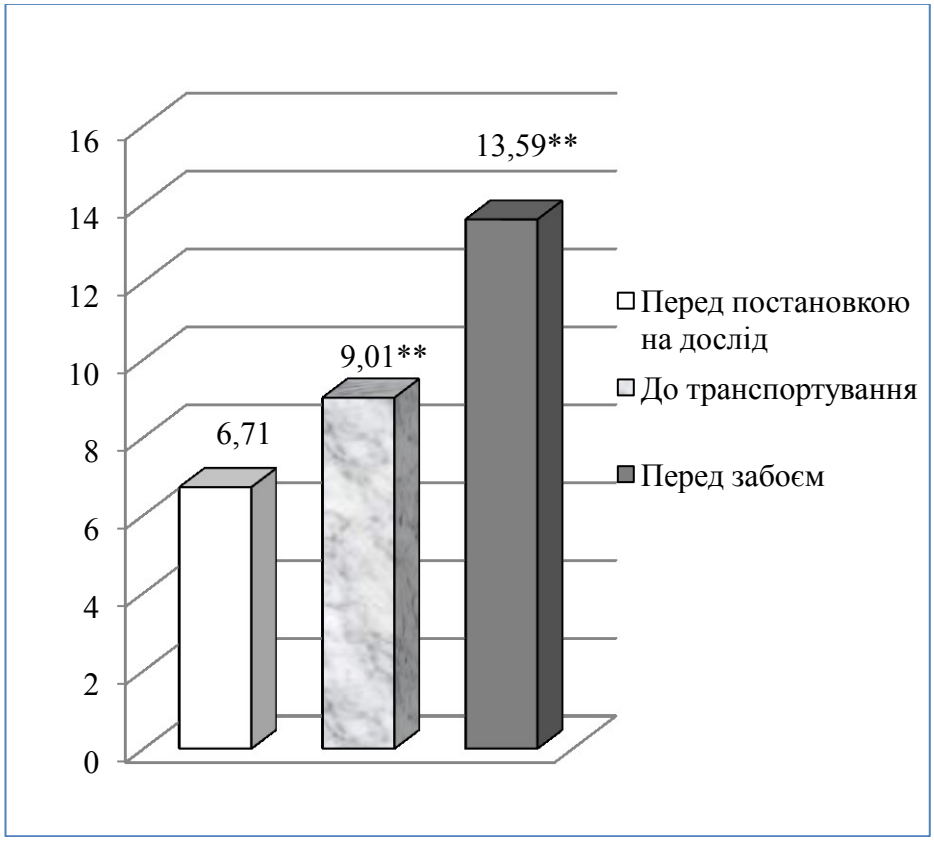
Активність АлАТ, АСАТ та гематологічні показники плазми крові щурів, (M±m, n=5)

Показник	Тварини				
	1	2	3	4	5
АлАТ, Мккат/л	0,77± ±0,103	0,91± ±0,124	0,786± ±0,158*	0,91± ±0,142	0,88± ±0,078
АсАТ, Мккат/л	0,88± ±0,109	0,96± ±0,021	0,89± ±0,11	0,97± ±0,057	0,97± ±0,12*
Гемоглобін, г/л	126,75± ±2,976	129,5± ±2,44	127,88± ±0,375	129,75± ±1,635	126,5± ±1,732
Еритроцити, Т/л	5,16± ±0,093	5,12± ±0,08	5,03± ±0,053	5,31± ±0,35	5,12± ±0,154
Загальний протеїн, г/л	62,88± ±0,942	63,63± 2±,569	64,32± ±3,395	61,16± ±1,864	63,29± ±3,383

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05 (стосовно другої і третьої та третьої і п'ятої тварин)

Із досліджуваних гематологічних показників — концентрація загального протеїну і гемоглобіну, кількість еритроцитів, вірогідних змін у тварин усіх груп не спостерігали.

У наших дослідженнях на бугайцях 12-місячного віку української чорно-рябої молочної породи було встановлено, що рівень адренокортикотропного гормона (АКТГ) перед постановкою на дослід (Рис. 3.3), тобто у підготовчий період, становив 6,71 пг/мл і був нижчим — на 34 % (P≤0,01) від рівня гормону, який становив 9,01 пг/мл до транспортування бугайців на м'ясокомбінат, тобто через п'ять діб від початку досліду. Оскільки кров для біохімічних досліджень брали в один і той же час доби, то можна зробити припущення, що бугайці перед транспортуванням мали більший стрес, ніж під час взяття крові перед постановкою на дослід, тобто у підготовчий період (Рис. 3.3).



Примітка. Статистично вірогідні різниці: ** — P<0,01 (стосовно перед постановкою на дослід)

Рис. 3.3. Рівень АКТГ у крові бугайців у підготовчий та передзабійний періоди, пг/мл (M±m, n=5)

З одержаних результатів на лабораторних та домашніх тваринах, правдоподібно, випливає твердження про необхідність використання біологічно активних кормових добавок у передзабійний період.

Застосування нових біологічно активних речовин як імуностимуляторів та антистресорів дозволить ефективніше впливати на деякі показники імунітету і рівень кортизолу в крові тварин перед забоєм.

Результати, отримані нами у модельному експерименті на щурах, можуть бути використані у дослідженнях показників клітинного імунітету і концентрації стресових гормонів, зокрема кортизолу, на домашніх і диких тваринах з метою підвищення резистентності організму, корекції та зняття впливу передзабійного (стресового) стану тварин.

3.2 Одержання біологічно активних речовин із селезінки з використанням ультразвуку

Поряд із розвитком виробництва синтетичних лікарських засобів сьогодні актуальним питанням є одержання біологічно активних речовин з природної сировини рослинного чи тваринного походження з використанням екстракційних методів [317,318,319,320,321]. При цьому широко застосовується ультразвук, що як правило, не тільки значно пришвидшує у часі сам процес екстрагування, але й призводить до збільшення виходу основного продукту. Крім того помічено, що ультразвук надає екстрактам, емульсіям та суспензіям стерильності [322,323,324]. Значний інтерес викликають біологічно активні речовини, одержані із селезінки методом екстрагування [325,326,327,328,329].

Ліпіди — важливі компоненти клітинних організмів, слугують не тільки будівельними блоками мембран, джерелами енергії, розчинниками для жиророзчинних вітамінів, але й беруть участь у клітинній передачі сигналів та активації ензимів [330,331,332,333] та регуляції імунітету [334]. У дослідженнях [335,336], пов’язаних із екстрагуванням органів свині (серце, нирки, печінка, легені, головний та спинний мозок, селезінка і шлунок) у системі хлороформ-метанол 2 : 1, встановили, що лише селезінка містила усі класи ліпідів, які визначали за допомогою рідинної хроматографії та мас-

спектрометрії. А серед ліпідів найбільше було виявлено холін- і етаноламін-гліцерофосфоліпідів, фосфатидів інозитолу, серину та сфінгоміеліну.

Печінка, нирка, селезінка і підшлункова залоза — органи з дуже високими рівнями Spm, який може перевищувати 100 мг/кг$^{-1}$ [337, 338].

У літературі є ряд досліджень, пов'язаних з виділенням ліпідів та поліамінів із селезінки та рослин [337,339].

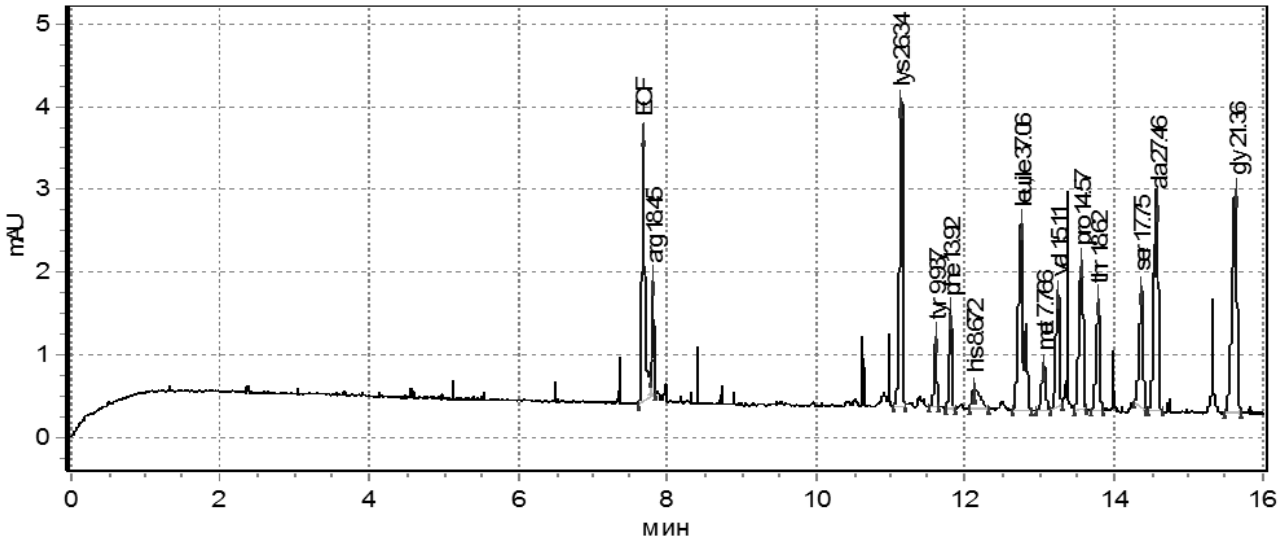


Рис. 3.4. Хроматограма амінокислотного складу селезінки свині

Як видно з хроматограми (Рис. 3.4) і таблиці 3.2 у селезінці було виявлено найбільшу концентрацію лейцину та ізолейцину, аланіну, лізину, гліцину, аргініну. В отриманому препараті виявлено лише аргінін.

Таблиця 3.2

Вміст амінокислот у селезінці

№	Час	Назва	Висота	Площа	Концентрація, мг/л
1	7.678	EOF	3.274	78.16	—
2	7.812	arg	1.395	26.76	18.45
3	11.150	lys	3.702	104.2	26.34
4	11.607	tyr	0.852	23.52	9.937
5	11.812	phe	1.166	32.48	13.92
6	12.135	his	0.255	19.78	8.672
7	12.752	leu, ile	2.263	114.7	37.06
8	13.060	met	0.542	20.75	7.766
9	13.255	val	1.389	48.17	15.11
10	13.563	pro	1.798	65.27	14.57
11	13.793	thr	1.352	49.31	18.62
12	14.375	ser	1.427	57.60	17.75
13	14.587	ala	2.496	110.8	27.46
14	15.637	gly	2.687	131.5	21.36

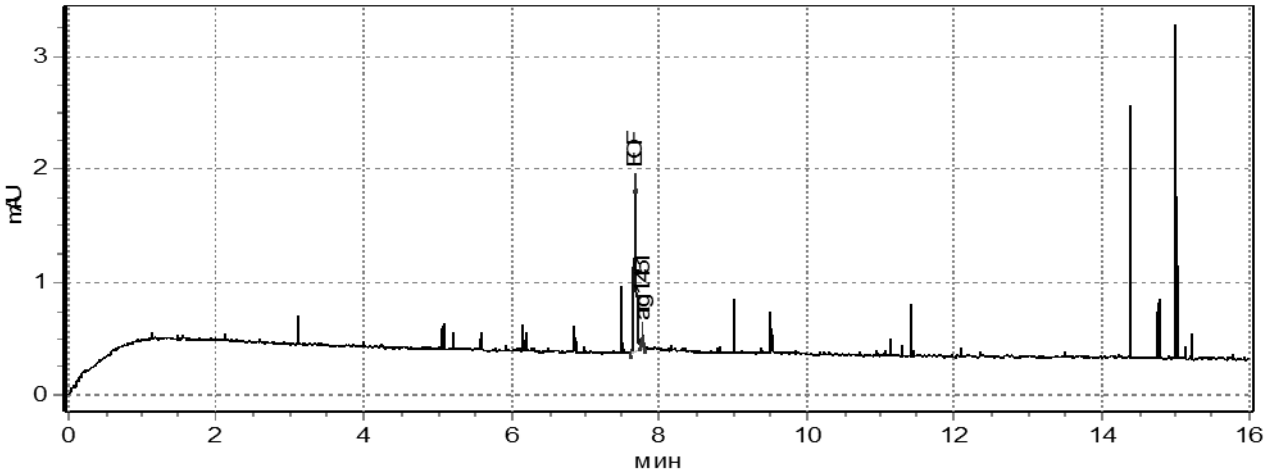


Рис. 3.5. Хроматограма амінокислотного складу препарату селезінки, обробленої ультразвуком

Концентрація аргініну у препараті, отриманого з використанням ультразвукової установки (час експозиції становив 5 хв), була в два рази вищою порівняно з препаратом селезінки, де ультразвук не застосовували — 3,154 мг/л проти 1,451 мг/л відповідно (Рис. 3.5, Рис. 3.6).

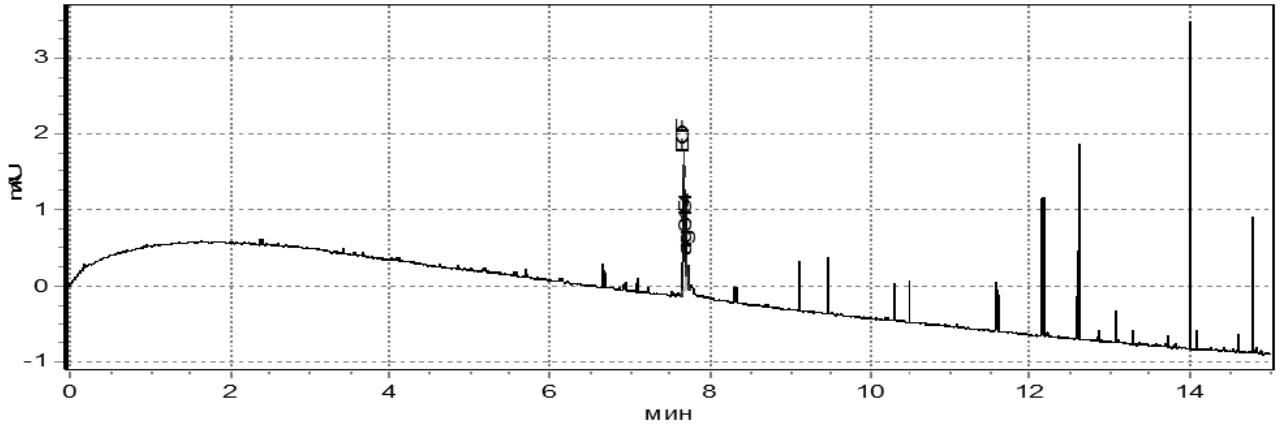


Рис. 3.6. Хроматограма амінокислотного складу препарату селезінки, одержаного без використання ультразвукової установки

Нами проведено визначення вмісту ліпідів, співвідношення підкласів фосфоліпідів у нативній селезінці та отриманому препараті. У результаті досліджень встановлено, що серед ліпідів переважають фосфоліпіди, вміст яких більший на 10 п.п. ($P<0,05$) у препараті, отриманому із застосуванням ультразвуку порівняно препаратом, який одержали без використання ультразвуку, та на 5 п.п. ($P<0,01$) — порівняно із селезінкою (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Вміст і склад ліпідів у селезінці та препараті, %

Показник		Препарат отриманий		Селезінка
		з ультразвуком	без ультразвуку	
	Загальні ліпіди	73,54±5,312	81,99±7,483	4,02±1,578
Фракції:	Фосфоліпіди	37,72±1,646*	26,32±1,596	32,17±1,764**
	Холестерол	15,00±0,706*	10,82±1,141	14,70±2,414
	Моно-і диацилгліцероли	5,54±0,363*	15,82±2,832	2,61±0,877*
	НЕЖК	11,05±0,317	9,12±1,794	10,99±1,237
	Триацилгліцероли	19,90±1,557**	13,28±3,006	22,11±0,988
	Е. холестерол	10,80±0,946*	23,64±3,095	17,42±2,362**

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю).

Вміст холестеролу більший на 4 п.п.(процентний пункт) (P<0,05), триацилгліцеролів — на 6 п.п (P<0,01), натомість менший моно-і диацилгліцеролів — на 10 п.п. (P<0,05), етерифікованого холестеролу — на 13 п.п. (P<0,05) — у препараті, отриманому за допомогою ультразвуку. Щодо нативної селезінки, то встановлені наступні зміни вмісту нейтральних ліпідів: моно-і диацилгліцеролів більше на 3 п.п. (P<0,05), а етерифікованого холестеролу — на 7 п.п. (P<0,01) — у препараті, отриманому за допомогою ультразвуку порівняно із нативною селезінкою.

Щодо співвідношення підкласів фосфоліпідів (табл. 3.4), то вміст фосфатидилхоліну був більшим на 7 п.п. у препараті, отриманому із застосуванням ультразвуку, порівняно як із селезінкою (P<0,05), так і з препаратом буз використання ультразвуку (P<0,01).

Варто зазначити, що у препараті з ультразвуком вміст лізолецитину більший на 9 п.п. (P<0,05), а фосфатидної кислоти — менший на 10 п.п. (P<0,01) порівняно із селезінкою; фосфатидилсерину і кардіоліпіну — менший на 6 п.п. (P<0,05) та 9 п.п. (P<0,01) відповідно, порівняно із препаратом, отриманим без застосування ультразвуку.

Таблиця 3.4

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у селезінці та отриманому препараті, %

Показник	Препарат отриманий		Селезінка
	з ультразвуком	без ультразвуку	
Лізолецитин	11,02±2,425	7,77±3,415	2,12±0,157*
Сфінгоміелін	4,89±2,917	3,09±1,100	6,22±0,540
Фосфатидилсерин	4,36±0,793*	10,31±0,880	6,04±0,722
Фосфатидилхолін	**13,96±2,030****	**6,18±2,738**	**6,95±0,942***
Фосфатидилінозитол	**15,56±4,531**	**15,13±3,764**	**11,23±2,912**
Фосфатидилетаноламін	**20,45±4,412**	**18,53±3,659**	**26,01±4,884**
Кардіоліпін	14,77±3,716**	24,02±4,105	16,87±1,910
Фосфатидна кислота	14,98±1,631	14,98±1,865	24,89±3,529**

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю).

Наші попередні дослідження підтверджено мас-спектрометричним аналізом препарату селезінки (табл. 3.5), де встановлено більшу концентрацію фосфатидилхоліну в екстракті, який піддавався обробці ультразвуком.

Таблиця 3.5

Концентрація біологічно активних речовин в препараті селезінки свині, %

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

Проведені дослідження показали, що за умов використання ультразвуку концентрація загальної кількості поліамінів вірогідно зросла порівняно з контролем на третій та восьмий день екстрагування (P<0,05–0,001). Така ж закономірність спостерігається для концентрації Put (табл. 3.6).

Під час обробки селезінки ультразвуком з дихлоретаном тривалістю 3 та 5 хв різниця була незначною. Більшу концентрацію поліамінів виявлено після обробки ультразвуком протягом 5 хв на восьмий день порівняно з третім днем [340].

Таблиця 3.6

Концентрація поліамінів залежно від часу екстрагування та за використання ультразвукового приладу, (нмоль/л) (M±m, n=3)

Субстрати та час обробки ультразвуком	3 хв ультразвук на 1-й день	5 хв ультразвук на 1-й день	3 хв ультразвук на 3-й день	3 хв ультразвук на 8-й день	контроль
Путресцин	0,72±0,061	0,97±0,037	1,82±0,055	1,48±0,022*	1,41±0,013*
Спермідин	2,42±0,004	2,32±0,004	3,32±0,007	3,25±0,005	3,28±0,005
Спермін	2,30±0,028	2,15±0,029	3,18±0,065	4,15±0,037	3,15±0,007
Загальна кіл-ть поліамінів	5,44±0,46	5,43±0,015	8,32±0,025	8,87±0,026*	7,84±0,015*

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; (стосовно контролю)

У звуковому і низько ультразвуковому діапазоні, що охоплює межі від 10 до 50 кГц, проявляються такі фізико-хімічні явища, як акустична кавітація, інтенсивне перемішування, перемінний рух частин, інтенсифікація масообмінних процесів. При цьому утворюються суспензії, емульсії та проходить селективне руйнування клітин і мікроорганізмів у суспензіях [341]. Така дія не змінює структуру речовин, і не діє на клітинному і субклітинному рівні, та не викликає електронне збудження та магнітний і електроакустичний ефект.

Результати наших досліджень доцільно застосовувати для одержання біологічно активних речовин з метою скорочення часу екстракції та проведення стерилізації отримуваної сировини. Одержані таким способом препарати перспективно використовувати для внутрішнього застосування тваринам та птиці. Основною діючою речовиною в препараті одержаного із селезінки свині з використанням ультразвукової установки можна вважати

фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, фосфатидилінозитол, поліаміни та аргінін.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Грабовський С. С. 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 ім. С. З. Ґжицького. — 2013. — Т. 15, № 1(1). — С. 286–290. — Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/j-pdf/**nvlnu**_2013_15_1(1)__52.pdf.

2. Патент України на корисну модель UA. — № 92225; МПК **:** A61K 35/28 (2006.01), A61K 31/04 (2006.01), A61K 31/13 (2006.01). Спосіб виробництва біологічно активних речовин селезінки — поліамінів / Грабовський С. С.**,** Драчук У. Р. — u 2014 01325 ; заявл. 11.02.2014 ; опубл. 11.08.2014; 11.08.2014, Бюл. № 15 — 4 с.

3.3 Вплив передзабійного стресу на біохімічні показники лабораторних тварин (концентрацію кортизолу, рівень апоптозу спленоцитів, активність супероксиддисмутази (СОД), каталази) за умов використання препарату селезінки та в залежності від статі.

Стрес є багатофакторним явищем, що впливає на функціонування багатьох органів і систем організму. Найбільш вразливою до дії стресу є імунна система людини [342], що призводить до різкого зниження опірності організму до інфекцій та розвитку злоякісних новоутворень. Саме тому важливе значення набуває використання імуномодуляторів для посилення опірності імунної системи до стресу. Селезінка як природне джерело біологічно-активних речовин є потенційним кандидатом на роль такого імуномодулятора.

У практиці охорони здоров'я широке застосування знайшов спленін, отриманий в 1945 році академіком В. П. Комісаренком. У препараті були виявлені пептиди, що містять 13 амінокислот, безліч жирних кислот, ліпіди, мікроелементи. Спленін має виражені детоксикаційні властивості. Його використовували при лікуванні токсикозів вагітності, гепатитах, тиреотоксикозі, шизофренії, діабеті, алергічної нежиті, кропивниці та алергічних дерматитах. Однак діючі речовини спленіну досі не ідентифіковані, а механізм багатьох його ефектів не встановлено. Саме тому детальне вивчення біохімічних механізмів імуномодуляторної дії екстрактів селезінки має важливе прикладне значення.

У роботі нами було використано екстракт селезінки свині, що готувався по методиці, описаній вище. Завданням даної роботи було оцінити потенційну імуномодуляторну та антистресову дію даного препарату на рівень гормонів, ензимів і функціональний стан спленоцитів щурів різної статі за умов передзабійного стресу.

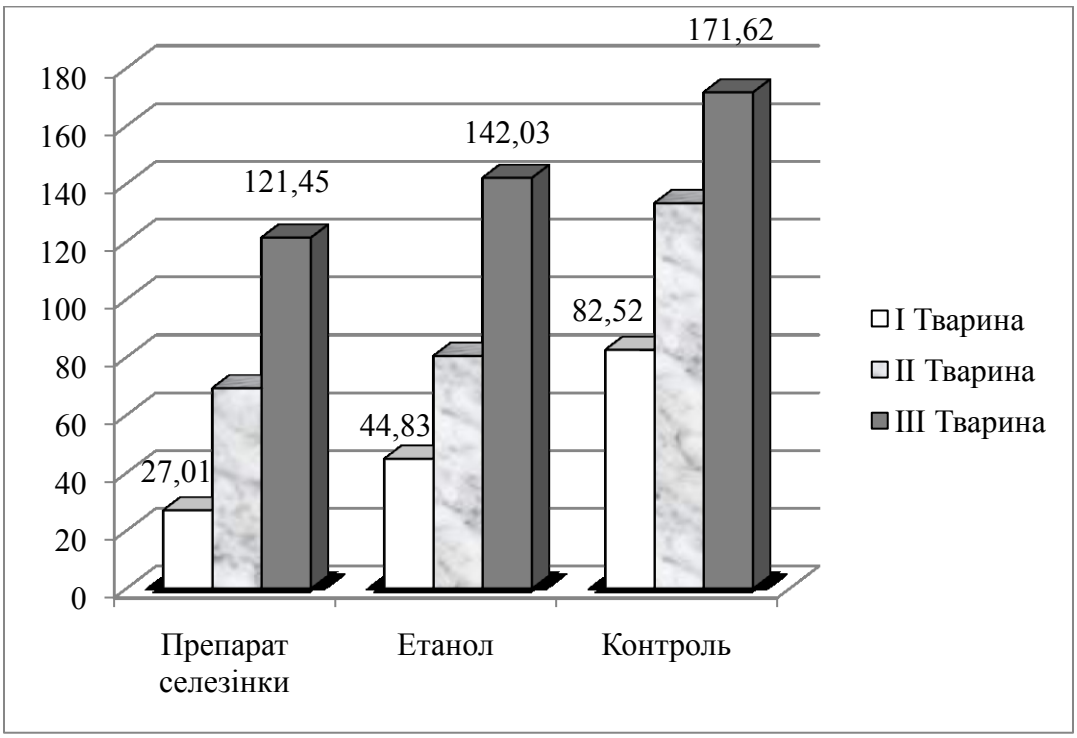


Рис. 3.7. Рівень кортизолу (нг/мл) у плазмі крові самок щурів за використання препарату селезінки та етанолу за умов передзабійного стресу

Аналізуючи результати проведених досліджень встановлено найвищий рівень кортизолу у плазмі крові самок щурів контрольної групи, менший на 17 % вміст кортизолу спостерігали у плазмі крові щурів, яким аерозольним способом до стандартного корму вносили 70 % розчин етанолу.

Найменша (на 29 %) порівняно з контролем концентрація кортизолу відмічена у лабораторних тварин, яким впродовж п’яти днів (у передзабійний період) в аналогічній кількості додавали препарат селезінки свині, що може вказувати на зниження рівня передзабійного стресу (Рис. 3.7).

Порівнюючи вміст кортизолу у плазмі крові самців і самок (Рис. 3.8) лабораторних тварин за використання препарату селезінки та в залежності від почерговості взяття тварин із кліток за умов передзабійного стресу встановлено деякі різниці залежно від статі щурів. Можна зробити припущення, що самці щурів менш чутливі до передзабійного стресу або ж препарат селезінки призводив до значнішого ефекту (нівелював стрес перед забоєм). Різниці у вмісті кортизолу у плазмі крові самців, яких з кліток виймали першими та другими, практично не спостерігали, чого не можна стверджувати про тварин, яких з клітки виймали третіми — рівень кортизолу у них зріс вдвічі і становив 98(нг/мл).

Щодо самок, то були відмічені суттєві різниці в залежності від почерговості взяття тварин із кліток: найменший вміст кортизолу встановлено у плазмі крові самок, яких з клітки виймали першими; більший — у 2,6 разу (порівняно з першими) — у самок, яких з клітки виймали другими; ще більший — у 4,5 разу (порівняно з першими) у самок, яких з клітки виймали третіми. У плазмі крові самок, яких із клітки виймали третіми, вміст кортизолу був більшим у 1,7 разу порівняно з самками, яких із клітки виймали другими (Рис. 3.8). Отже, можна зробити висновок, що самки лабораторних тварин порівняно із самцями проявляли більшу чутливість до передзабійного стресу.

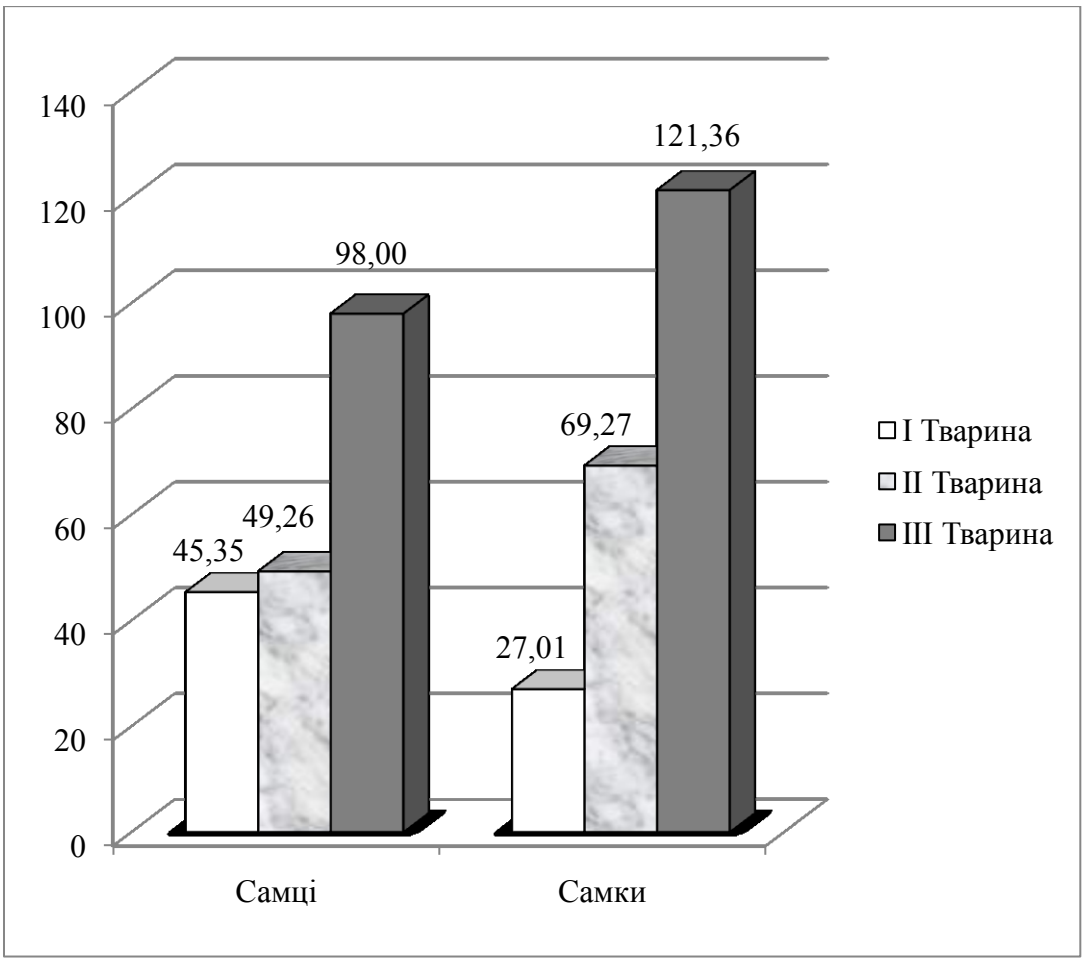


Рис. 3.8. Рівень кортизолу (нг/мл) у плазмі крові самців і самок щурів за використання препарату селезінки за умов передзабійного стрессу

Нами було виявлено, що екстракт селезінки проявляв діаметрально протилежну дію на функціональний стан клітин селезінки у самців і самок щурів, що піддавалися дії стресу. Зокрема, у самок він призводив до більш ніж 3-кратного зростання аннексин V-позитивних (апоптичних) клітин у селезінці, у порівнянні з самцями, де цей показник становив лише 13,95% (Рис. 3.8). Зростання цього показника пояснюється тим, що екстракт селезінки є джерелом антигенів, які через антиген-презентуючі та дендритні клітини надходять до селезінки, де вібувається їх контрольована загибель шляхом апоптозу, та підвищення імунного статусу організму. У самців цей процес був слабше виражений, що очевидно пояснюється іншим гормональним фоном у них.

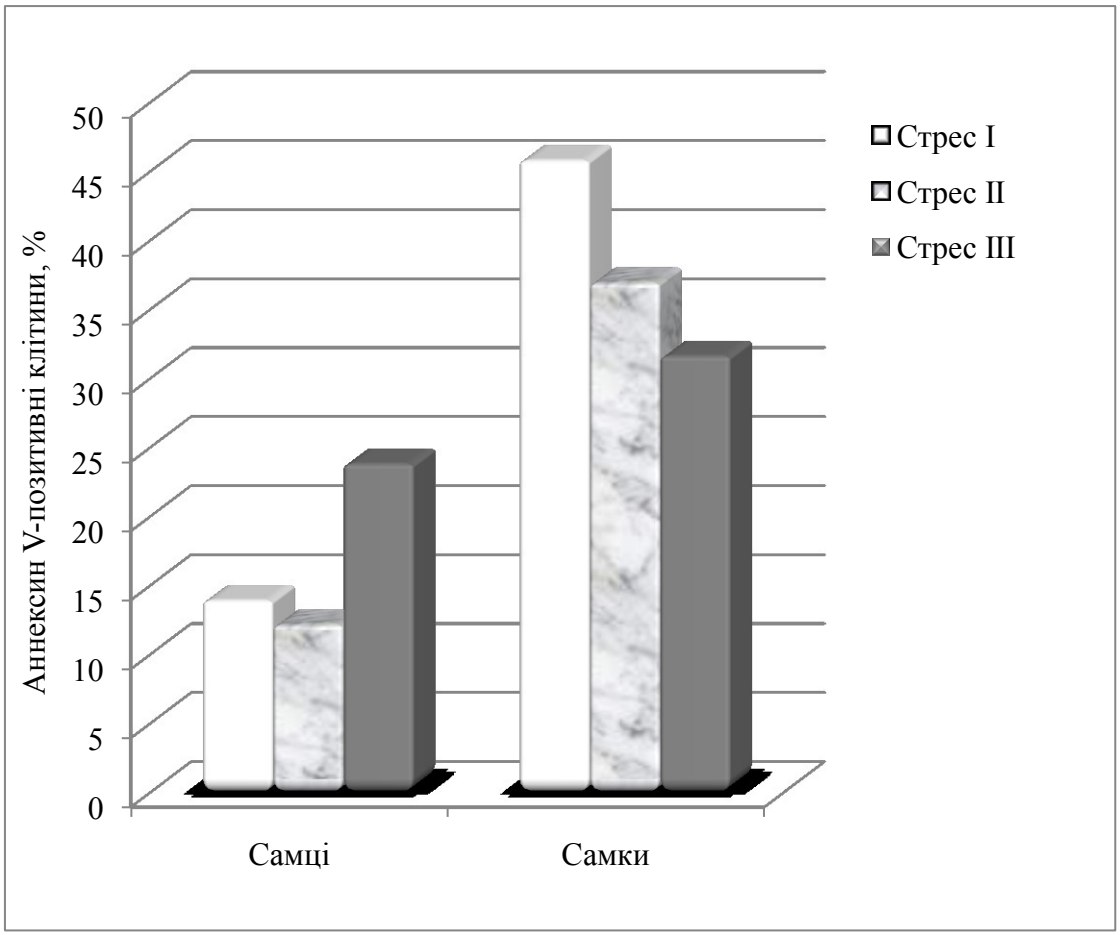


Рис.3.8. Вплив препарату селезінки на рівень апоптозу у спленоцитах щурів за дії передзабійного стресу. Фарбування аннексином V/пропідій йодидом.

Відмінність у реакції самців та самок на імуномодуляторну дію екстракту селезінки також проявлялася і при зростанні інтенсивності стрессу (Рис. 3.8). Зокрема, у самців при максимальній (III) стадії стресу спостерігалося зростання рівня апоптичних клітин у селезінці з 13,95 до 23,83 %, тоді як у самок цей показник достовірно знижувався ($p<0,05$) з 45,84 до 31,65 %. Ці дані також негативно корелюють з рівнем кортизолу у крові піддослідних тварин, який різко зростав у 1,5–6,0 разу у тварин з III стадією стресу у порівнянні з I стадією.

Глюкокортикоїди, до яких належить кортизол, є потужними протизапалними гормонами, однак їх дія на лімфоцити є часто різнонаправленою. Зокрема, при ішемічній хворобі серця рівень кортизолу зростає, що призводить до посилення апоптозу спленоцитів у печінці [343].

Аналогчні дані отримані на моделі теплового стресу у щурів [344], однак у цьому випадку авторами не було виявлено впливу цього гормону на апоптоз спленоцитів.

У нашому випадку зростання рівня апоптозу за стресу та дії екстракту селезінки спостерігалося тільки у самців щурів, тоді як у самок ефект був прямо протилежний. Очевидно, що у даному випадку дія кортизолу блокувалася жіночими статевими гормонами, які володіють принципово іншими ефектами на життєздатність клітин селезінки. Це питання потребує більш детального вивчення у подальших дослідженнях. За зростання інтенсивності стресу у самок щурів (тварини, яких брали з кліток п'ятими), що додатково отримували з кормом препарат (тварини I дослідної групи), рівень апоптичних клітин селезінки вірогідно 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.3.9, 3.10).

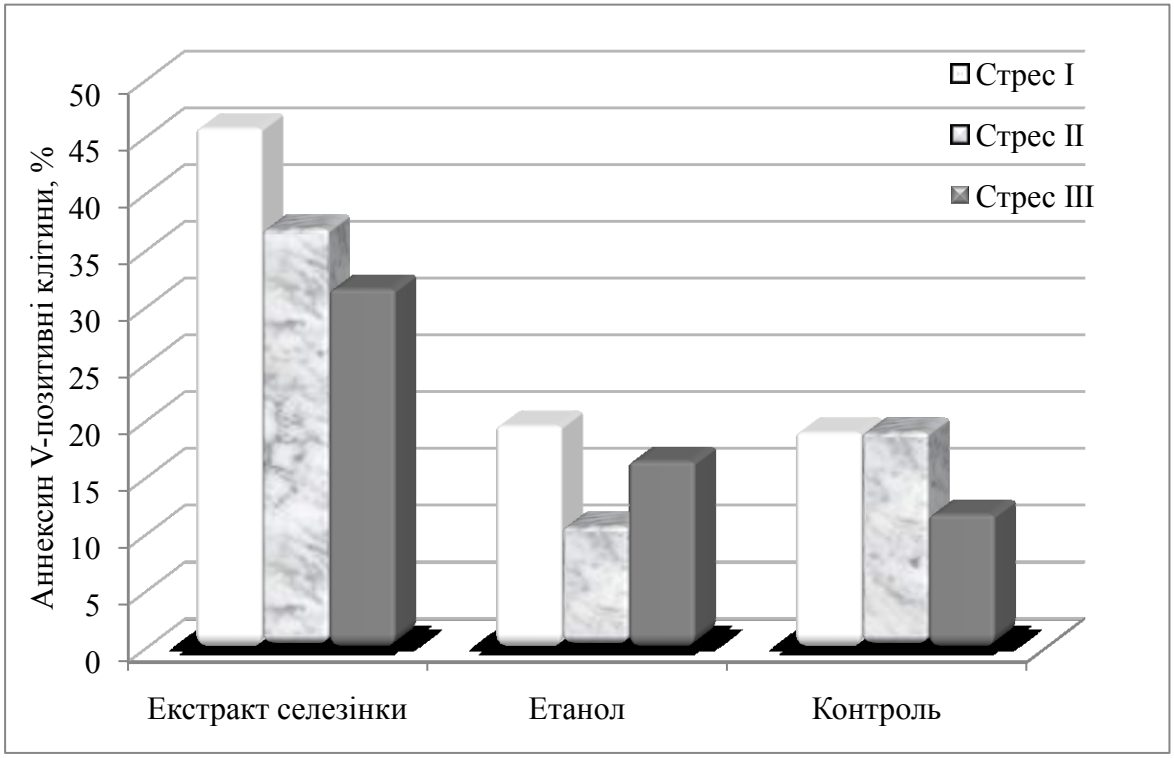
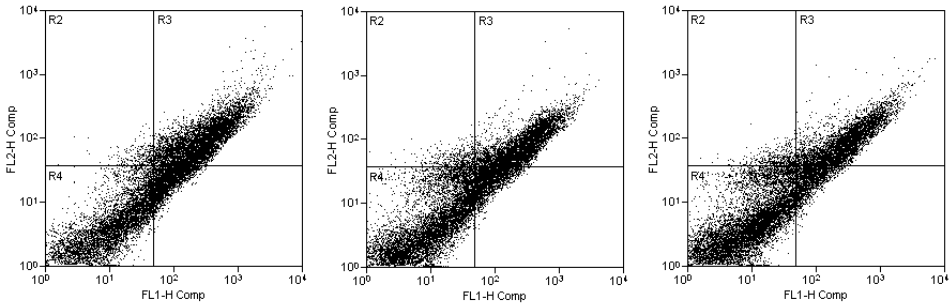


Рис. 3.9. Порівняння дії препарату селезінки та етанолу на рівень апоптозу у спленоцитах самок щурів за дії стресу. Фарбування аннексином V/пропідій йодидом.



1 3 5

Тварини

Рис. 3.10. Вплив екстракту селезінки на індукцію апоптозу в спленоцитах щурів за дії передзабійного стресу

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

У всіх випадках у тварин на 3-й стадії стресу спостерігалося зниження рівня апоптозу у спленоцитах, що може підтверджувати наше припущення про модуляторний вплив жіночих статевих гормонів на модуляцію стресу у самок.

Характеризуючи активність досліджуваних ферментів (каталази та супероксиддисмутази) як між самцями та самками при використанні препарату та етанолу за умов перед забійного стресу (Рис. 3.11, 3.12) і окремо у самок (Рис. 3.13, 3.14) жодної закономірності ми неспостерігали

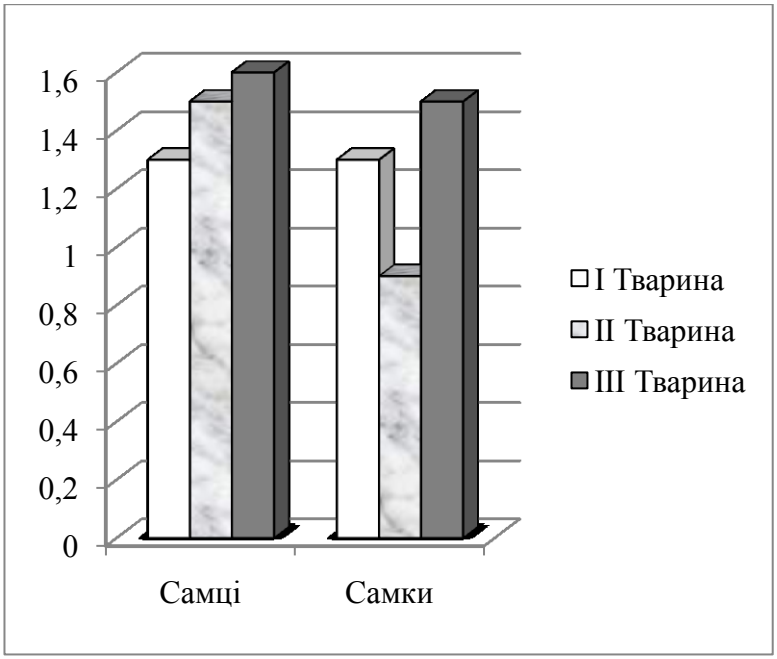


Рис. 3.11. Активність супероксиддисмутази ум.од./мг протеїну у самців і самок при використанні препарату за умов перед забійного стресу

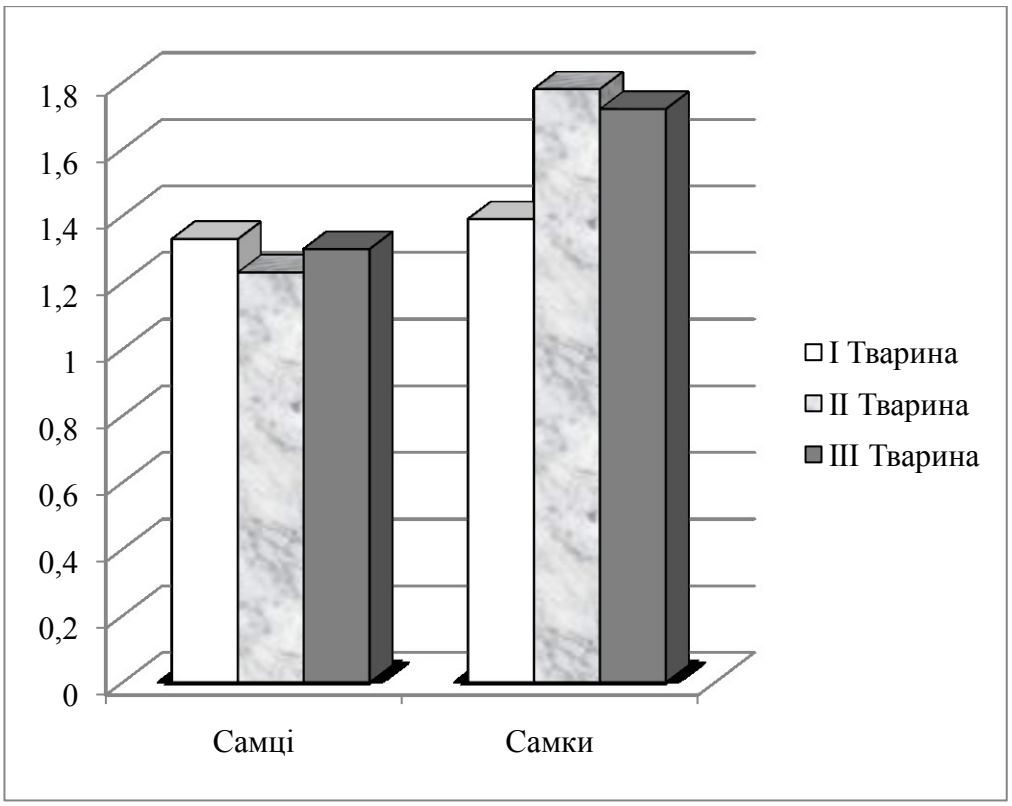


Рис. 3.12 Рівень каталази ммоль H_2O_2/хв мг протеїну у самців і самок при використанні препарату за умов перед забійного стресу

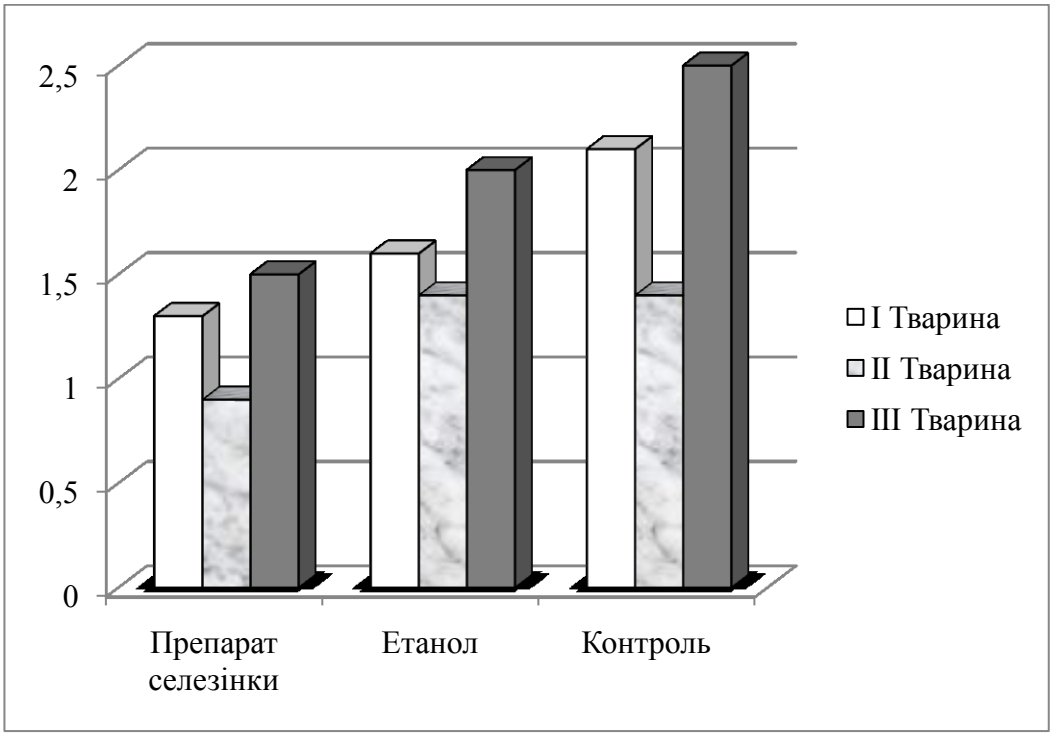


Рис. 3.13. Рівень супероксиддисмутази ум.од./мг протеїну у самок при використанні препарату та етанолу за умов перед забійного стресу

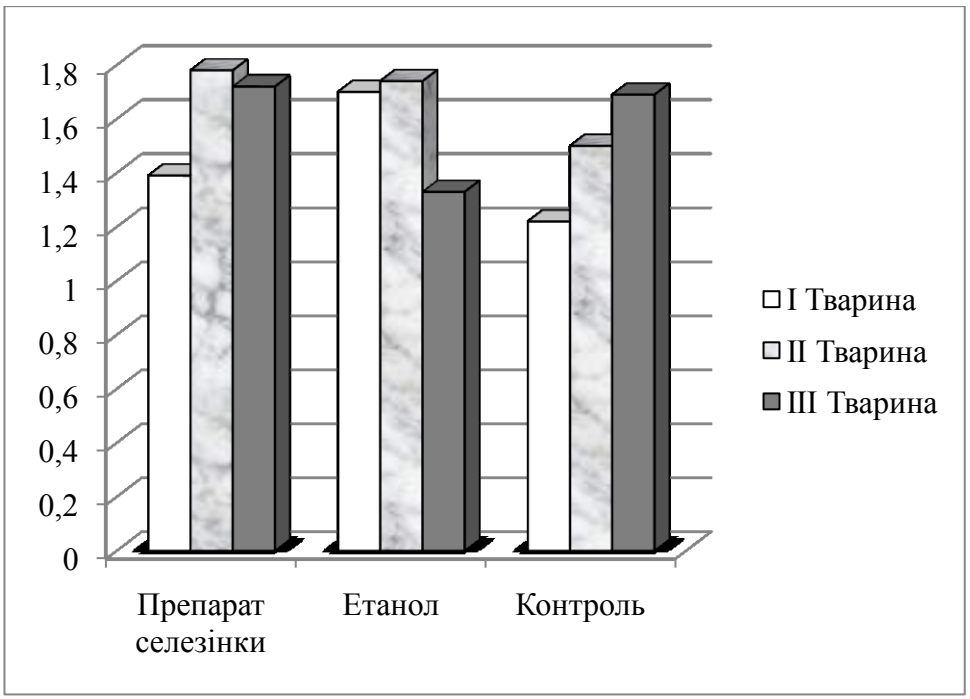


Рис. 3.14. Рівень каталази ммоль H_2O_2/хв мг протеїну у самок при використанні препарату та етанолу за умов передзабійного стрессу

За використання препарату селезінки за умов стресу перед забоєм із досліджуваних біохімічних показників плазми крові у самців та самок щурів лінії Вістар вірогідних змін не спостерігали (табл. 3.7). Усі досліджувані параметри були в межах фізіологічної норми, за винятком глюкози, вміст якої у плазмі крові усіх лабораторних тварин: як самок, так і самців, дещо перевищував норму, що може вказувати на значний стрес щурів перед забоєм. Вміст альбуміну та загального протеїну у плазмі крові як самців, так і самок практично був однаковим. Щодо рівня загального білірубіну, який коливався від 4,8 до 11,3 у плазмі крові самців та від 7,9 до 12,8 мкмоль/л — у самок, то можна зробити припущення про статеву відмінність: у самок вміст білірубіну дещо більший. Порівнюючи активність ензимів залежно від статі, необхідно відзначити більшу на 35,3 одиниць активність АсАт, натомість нижчу на 219 одиниць активність лактатдегідрогенази у плазмі крові самок. Вміст креатиніну, сечовини, холестеролу, Кальцію і Фосфору у плазмі крові як самок, так і самців щурів не відрізнявся.

Таблиця 3.7

Біохімічні показники крові щурів при використанні препарату селезінки за умов стресу перед забоєм (M±m, n=3)

Показники	Самці	Самки
Альбумін, г/л	28,40±3,160	27,27±5,811
Загальний протеїн, г/л	68,30±4,223	73,57±5,179
Загальний білірубін, мкмоль/л	8,60±3,387	10,20±2,464
АлАт, мкмоль/годхмл	114,37±7,635	116,73±7,206
АсАт, мкмоль/годхмл	151,70±16,174	187,00±44,885
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/годхмл	668,70±72,894	449,70±327,273
Лужна фосфатаза, ммоль/гхл	11,73±6,486	10,67±2,550
Креатинін мкмоль/л	31,60±2,955	32,57±9,640
Сечовина нітроген, ммоль/л	8,06±0,660	7,21±1,160
Холестерол, ммоль/л	1,96±0,097	2,04±0,219
Кальцій загальний (Са), ммоль/л	2,72±0,281	2,82±0,170
Фосфор неорганічний (Р), ммоль/л	1,32±0,108	1,43±0,046
Глюкоза, ммоль/л	9,14±1,915	9,0±1,518

За використання препарату селезінки активність АлАт плазми крові самок була на 19 % (P<0,01) вищою стосовно контролю. За іншими показниками різниці ми не спостерігали (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Біохімічні показники крові самок щурів при використанні препарату селезінки та етанолу за умов стресу перед забоєм (M±m, n=3)

Показники	Препарат селезінки	Етанол	Контроль
Альбумін, г/л	27,27±5,811	32,2±3,439	32,3±2,816
Загальний протеїн, г/л	73,57±5,179	72,50±7,093	75,53±3,683
Загальний білірубін, мкмоль/л	10,20±2,464	11,57±6,198	9,20±2,326
АлАт, мкмоль/годхмл	116,73±7,206**	80,97±20,602	95,40±8,743
АсАт, мкмоль/годхмл	287,00±160,638	328,27±196,707	189,03±30,729
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/годхмл	449,70±327,273	612,03±309,567	415,97±94,227
Лужна фосфатаза, ммоль/гхл	10,67±2,550	10,70±0,755	15,80±7,365
Креатинін мкмоль/л	32,57±9,640	21,87±13,197	19,27±9,374
Сечовина нітроген, ммоль/л	7,21±1,160	8,83±2,993	8,46±2,845
Холестерол, ммоль/л	2,04±0,219	2,29±0,310	2,08±0,310
Са, ммоль/л	2,82±0,170	2,79±0,117	2,93±0,206
Р, ммоль/л	1,43±0,046	1,74±0,317	1,49±0,091
Глюкоза, ммоль/л	9,00±1,518	9,27±2,823	8,73±2,152

3.4 Дослідження впливу біологічно активних речовин на показники клітинного метаболізму, імунної системи та морфометричні характеристики органів лабораторних тварин за умов стресу перед забоєм

Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету та рівень кортизолу

Поряд із збалансованою годівлею й належним утриманням тварин, важливим завданням є підвищення резистентності та зміцнення імунітету, зокрема у стресовому стані — перед забоєм тварин. У літературі недостатньо висвітлені питання про вплив передзабійного (стресового) стану тварин на окремі показники імунітету і концентрацію стресових гормонів і, зокрема кортизолу. Оскільки передзабійний стан є стресовим для тварини, в гіпоталамусі активно відбувається секреція рилізінг-гормону (КРГ), що призводить до підвищення рівня адренокортикотропного гормону (АДКГ), який у свою чергу стимулює секрецію кортизолу та інших стресових гормонів наднирників. Тому збільшення рівня цього гормону в крові свідчить про стресовий стан у тварин. Наші дослідження на щурах були модельними і їх можна використати у подальших дослідженнях на домашніх тваринах. Але слід пам’ятати, що перед забоєм домашніх тварин не можна використовувати препарати, які мають негативно впливають на організм людини після споживання продукції від цих тварин. Саме тому у дослідженнях ми використали біологічно активні речовини природного походження: екстракти селезінки, ехінацеї та лимоннику, а також пророщене зерно. Метою роботи було встановити, якими саме речовинами можна підвищити резистентність та зміцнити імунітет домашніх тварин за одночасного зменшення передзабійного стресу.

При аналізі результатів досліджень показників імунного статусу організму, встановили більшу кількість загальних Т-лімфоцитів низькоавідних (малодиференційованих), тобто з низькою щільністю рецепторів (3–5) у крові щурів усіх дослідних груп: І дослідна — на 8,5 п.п. ($P<0,01$); ІІ дослідна — на

6,9 п.п. (P<0,01) і III дослідна група — на 5,2 п.п. (P<0,05); Т-лімфоцитів активних — на 7 п.п. (P<0,01) та Т-лімфоцитів хелперів «нульових» 6,2 п.п. (P<0,01) — лише у крові щурів I дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи (Таблиця 3.6).

Отримані нами дані подібні до результатів досліджень деяких авторів [345], які повідомляють, що випоювання бройлерам, як самого настою з евкаліпту, так і з додаванням вітаміну С, мало стимулювальний вплив на активність Т-В-клітинної ланки імунітету; що кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів у крові гусенят та індичат, яким додатково до раціону вводили вітамін Е була більша, ніж у тварин контрольної групи [346].

Деякі автори [346] виявили, що у крові індичат і гусенят дослідних груп є вища функціональна активність імунокомпетентних клітин за рахунок перерозподілу авідності рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів, а саме збільшення кількості лімфоцитів із низькою і середньою щільністю рецепторів і зменшення недиференційованих у функціональному відношенні клітин. Констатовано стимулювальний вплив токоферолу на бластогенез Т-лімфоцитів крові індичат і гусенят дослідних груп.

У результаті проведених нами досліджень (табл. 3.9) встановлено зменшення Т-лімфоцитів-хелперів низькоавідних (малодиференційованих), тобто з низькою щільністю рецепторів (3–5) у щурів II та III дослідних груп, відповідно: на 8,92 п.п. (P<0,05) та на 4 п.п. (P<0,05) порівняно з тваринами контрольної групи. Збільшення відсотка Т-супресорів в крові щурів II дослідної групи на 7,92 п.п. (P<0,01) вказує на зменшення кількості В-клітин та синтез антитіл, через зменшення трансформації плазматичних В-лімфоцитів у плазматичні клітини.

Кількість В-лімфоцитів вірогідно більша у крові тварин I дослідної групи за рахунок «нульових» недиференційованих у функціональному відношенні клітин 61,0±2,94, що на 11,5 п.п. (P<0,05) більше порівняно з контролем. Слід відмітити зменшення загальної кількості В-лімфоцитів на

Таблиця 3.9

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові щурів, (M±m; n=5)

Показник	Групи тварин			
	І Дослідна	**ІІ Дослідна**	**ІІІ Дослідна**	**Контрольна**
Т-загальні (ТЕ–РУЛ), % нульові (0) (недиференційовані)	54,3±7,59	55,7±4,16	55,8±4,23	60,8±1,5
низькоавідні (3–5) (малодиференційовані)	38,3±6,02**	36,7±0,58**	35,0±2,0*	29,8±2,87
середньоавідні (6–10)	5,8±3,30	6,0±2,65	6,0±1,41	6,5±1,92
високоавідні М (високодиференційовані)	1,8±1,26	1,7±1,56	3,3±2,22	3,0±2,58
%	45,8±4,92**	44,3±4,16	44,3±4,43	39,3±1,5
Т-активні (ТА–РУЛ), % нульові (0) (недиференційовані)	76,5±1,92**	72,7±4,04	70,5±3,79	69,5±3,87
низькоавідні (3–5) (малодиференційовані)	23,3±4,57	22,0±2,0	22,5±1,92	23,8±2,63
середньоавідні (6–10)	2,8±2,87	4,3±1,53	4,0±1,16	4,3±1,71
%	26,0±3,46	27,3±4,04	27,0±1,63	28,0±1,83
Т-теофілінрезистентні (Th–РУЛ), % нульові (0) (недиференційовані)	75,0±3,27**	71,3±4,62	72,3±2,87	68,8±2,5
низькоавідні (3–5) (малодиференційовані)	23,5±3,11	18,3±2,08*	23,3±1,89*	27,3±0,96
середньоавідні (6–10)	3,5±1,29	6,0±1,73	3,0±1,14	4,0±2,16
високоавідні М (високодиференційовані)	0,5±0,56	1,0±1,0	1,5±1,29	0,0±0,0
%	27,5±3,0	25,3±1,16*	27,8±2,87	31,3±2,5
Ts %	14,5±4,73	19,7±3,06**	16,5±5,69	11,8±3,5
В-РУЛ (ЕАС-РУЛ), % нульові (0) (недиференційовані)	61,0±2,94*	54,0±3,01	55,3±5,5	49,5±4,44
низькоавідні (3–5) (малодиференційовані)	29,5±2,52	31,7±3,22	34,8±4,11	33,0±3,37
середньоавідні (6–10)	6,5±2,38**	9,7±0,58	9,5±1,29	10,3±1,71
високоавідні М (високодиференційовані)	3,0±1,83**	4,3±2,89	3,0±4,0	7,3±2,5
%	39,0±2,94*	45,7±3.75	47,3±4,86	50,5±4,44

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

11,5 п.п. (P<0,05) у крові тварин I дослідної групи за рахунок середньоавідних, тобто клітин з середньою (6–10) 6,5±2,38 п.п. (P<0,01) та високоавідних, або клітин з високою (M) 3,0±1,83 (P<0,01) щільністю рецепторів порівняно з тваринами контрольної групи.

З цих даних випливає, що додавання до корму препарату селезінки щурам I дослідної групи в основному впливає на функціональні властивості Т-лімфоцитів крові, зокрема зміцнює рецепторний апарат клітин.

Ми провели модельний експеримент на щурах для визначення окремих показників клітинного імунітету і концентрації кортизолу — стресового гормону, як деякі автори у своїх дослідженнях [345, 347]. Відмінністю в цих експериментах було те, що ми враховували лише передзабійний стрес. Такі дослідження можна перенести на домашні тварини для розроблення методів підвищення резистентності організму, корекції та нівелювання впливу стресу перед забоєм тварин з метою покращення якості тваринної продукції.

У плазмі крові щурів, які додатково з кормом отримували препарат селезінки (I дослідна група), рівень кортизолу був вірогідно нижчим (P<0,05) порівняно з тваринами контрольної групи, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм (Рис. 3.15).

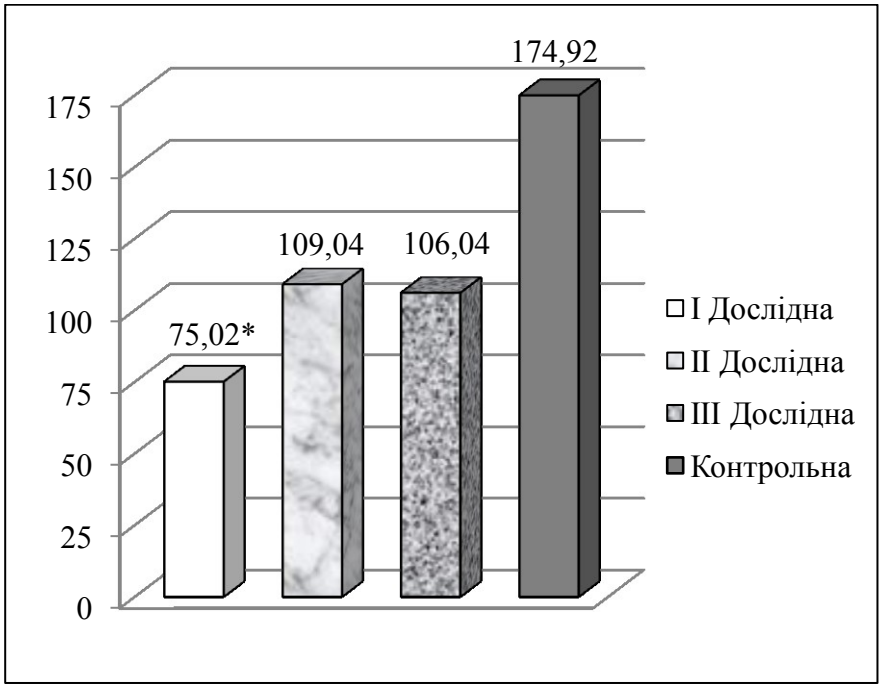


Рис. 3.15. Рівень кортизолу у плазмі крові щурів перед забоєм, нг/мл

Така ж тенденція спостерігалась і у плазмі крові щурів, яким додавали екстракти ехінацеї та лимоннику (ІІ дослідна група), а також пророщене зерно (ІІІ дослідна група). Слід відмітити, що в ІІ дослідній групі могла проявитися дія лимонника китайського, який використовують для підвищення тонусу центральної нервової системи. Тому серед дослідних груп рівень кортизолу у цій групі був найвищим. Ці результати краще ілюструються, коли розглядати зміни рівня кортизолу кожної тварини зокрема. Рівень кортизолу у тварин І дослідної групи коливався у діапазоні від 15,8 нг/мл (тварина, яку з клітки брали першою) до 156,3 нг/мл (тварина, яку з клітки брали п'ятою). У тварин контрольної групи концентрація кортизолу становила 121,9 та 215,0 нг/мл, відповідно. Подібна динаміка, як у тварин І дослідної групи, спостерігалася нами у щурів ІІ та ІІІ дослідних групах, залежно від порядку взяття тварини з клітки (Рис. 3.16).

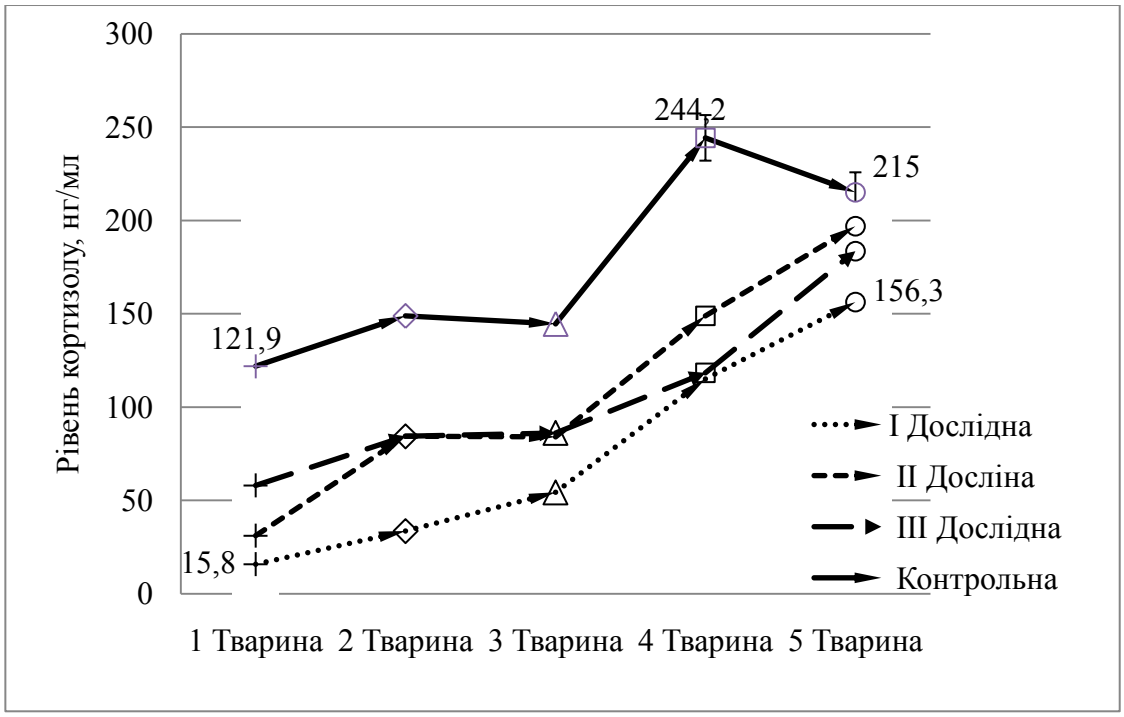


Рис. 3.16. Рівень кортизолу у щурів залежно від порядку взяття з клітки перед забоєм (M±m, n=5), нг/мл

За значеннями середніх квадратичних відхилень (табл. 3.10) не можна стверджувати про існування певної закономірності щодо однорідності дослідних груп стосовно середнього рівня кортизолу у групах тварин.

У той же час, беручи до уваги значення квадратичних коефіцієнтів варіації, які від першої групи до контрольної стають меншими, можна зробити висновок про певну закономірність: від першої тварини у клітці до останньої простежується не просто зростання концентрації показника, а прослідковується з кожною групою щораз вища однорідність сукупності, на що вказує квадратичний коефіцієнт варіації.

Таблиця 3.10

Результати дисперсійного аналізу рівня кортизолу у плазмі крові щурів

Показник	Групи тварин			
	Дослідні групи			Контрольна
	I	II	III	
Середнє значення, нг/мл	75,0	109,0	106,0	174,9
Дисперсія	2772,9	3321,7	1865,6	2162,7
Середнє квадр. відхилення, нг/мл	52,6	57,6	43,2	46,5
Квадратичний коеф-нт варіації, %	70,2	52,9	40,7	26,6

З метою виявлення взаємозв’язку між згодовуванням щурам екстрактів тваринного і рослинного походження та рівня кортизолу нами застосовано один із статистичних методів оцінювання щільності кореляційного зв’язку за даними групування, а саме використано таку міру щільності зв’язку як кореляційне відношення $\eta^2 = \frac{\delta^2}{\sigma^2}$ де δ^2 — міжгрупова дисперсія, яка вимірює варіацію залежної ознаки під впливом фактора, а σ^2 — загальна дисперсія. У нашому випадку кореляційне відношення η^2 дозволяє оцінити наявність та силу впливу згодовування екстрактів рослинного і тваринного походження на рівень кортизолу в крові від першої до останньої тварини у клітці.

За даними дослідних груп: I дослідна група (додавання до основного раціону тварин препарату селезінки), II дослідна група (додавання екстрактів ехінацеї та лимоннику), III дослідна група (додавання до раціону пророщеного

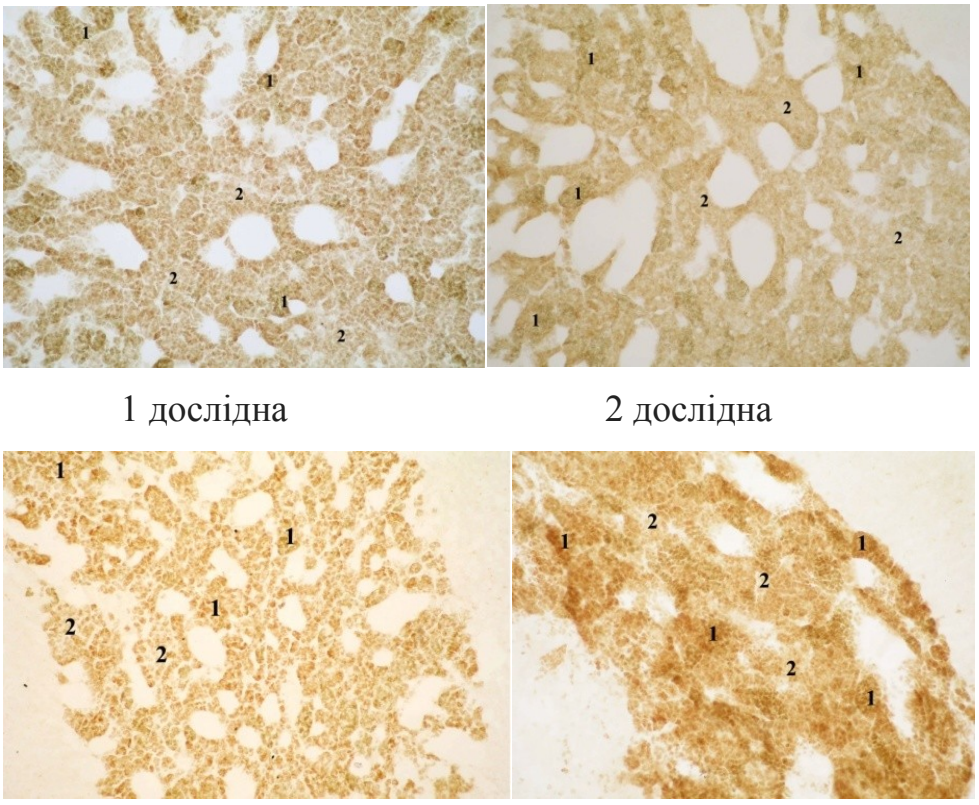
зерна), нами розраховано загальну дисперсію (σ^2=3855,4), середню з внутрішньогрупових ($\overline{\sigma_i^2}=2530{,}7$) та із формули взаємозв'язку між трьома дисперсіями — правила складання дисперсій $\sigma^2 = \delta^2 + \overline{\sigma_i^2}$ розраховано міжгрупову дисперсію (δ^2=1324,7)

Отримане нами значення кореляційного відношення (коефіцієнта детермінації) η^2=0,344 свідчить про те, що зміна рівня кортизолу в крові на 34,4 % залежить від зміни значення групувальної ознаки — при додаванні до основного раціону препарату селезінки (I дослідна група), екстрактів ехінацеї та лимоннику (II дослідна група), а також пророщеного зерна (III дослідна група). Значення коефіцієнта кореляції η=0,586 вказує на існування помітного (середнього) кореляційного зв'язку між зміною рівня кортизолу та факторною ознакою.

Нами проведено перевірку істотності кореляційного зв'язку, яка ґрунтується на порівнянні фактичного значення η^2 з критичним, яке могло б виникнути за відсутності зв'язку. Якщо фактичне значення η^2 перевищує критичне, то зв'язок між ознаками не випадковий. Гіпотеза, що перевіряється, формулюється як нульова: H_0: $\eta^2 = 0$. Критичне значення кореляційного відношення для рівня істотності α = 0,05 і відповідного числа ступенів свободи $k_1 = m - 1$ = 3-1 = 2 (m – число груп) і $k_2 = n - m$ =21-3=18 (n – обсяг сукупності) становить $\eta^2_{0,95}(2,18) = 0{,}283$ [348]. Розраховане нами кореляційне відношення $\eta^2 = 0{,}344$ перевищує критичне, а отже, гіпотеза про випадковий характер відхилень групових середніх відхиляється. Зв'язок між додаванням до основного раціону тварин екстрактів тваринного і рослинного походження та рівнем кортизолу з імовірністю 0,95 визнається істотним.

Ці висновки підтверджуються гістологічним визначенням адреналіну та норадреналіну. У організмі при стресі нервові закінчення, прийнявши сигнал, передають його в гіпоталамус, який у відповідь виділяє кортикотропний рилізинг-фактор, що поступає з кров'ю в гіпофіз, він у свою чергу викидає в

кров АКТГ, а останній поступає в надниркові залози. Кора надниркових залоз інтенсивно продукує кортикостероїди і катехоламіни, мозковий шар зокрема дофамін, норадреналін і адреналін. Як візуально видно з (Рис. 3.17) мозкова речовина наднирників тварин контрольної групи забарвлена інтенсивніше порівняно з дослідними групами. А, характеризуючи зміни у тварин дослідних груп, необхідно відмітити найменшу інтенсивність забарвлення у першій дослідній групі, де як антистресори та ІМС використовували препарат селезінки. Результати наших досліджень співпадають з даними [349], де показано активацію гіпоталамуса з виділенням адреналіну та норадреналіну перез забоєм корів.



1 дослідна 2 дослідна

3 дослідна контрольна

Рис.3.17. Наднирники щурів дослідних та контрольної групи. Мозкова речовина наднирника. Хромафінна реакція на адреналін і норадреналін за Хіларпом та Хюкфельтом Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

Ми провели дослідження впливу біологно активних речовин на фагоцитарний індекс крові щурів за умов передзабійного стресу. У крові щурів, які додатково в корм отримували препарат селезінки (І дослідна група), майже у два рази (p<0,01) збільшився фагоцитарний індекс порівняно з тваринами контрольної групи. Подібна тенденція спостерігалася і в крові щурів, яким згодовували екстракти ехінацеї і лимонника (ІІ дослідна група) (Рис. 3.18).

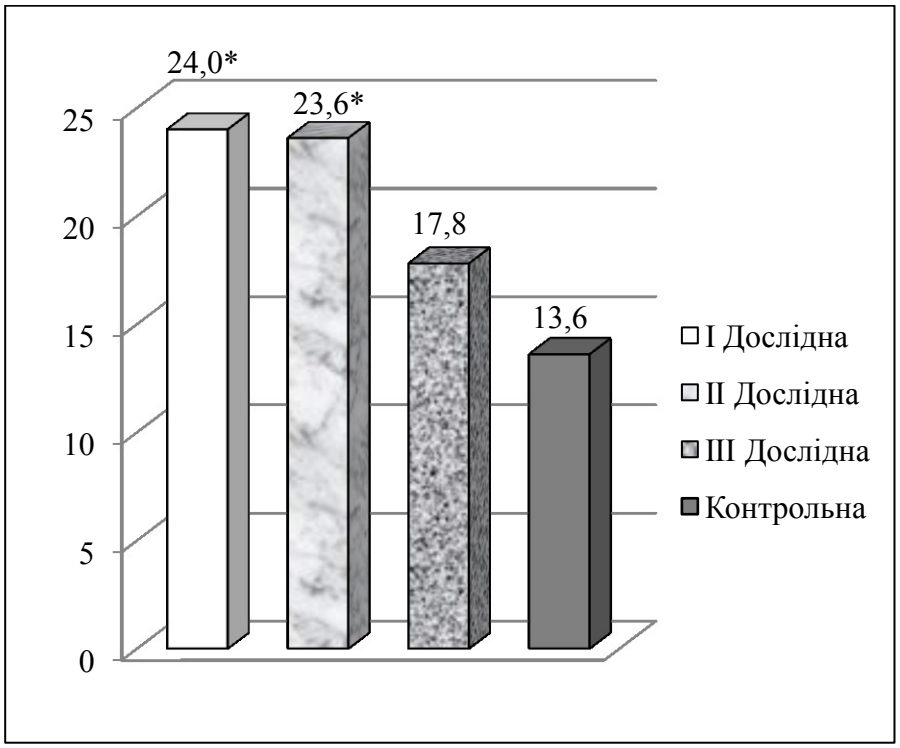


Рис. 3.18. Вплив біологічно активних речовин на фагоцитарний індекс крові щурів, M±m, n=5

Додаткове введення щурам усіх дослідних груп імуностимуляторів природного походження мало стимулювальний вплив на кількість і функціональну активність Т- і В-клітинної ланок імунітету: збільшення кількості загальних Т-лімфоцитів низькоавідних (малодиференційованих), тобто з низькою щільністю рецепторів (3–5) у крові щурів усіх дослідних груп.

У крові тварин, які з кормом отримували препарат селезінки, була більша кількість Т-лімфоцитів активних, Т-лімфоцитів хелперів «нульових» (недиференційованих) та вірогідно нижчий рівень кортизолу порівняно зі щурами контрольної групи.

Поліаміни з препарату селезінки, як імуностимулятори та антистресори, мали найбільший вплив на показники Т- і В-клітинного імунітету та сприяли зниженню рівня кортизолу в крові лабораторних тварин перед їх забоєм.

Проведений статистичний аналіз результатів дослідів у контрольних і дослідних групах тварин на основі квадратичних коефіцієнтів варіації вказує на зростання рівня однорідності дослідних груп, а отже позитивний вплив додавання до основного раціону екстрактів селезінки, ехінацеї, лимонника та пророщеного зерна.

Результати оцінки щільності кореляційного зв'язку, зокрема отримані значення коефіцієнтів кореляції і детермінації, підтверджують висновки про суттєвий вплив згодовування екстрактів рослинного і тваринного походження на рівень кортизолу в плазмі крові тварин та фагоцитарний індекс.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Грабовський С. С. Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові щурів за умов стресу [Текст] / С. С. Грабовський // Біологічні Студії. — 2014. — Т. 8. № 1. — С. 93–102.

2. Грабовский С. С. Влияние биологически активных веществ разного происхождения на лабораторных животных в стрессовом состоянии / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — 2013, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 44. — Выпуск 3. — С. 13–15.

Морфометрична характеристика підшлункової залози щурів за використання біологічно активних речовин за умов передзабійного стресу

Не викликає сумніву, що стресові реакції, спрямовані на адаптацію організму до дії різноманітних чинників зовнішнього середовища, відбуваються за умов взаємодії різних систем, серед яких найважливішу роль відіграє нервова. Також очевидним є те, що пошкодження різних органів і систем відбувається у результаті посилення дії адаптивного ефекту стресу. Вивчення цих питань має важливе значення для обґрунтованого застосування біологічно

активних речовин корегуючої дії. Резистентність організму, показники клітинного імунітету, рівень кортизолу, вміст ліпідів та фосфоліпідів за умов передзабійного стресу та за його нівелювання поліамінами описано у наших попередніх дослідженнях [350,351,352,353,354]. Сьогодні переоцінюються наукові уявлення щодо біологічної ролі високоефективних низькомолекулярних метаболітів природного походження, які мають високу багатовекторну біологічну активність. Насамперед це стосується поліамінів Put, Spm, Spd та Kd, які беруть участь у різноманітних обмінних процесах і діють як ІМД й антистресори [350,351].

Вплив стресу на організм лабораторних тварин достатньо відображений у наукових дослідженнях. Роботи деяких науковців [355,356,357,358,359] були присвячені вивченню морфофункціональних змін у підшлунковій залозі за умов стресу різного характеру та використання біологічно активних речовин для його нівелювання. Проте, однозначної думки про морфологічні й ультраструктурні зміни, а також про функціональну активність підшлункової залози немає, що пов’язано, насамперед, із різним за тривалістю й моделями індукування стресом. Так, у щурів за хронічного стресу знижується у крові концентрація аденілатциклази [360], рівень глюкози, гормону росту, (АДКГ), у цей же час як рівень кортикостерону, інсуліну, С-реактивного протеїну не змінюється [361]. Деякі автори [362,363] стверджують, що періодичний стрес викликає β-клітинну гіперплазію, а також сприяє зменшенню кількості β-клітин та збільшення α-клітин підшлункової залози. Стимуляція анаеробного гліколізу в β-клітинах виступає у ролі універсальної реакції метаболізму на стрес. Посилення гліколізу є проявом компенсаторної перебудови метаболізму, направленої на підтримку рівня енергетичного забезпечення клітин в умовах посилення в них АТФ-залежних процесів, що підтверджується дослідженнями [364,365,366,367].

Не дивлячись на велику кількість досліджень, все ж залишається актуальним вивчення морфологічних порушень у підшлунковій залозі за умов

передзабійного стресу за умов використання біологічно активних речовин природного походження.

Мікроскопічні дослідження підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп показали, що вона складається з екзокринної частини, представленої ацинусами, системою вивідних проток та ендокринної частини, представленої острівцями Лангерганса, β-клітини яких виділяють інсулін.

У щурів І групи підшлункова залоза чітко розділена сполучнотканинними прошарками на часточки, паренхіма яких побудована із панкреоцитів, організованих в ацинуси. Ендокринна частина підшлункової залози — острівці Лангерганса, розміщуються дифузно по всій площі залози, утворюючи невеликі скупчення із світло забарвленою цитоплазмою і ядрами (Рис. 3.19). Базальна частина клітин ацинусів базофільна, тоді як апікальна — оксифільна, містить гранули зимогену. Центроацинозні клітини розміщені переважно у центрі ацинуса і вирізняються світлішим забарвленням, як цитоплазми клітини, так і його ядра.

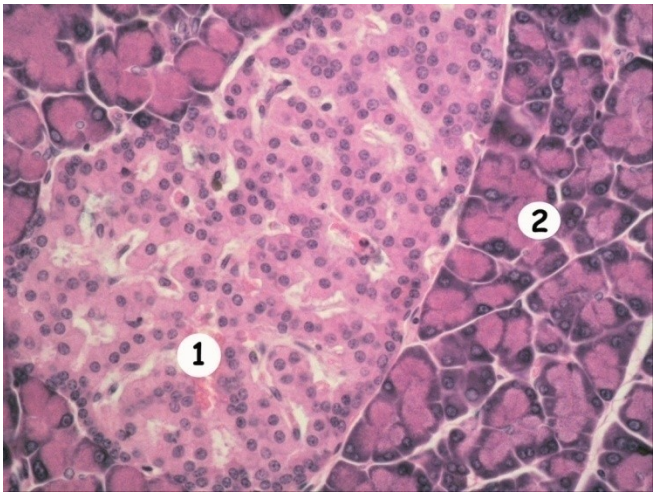


Рис. 3.19. Підшлункова залоза щурів 1 групи. Острівець Лангерганса (1), ацинус (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Відомо, що острівці Лангерганса побудовані із α-, β-, PP- та δ-клітин. Проте, основу ендокринної частини залози складають β-клітини, які розміщуються, як правило, у центральній частині острівців, тоді як α-клітини знаходяться на периферії. Слід відзначити, що α-, β-, та δ-клітини виробляють,

відповідно, такі гормони, як глюкагон, інсулін та соматостатин. PP-клітини синтезують панкреатичний поліпептид.

За морфометричного дослідження діаметру острівців Лангерганса підшлункової залози щурів усіх досліджуваних груп виявляли значні відмінності. Так, у щурів I групи, яким задавали препарат селезінки, площа, яку займали острівці Лангерганса, була найбільшою і становила 278,33 мкм^2, що на 93,57 мкм^2 більше, як у щурів контрольної групи, яким випоювали 70 °розчин етанолу (Рис. 3.20).

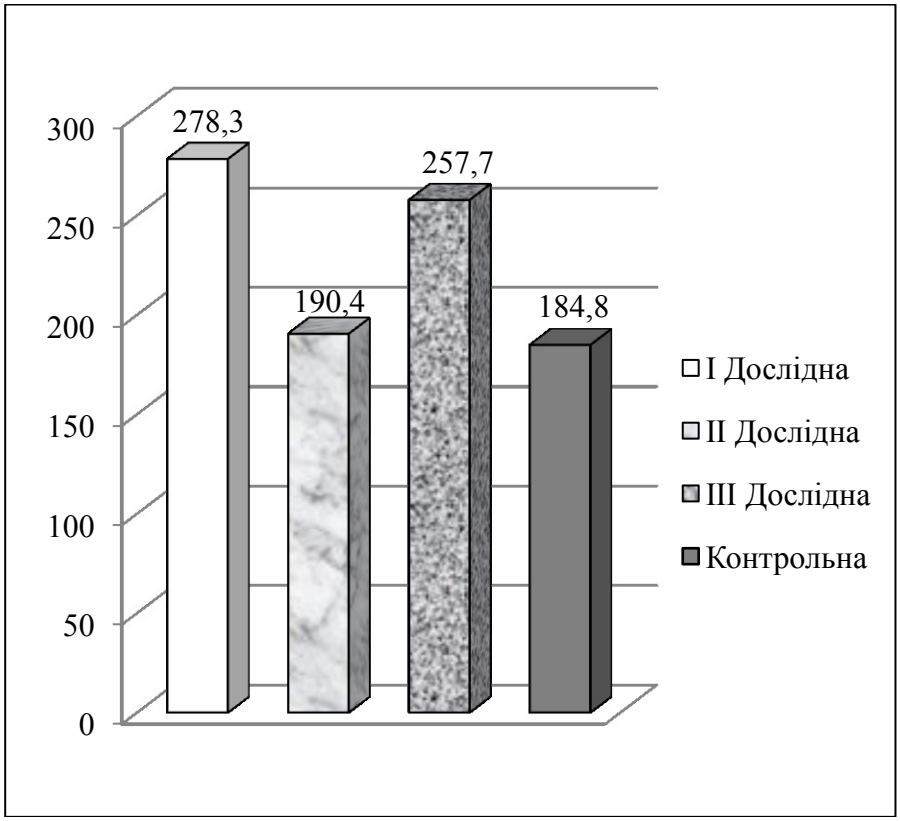


Рис.3.20. Загальна площа острівців Лангерганса підшлункової залози щурів, мкм^2

Мікроскопічними дослідженнями зрізів підшлункової залози щурів II та III дослідних груп виявлено вивідні протоки різного рівня: дрібні вставні протоки, в які переходять ацинуси, внутрішньодолькові, міждолькові і головну протоку підшлункової залози. Екзокринні білкові ацинуси пірамідної форми з округлими ядрами, добре проглядаються. У центрі ацинуса де-не-де виявляли центроацинозні клітини, які входять до складу найдрібніших вивідних проток підшлункової залози. У щурів досліджуваних груп чітко проглядалась

зональність ациноцитів: базальна частина залозистих клітин була базофільною, тоді як апікальна — оксифільна за рахунок секреторних грану (Рис. 3.21).

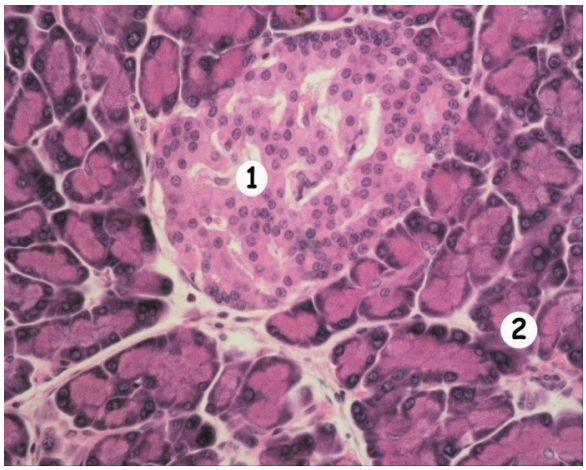


Рис. 3.21. Підшлункова залоза щурів II групи. Острівець Лангерганса (1), пірамідної форми ацинуси з округлими ядрами (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Морфометричними дослідженнями встановлено, що площа острівців Лангерганса підшлункової залози щурів II групи займала 190,39 мкм^2, а III відповідно — 257,69 мкм^2 (Рис. 3.22). Різке зменшення та руйнування β-клітин підшлункової залози сприяє розвитку цукрового діабету.

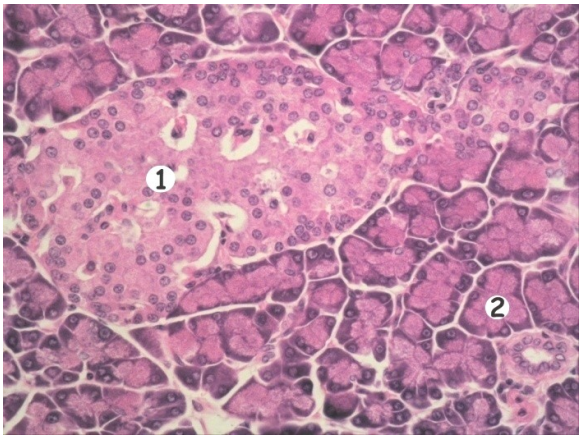


Рис. 3.22. Підшлункова залоза щурів III групи. Острівець Лангерганса (1), екзокринна частина панкреаса (2). Зменшення кількості локалізованих у центрі острівця β-клітин. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

У щурів IV групи ацинуси округло-конічної форми, цитоплазма дещо мутнувата, без вираженої полярності, ядра круглі, гіперхромні, займають переважно ексцентричну частину клітини (Рис. 3.23).

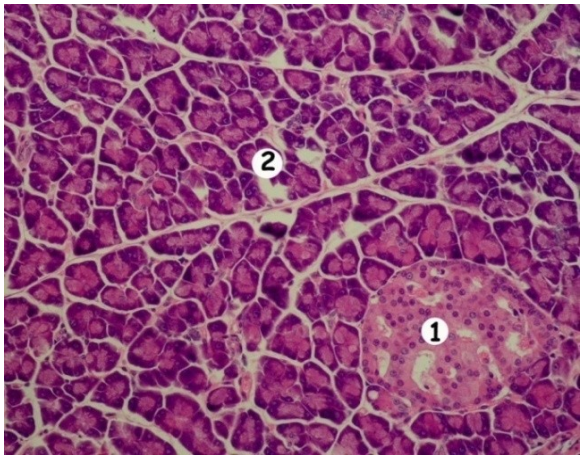


Рис. 3. 23.Підшлункова залоза щурів IV групи. Острівець Лангерганса (1), екзокринна частина панкреаса (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

У щурів контрольної групи відзначали незначне локальне заміщення екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, жировою тканиною (Рис. 3.24), що було в межах норми і, можливо, спричинене впливом годівлі.

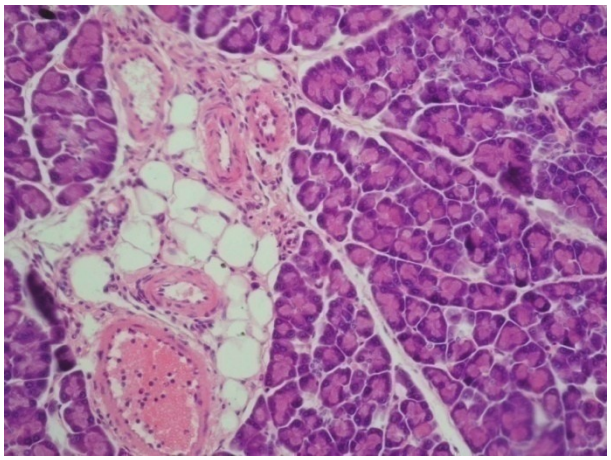


Рис. 3.25. Підшлункова залоза щурів IV групи. Заміщення екзокринної частини панкреаса жировою тканиною. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

За морфометричного дослідження площі острівців Лангерганса підшлункової залози щурів IV групи встановлено її найменше значення, яка складала 184,76 мкм^2, що на 33,61 % і 28,30 %, відповідно менше як у щурів I та III груп (Рис. 3.20).

За умов передзабійного стресу не спостерігали істотних зміни у морфоструктурі тканини підшлункової залози лабораторних тварин.

За морфометричного дослідження діаметру острівців Лангерганса підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп виявляли деякі відмінності. Площа острівців Лангерганса була найбільшою у щурів, яким задавали препарат селезінки.

У щурів контрольної групи відзначали незначне локальне заміщення жировою тканиною екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, що було в межах норми.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Грабовський С. С. Морфометрична характеристика підшлункової залози щурів за умов перед забійного стресу при використанні біологічно активних речовин / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2014. — Том 16. — № 4. — С. 15–21.

2. Грабовский С. С. Влияние биологически активных веществ разного происхождения на лабораторных животных в стрессовом состоянии / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — 2013, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 44. — Выпуск 3. — С. 13–15.

3. Грабовський С. С. Вміст фосфоліпідів у крові свиней за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Scientific Journal «ScienceRise». — DOI: 10.15587/2313-8416.2014.29418. — P. 10–13.

Морфометрична характеристика наднирників та нирок щурів за використання біологічно активних речовин за умов передзабійного стресу

В останні роки відбувається переоцінка наукових уявлень щодо біологічної ролі високоефективних низькомолекулярних метаболітів природного походження, які проявляють високу багатовекторну біологічну активність. Насамперед це стосується поліамінів: Put, Spd та Spm , які беруть участь у різноманітних обмінних процесах і, зокрема, діють як ІМД й антистресори [350,351].

Не викликає сумнівів важлива роль кортикостеротерів, що продукуються в надниркових залозах, у реалізації відповіді організму на дію стресового чинника [368, 369, 370, 371].

Проте однозначної думки про морфологічні й ультраструктурні зміни, а також про функціональну активність надниркових залоз немає, що пов’язано насамперед із різним за тривалістю й моделями індукування стресом.

Вивченню морфофункціональних змін у нирках за умов стресу різного характеру та використання біологічно активних речовин для його нівелювання присвячено багато робіт [372, 373,374, 375].

Особливий інтерес викликає вивчення морфологічних порушень надниркових залоз і нирок при передзабійному стресі з використанням біологічно активних речовин природного походження.

Наднирники. За гістологічного дослідження наднирників щурів усіх дослідних груп виявлено сформовану структуру органа, який ззовні оточений щільною сполучнотканинною капсулою, над якою розміщений шар пухкої сполучної тканини з достатньо розвинутою сіткою жирової тканини. Гістологічно паренхіма наднирника побудована із кіркової та мозкової речовин, що виконують важливі функції в організмі тварин (Рис. 3.25).

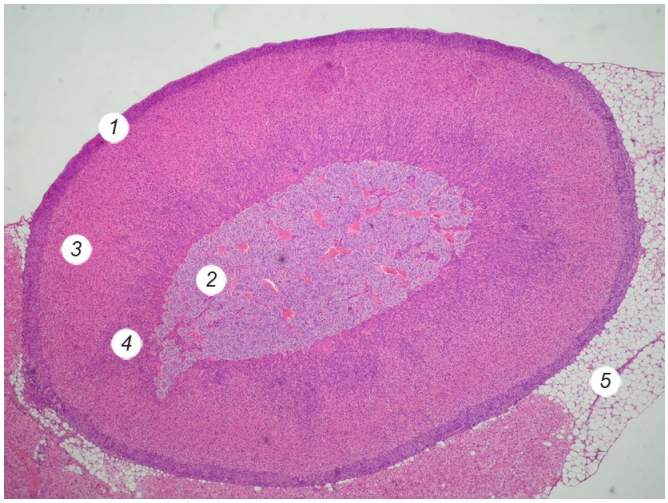


Рис.3.25. Наднирник щура. І група. Клубочкова зона (*1*), мозкова речовина (*2*), пучкова зона (*3*), сітчаста зона (*4*), жирова тканина (*5*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10×, об’єктив 4×

У свою чергу, кіркова речовина включає в себе три зони: клубочкову, пучкову та сітчасту (3.25). Клубочкова зона представлена добре розвинутими епітеліальними клітинами, які утворюють округлі скупчення або клубочки (Рис. 3.26, *А*). Наступною добре проглядається пучкова зона, клітини якої орієнтовані перпендикулярно до поверхні органа у вигляді подовгастих тяжів (Рис. 3.26, *Б*).

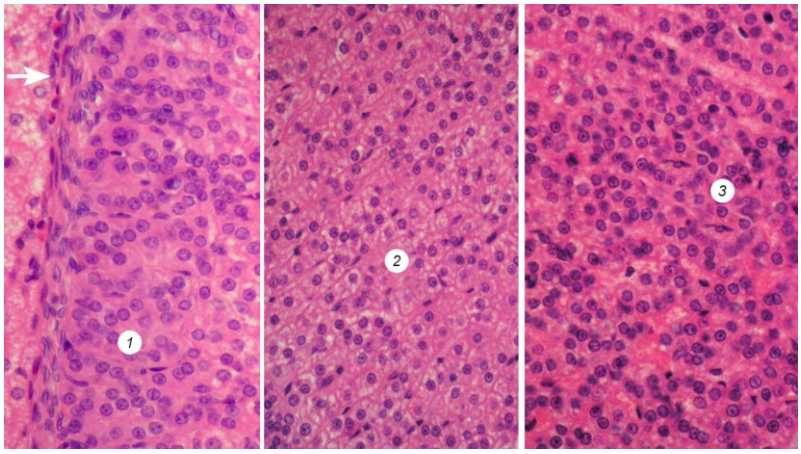


Рис. 3.26. Кіркова речовина наднирника щура. І група. Клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10×, об’єктив 40×

У щурів І групи клітини пучкової зони порівняно однакових розмірів, заповнені дрібними краплями жиру. Безпосередньо під пучковою, без чітко визначеної межі, розміщена сітчаста зона, що побудована із добре розвинутих, анастомозуючих між собою тяжів. Візуально оцінюючи розміри клітин цієї зони, відзначали неупорядковане розміщення клітин, які утворювали сітчасту структуру. Самі клітини достатньо мономорфні, цитоплазма та ядра однорідно забарвлені, з чіткими контурами (Рис. 3.25, *Б*). Поміж клітинами розміщенікровоносні капіляри і тяжі пухкої сполбчної тканини.

Відомо, що кора наднирника виділяє велику кількість різноманітних стероїдних гормонів, які синтезуються в окремих її частинах. Наприклад, у клубочковій зоні синтезується альдостерон. У пучковій і сітчастій зонах продукується переважно кортизол, меншою мірою — решта гормонів наднирника: глюкокортикоїди, мінералокортикоїди, андрогени й естрогени.

Під час морфометричного дослідження наднирників щурів І групи, які отримували препарат селезінки, встановлено, що ширина кіркової речовини була більша, ніж у контрольній группі на 20 % ($P < 0,01$, $n = 5$) і становила 461,594 мкм, із них клубочкова зона займала 32,519 мкм, пучкова – 288,584, сітчаста – 140,491 мкм (табл. 3.11, табл. 3.12).

Таблиця 3.11

Розміри кіркової та мозкової речовин наднирника щурів, мкм (M±m; n = 5)

Група	Мозкова речовина, мкм	Кіркова речовина, мкм
І	260,675±3,051*	461,594±3,524*
ІІ	250,687±1,284*	431,629±3,214
ІІІ	200,806±2,695	401,966±4,204
контроль	180,824±1,376	371,165±1,878

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; (стосовно контролю)

Під час гістологічного дослідження мозкової речовини наднирників щурів усіх дослідних груп відзначали зібрані у тяжі, полігональної форми, достатньо великих розмірів хромафінні клітини. Клітини мозкової речовини

наднирника (кластери) контактують із дрібними капілярами та венами (Рис. 3.27).

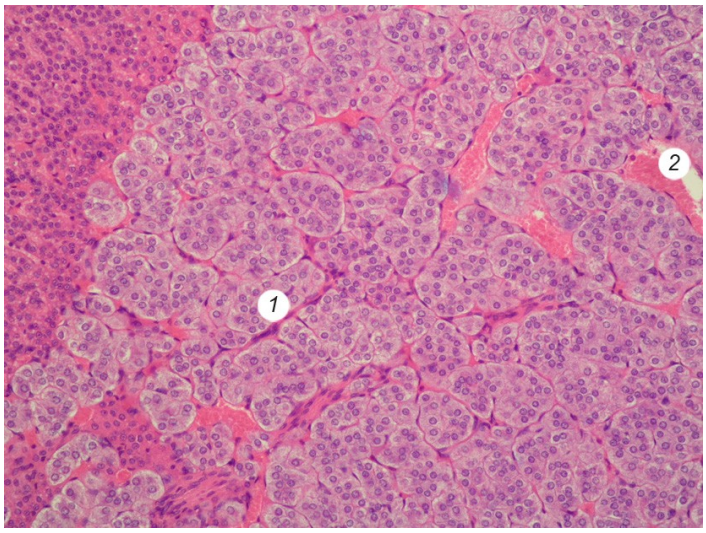


Рис. 3.27. Наднирник щура. І група. Мозкова речовина наднирника (*1*), вени мозкової речовини (*2*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 20Ч

Мікроскопічними дослідженнями наднирника щурів ІІ групи встановлено, що їх структура практично не відрізнялася від такої у щурів І групи (Рис. 3.28). Морфометрично діаметр кіркової речовини наднирника щурів ІІ групи становив 431,629±3,214 мкм (табл. 3.11). У клубочковій зоні спостерігали деяку гіперхромію клітинних ядер (Рис. 3.28,*1*).

Рис. 3.28. Наднирник щура. ІІ група. Клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*), мозкова речовина (*4*), жирова тканина (*5*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 4Ч

Клітини пучкової зони візуально виглядали більшими завдяки нагромадженню у них ліпідів (Рис. 3.29, *2*). Відзначали незначну проліферацію клітин сітчастої зони, нерівномірне забарвлення цитоплазми та появу еозинофільних крапель у клітинах сітчастої зони (Рис. 3.29, 3).

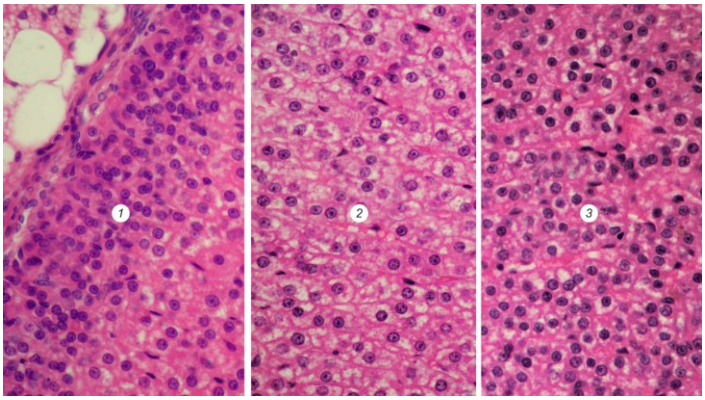


Рис. 3.29. Кіркова речовина наднирника щура. II група. Клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

Під час гістологічного дослідження мозкової речовини наднирника щурів II групи чітко проглядалися поодинокі вегетативні мультиполярні клітини гангліїв і хромафінні клітини, заповнені дрібною зернистістю (Рис.3.30).

За гістологічного дослідження наднирників щурів III групи виявлено потовщення капсули органа завдяки розмноженню фіброцитів (Рис. 3.31), показано стрілкою). Клітини клубочкової зони дещо збільшені, порівняно з клітинами наднирника щурів інших дослідних груп. Цитоплазма їх просвітлена, набубнявіла, проте ядра зберігали гіперхромність. Відмічали деяке порушення архітектоніки клітин клубочкової зони, що проявлялося не щільним розміщенням клітин, а дифузним скупченням їх біля капсули органа, що, можливо, й спричинило її розширення (Рис. 3.31, *1*). Під час морфометричного дослідження наднирників щурів III групи встановлено, що діаметр кіркової речовини становив 401,966±4,204, а мозкової — 200,806±2,695 мкм.

На клубочкову зону припадало 40,901±0,350, пучкову — 220,949±3,575, сітчасту — 140,116±0,333 мкм (табл. 3.12).

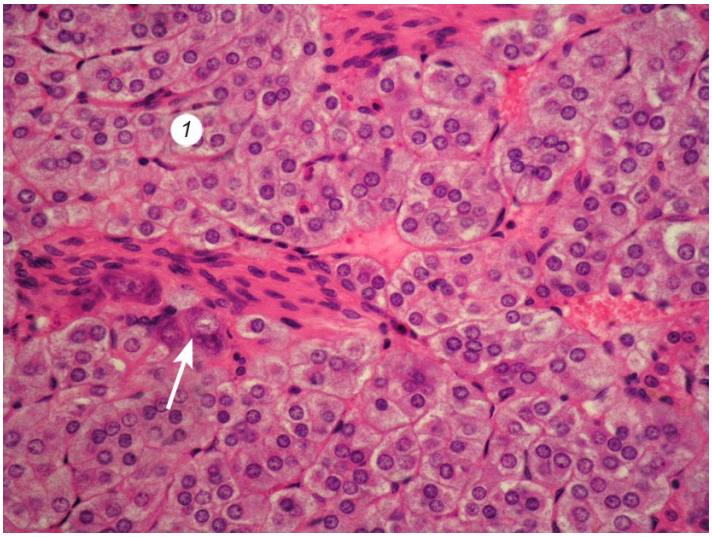


Рис. 3.30. Мозкова речовина наднирника щура. II група. Хромафінні клітини (*1*), мультиполярні клітини гангліїв (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

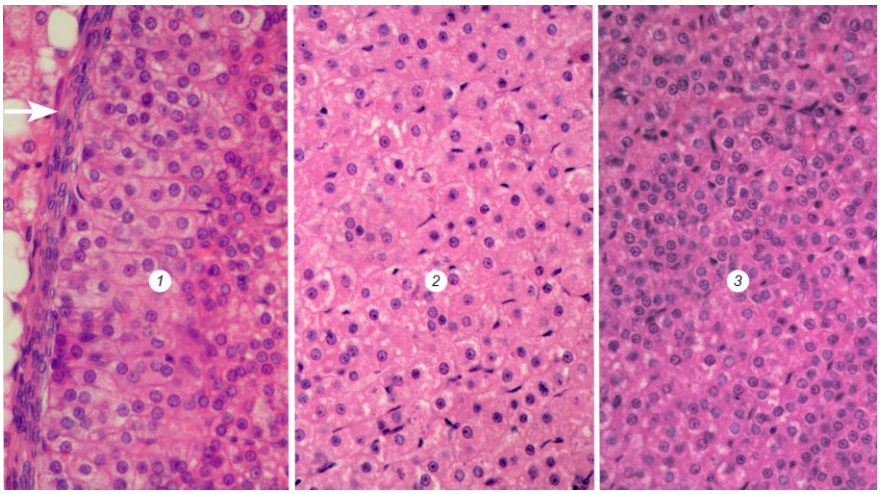


Рис. 3.31. Кіркова речовина наднирника щура. III група. Клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*). Гематоксилін та еозин.
Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

Порівнюючи морфометричні показники досліджуваних зон кіркової речовини наднирника щурів як контрольної, так і дослідних груп, відзначали,

що основну її частину займала пучкова зона, товщина якої варіювала і у тварин I групи становила 288,584 мкм, що на 6,4 % більше ніж у контролі (P < 0,01, n = 5). Товщина пучкової зони II групи становила 240,085 мкм, III — 220,949 мкм і контрольної — 270,182 мкм. На клубочкову зону припадало: у тварин I групи — 32,519, II — 30,981, III — 40,901 і контрольної — 30,22 мкм (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Розміри зон основних гістоструктур кіркової речовини наднирника щурів, мкм (M±m; n = 5)

Групи	Клубочкова зона, мкм	Пучкова зона, мкм	Сітчаста зона, мкм
I	32,519±0,079	288,584±1,604	140,491±1,897**
II	30,981±0,377	240,085±2,245	160,563±1,350
III	40,901±0,350**	220,949±3,575	140,116±0,333*
Контрольна	30,22±0,096	270,182±0,865	170,763±1,177

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

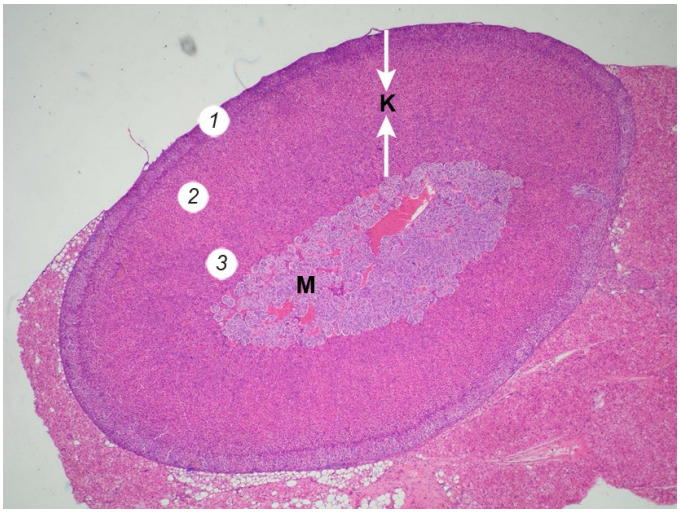


Рис. 3.32. Наднирник щура. III група. Кіркова речовина (К), Клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*), мозкова речовина (М). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 10Ч

У тварин II дослідної групи, яким додавали екстракт ехінацеї та лимонника, слід відмітити проліферацію клітин сітчастої зони, гіперхромію клітинних ядер клубочкової зони та їх тенденційне звуження.

У наднирниках щурів III дослідної групи, яким додатково згодовували пророщене зерно, виявлено потовщення капсули органа, порушення архітектоніки клітин клубочкової зони та її деяке збільшення (Рис.. 3.32).

Під час мікроскопічного дослідження наднирників щурів контрольної групи виявили значне потовщення капсули органа (Рис. 3.33), вказано стрілкою). У цьому разі ширина клубочкової речовини зменшена, з цим показником інших дослідних груп щурів. У клубочковій зоні виявляли дискомплексацію клітинних структур у вигляді чергування ущільненого і розрідженого розміщення клітин, гіперхромію ядер унаслідок підсиленої адсорбції фарби клітинами у стані дистрофії та пікнозу ядер (Рис. 3.33, *1*).

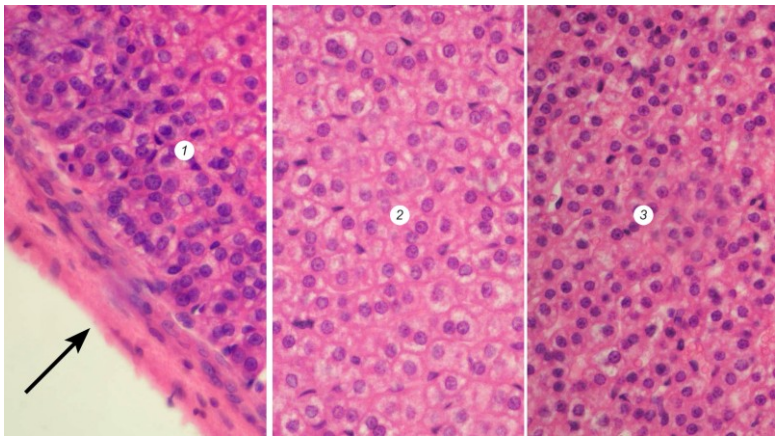


Рис. 3.33. Кіркова речовина наднирника щура. Контрольна група. Клубочкова зона (*А*), пучкова зона (*Б*), сітчаста зона (*В*). Потовщення капсули органа показано стрілкою. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

Діаметр кіркової речовини наднирника щурів контрольної групи зменшився порівняно з тваринами I групи на 20 %.

Морфологічно структура сітчастої зони наднирника щурів контрольної групи виглядала зміненою. Синусоїдні кровоносні канали розширені, а клітини дифузно розміщені у вигляді нещільної сітки (Рис. 3.34).

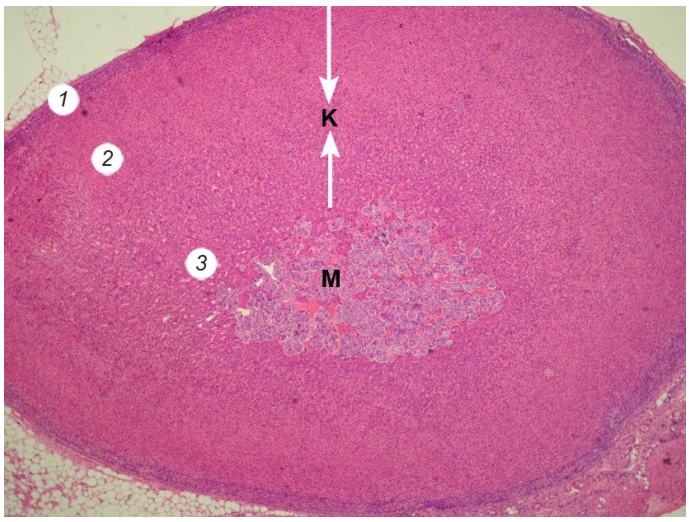


Рис. 3.34. Наднирник щура. Контрольна група. Кіркова речовина (К), клубочкова зона (*1*), пучкова зона (*2*), сітчаста зона (*3*), мозкова речовина (М). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 10Ч

Морфологічно мозковий шар наднирника щурів контрольної групи дещо відрізнявся від такого в усіх дослідних групах. Відзначали значне зменшення його площі, кількості хромафінних клітин, а також сильне розширення синусоїдальних капілярів і вен (Рис. 3.35).

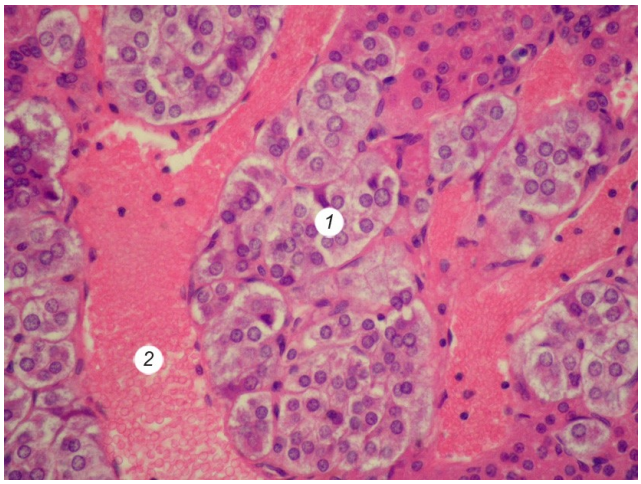


Рис. 3.35. Наднирник щура. Мозкова речовина наднирника. Контрольна група. Хромафінні клітини (*1*), розширені вени мозкового шару (*2*). Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

Крім того, у тварин контрольної групи спостерігалася гетерогенність залозистих клітин клубочкової зони (Рис. 3.33). Це дає підстави зробити припущення про переважання у цих клітинах процесів синтезу для

забезпечення у подальшому інтенсивного стероїдогенезу, що узгоджується з попередніми дослідженнями вчених [376,377].

Таким чином можна припустити, що у тварин контрольної групи, яким не додавали до корму ІМД й антистресори в перед забійний період (протягом п’яти днів перед забоєм), виявлено ознаки гістологічних ушкоджень надниркової залози, характерні для гострого виснаження її функції. Про це можна стверджувати на основі значного потовщення капсули органа та зменшення ширини клубочкової речовини і дискомплексації клітинних структур, гіперхромії, дистрофії та пікнозу ядер, що спостерігали при стресі. Перебудови внаслідок дії стресу є характерними для “фази тривоги” стрес-реакції, яка розвивається у перші години дії стресового чинника [372, 378, 379].

Нирки. За гістологічного дослідження нирок щурів усіх дослідних груп чітко виділяли кірковий і мозковий шари. Під час мікроскопічного дослідження виявили, що ниркові тільця у щурів І групи зберігали округлу форму. Просвіт капсули ниркових тілець невеликий, чітко проглядається кубічний епітелій петель, клітини якого містять округлі ядра. Клітини зовнішнього (парієтального) листка капсули Шумлянського–Боумена представлені одним шаром епітеліальних клітин, розміщених на базальній мембрані (Рис. 3.36).

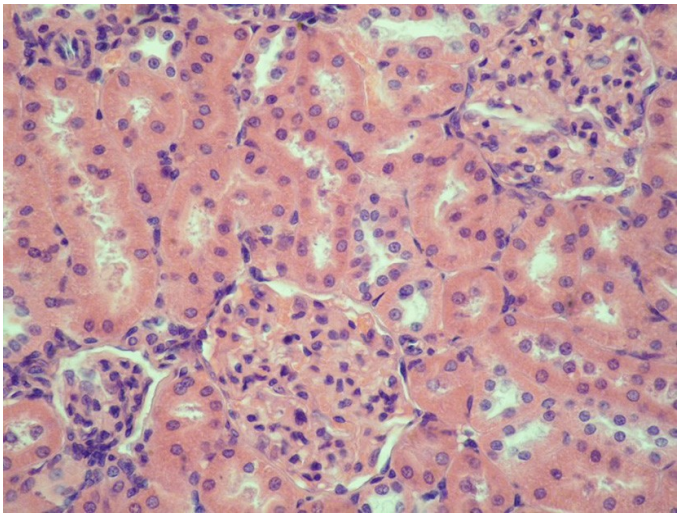


Рис. 3.36. Нирка щура. І група. Епітелій проксимальних канальців. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 20Ч

Звивисті проксимальні канальці неправильно округлої форми. У більшості з них епітелій представлений щільно прилеглими одна до одної клітинами кубічної форми, що на поверхні містять щіточкову облямівку (Рис. 3.37).

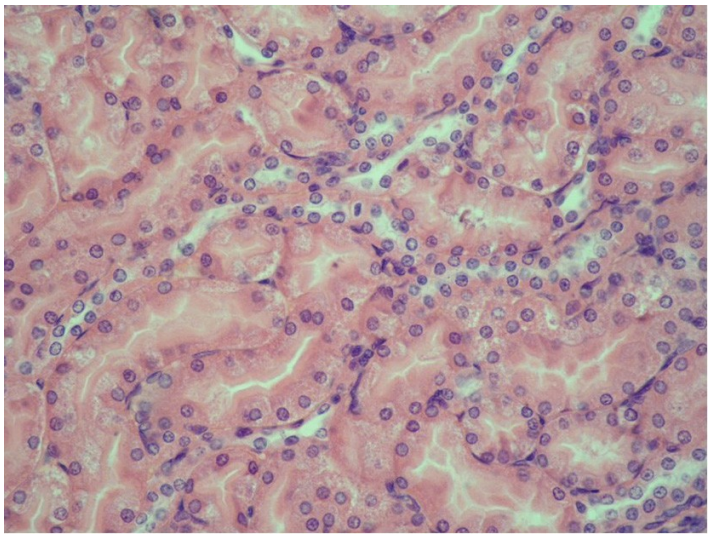


Рис. 3.37. Нирка щура. І група. Проксимальні звивисті канальці з добре вираженою щіточковою облямівкою. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 40Ч

За гістологічного дослідження нирок щурів ІІ та ІІІ груп морфологічні зміни в нирках були подібними. Слід відзначити, що в окремих проксимальних звивистих канальцях нирок щурів цитоплазма епітеліоцитів була набряклою, зернистою, контури клітин подекуди розмитими і нечіткими. Просвіт канальців заповнений зернистою білковою масою (Рис. 3.38).

У дистальному звивистому сегменті нефрона тварин ІІ та ІІІ групи також подекуди спостерігали набрякання і зернистість клітин нефротелію, що вказує на розвиток зернистої дистрофії. Петля Генле в тонкому її відділі вистелена більш плоскими, порівняно з клітинами проксимального звивистого канальця, епітеліоцитами зі світлою цитоплазмою.

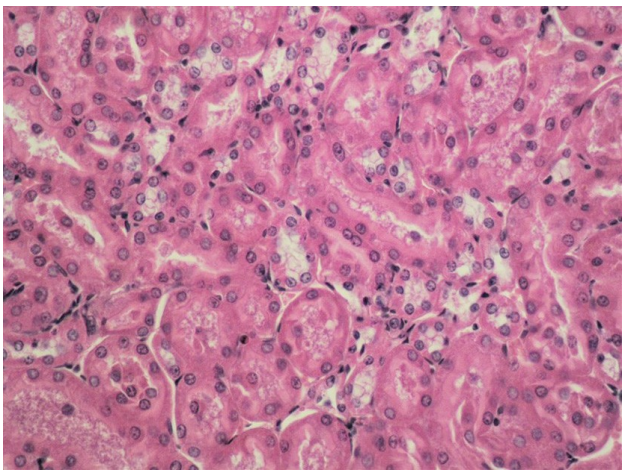


Рис. 3.38. Нирка щура. III група. Проксимальні звивисті канальці з білковою масою у просвітах. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 20Ч

У мозковій речовині нирок значних структурних змін не виявили. Епітеліоцити тонкого низхідного та висхідного сегментів петлі Генле були дещо ущільненими, а цитоплазма — світлою. Збірні канальці вистелені одношаровим циліндричним епітелієм.

Зміни в канальцевій частині нефрона у тварин контрольної групи були більш виражені, ніж у тварин II та III дослідних груп. Слід зазначити, що ці зміни не були дифузними: патологічно змінені канальці чергувалися з канальцями, структура яких була збережена. У просвіті таких канальців подекуди виявляли клітини десквамованого нефротелію. У деяких клітинах ядра були лізовані. У деяких канальцях епітелій набубнявілий, цитоплазма просвітлена, ядра розміщені ектопічно (Рис. 3.39). Унаслідок розвитку вакуольної дистрофії епітелію, просвіт канальців звужувався, а в деяких був закритим (Рис. 3.40). В епітелії інших канальців відзначали зернисту дистрофію.

Разом з тим, у просвіті збірних ниркових канальців щурів контрольної групи спостерігали відкладання неорганічних солей у вигляді кристалів (Рис. 3.40).

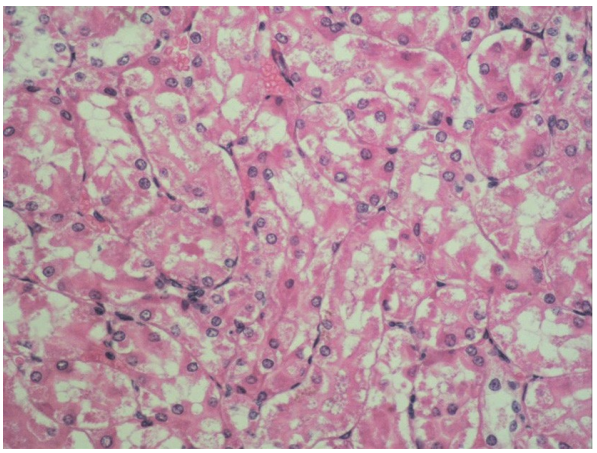


Рис. 3.39. Нирка щура. Контрольна група. Проксимальні канальці. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 20Ч

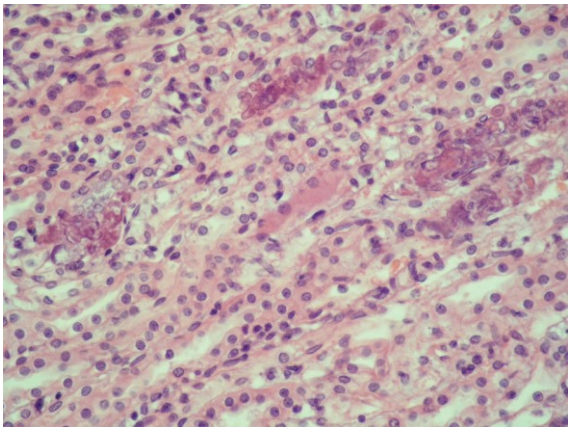


Рис. 3.40. Збірні ниркові канальці. Контрольна група. Кристали неорганічних солей. Гематоксилін та еозин. Окуляр 10Ч, об’єктив 20Ч

Під час гістологічного дослідження нирок щурів II та III дослідних і контрольної груп спостерігали патологічні зміни в канальцевій частині нефрона. На відміну від цього, у тварин I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки з вмістом Put, Spd та Spm, жодних морфологічних порушень надниркових залоз і нирок не виявлено, що свідчить про позитивну дію поліамінів як антистресової речовини перед забоєм тварин.

За умов передзабійного стресу спостерігали підвищенням функціональної активності кіркової та мозкової речовин надниркових залоз. У цьому разі зміни у співвідношенні розмірів зон кори наднирника у тварин різних дослідних груп обумовлені змінами фізіологічної активності органа.

Зокрема, посилене виділення глюкокортикоїдних гормонів за умов стресу супроводжувалося деяким набряканням клітин пучкової зони, тому її ширина була збільшеною. Послаблення секреції глюкокортикоїдних гормонів за умов використання антистресових речовин проявлялося редукцією пучкової зони та розширенням сітчастої.

Найменш виражені зміни в надниркових залозах, спричинені передзабійним стресом, фіксували у групі тварин, яким додатково до корму додавали препарат селезінки, що, на нашу думку, зумовлено дією поліамінів.

У щурів контрольної групи виявляли розвиток зернисто-вакуольної дистрофії, зниження протеїнсинтезуючої функції епітелію тубулоцитів, що вказує на порушення реабсорбції рідини та напружений функціональний стан нирок. Тоді як у щурів інших дослідних груп (II, III), яким додатково до корму додавали екстракти ехінацеї та лимоннику і пророщене зерно відповідно, — спостерігали зменшення клітинних пошкоджень, що може бути пов’язане з покращенням метаболічних процесів у клітинах.

У тварин I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки з вмістом Put, Spd та Spm у ділянках базальної мембрани, яка є джерелом внутрішньоклітинної регенерації, були виражені процеси формування нових епітеліальних клітин і біля основи мембран кожного проксимального канальця чітко проглядалися групи клітин з великими гіперхромними ядрами.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

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. — Том 8. — № 2. — С. 43–56.

Морфометрична характеристика печінки щурів за використання біологічно активних речовин за умов передзабійного стресу

Не викликає сумнівів важлива роль речовин, що продукуються у надниркових залозах, у реалізації відповіді організму на дію стресового чинника [380,381,382,383,384,385,386]. У літературі є достатньо досліджень, присвячених вивченню дії стресу на печінку [387]. Для попередження різних видів стресу пропонуються до використання різноманітні біологічно активні речовини [388,389], і зокрема вітаміни С та Е для зменшення оксидаційного стресу у щурів [390], використання мелатоніну внутрішньочеревно за умов накладання лігатури на хвіст у щурів [391], що призводило до зменшення концентрації малонового діальдегіду та підвищувало активність ензимів обміну глутатіону у тканинах. Ці дослідження показали, що використання мелатоніну призводить до пом’якшення ушкоджень печінки при стресі.

З метою нівелювання стресу перед забоєм тварини нами були проведені дослідження впливу ІМД природного походження. Найбільший позитивний вплив на організм тварин за умов передзабійного стресу мало аерозольне введення до раціону препарату селезінки, в якому містяться поліаміни.

З літературних джерел відомо, що у малих кількостях поліаміни синтезуються майже усіма клітинами організму [392], але основну частину ендогенних поліамінів синтезує печінка [393,394,395].

Найбільший вміст поліамінів у печінці, ймовірно, пов’язаний з інтенсивнішим синтезом їх у стані стресу та з додатковим введенням до корму препарату селезінки, що свідчить про необхідність підвищення концентрації поліамінів у раціоні домашніх тварин і птиці перед забоєм, оскільки поліаміни інтенсивно використовуються організмом за умов стресу, що було встановлено нашими попередніми дослідженнями [353].

Тому метою роботи було дослідити гістологічні характеристики печінки за дії біологічно активних речовин різного походження у передзабійний період.

За гістологічного дослідження печінки щурів І групи часточкова і радіальна балкова будова була чітко виражена. Гепатоцити полігональної

форми з великими круглими ядрами. Хроматин в більшості ядер локалізований біля каріолеми. Мембрани клітин контуровані, границі між ними чітко видимі. Цитоплазма переважно однорідно забарвлена, базофільна. На тлі таких клітин виділялись гепатоцити з двома ядрами, в яких цитоплазма і ядра дещо базофільні (Рис. 3.41).

Купферівські клітини у центролобулярній частині більш витягнутої форми, а у перипортальних ділянках — дещо заокруглені. Ступінь базофілії відображає виражений рівень синтетичних процесів у клітині.

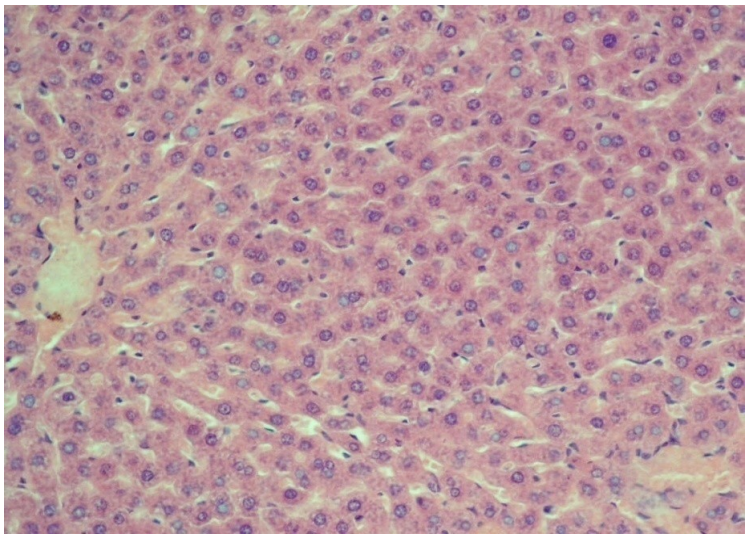


Рис. 3.41. Печінка щурів І групи. Гепатоцити з однорідно зафарбованою цитоплазмою формують печінкові балки. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

У щурів ІІ групи порушень часточкової та балкової будови також не спостерігали, тоді як у щурів ІІІ групи відзначали часткове порушення балкової будови у центролобулярній ділянці часточки, зумовлене помірним мутним набубнявінням цитоплазми гепатоцитів. Цитоплазма більшості клітин неоднорідно забарвлена, внутрішньочасточкові капіляри дещо розширені. Печінкові клітини незначно збільшені у розмірі, із зернистою еозинофільною цитоплазмою, межі між клітинами слабо проглядаються (Рис. 3.42).

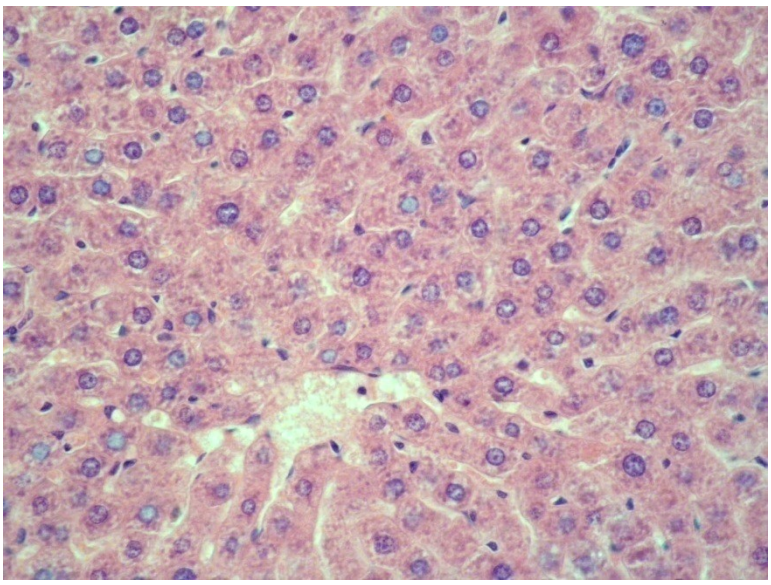


Рис. 3.42. Печінка щурів III групи. Зернистість цитоплазми гепатоцитів, часткове порушення балкової будови. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

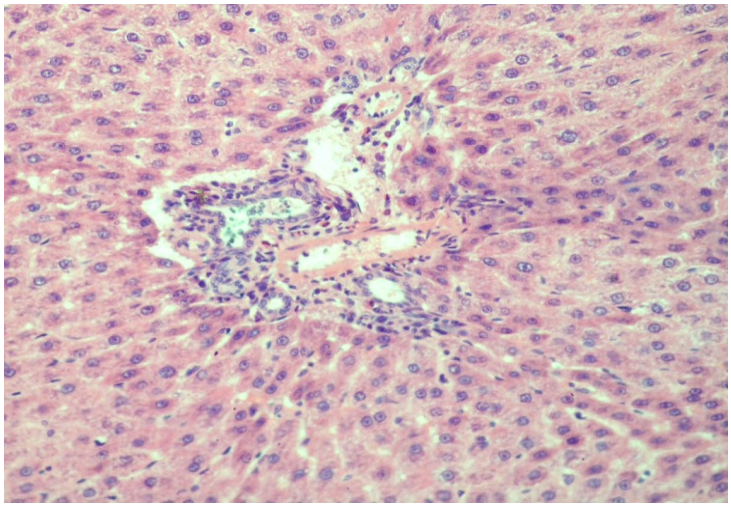


Рис. 3.43. Печінка щурів контрольної групи. Інфільтрація клітинних елементів навколо жовчних протоків. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

У щурів контрольної групи відзначали набубнявіння, зернисту дистрофію гепатоцитів. Серед дистрофічно змінених клітин виявляли двоядерні гепатоцити та клітини з великими ядрами (Рис. 3.43).

Навколо тріад, відзначали помірну кругло-клітинну інфільтрацію та збільшення кількості зірчастих клітин. Випоювання щурам розчину етанолу зумовило розвиток зернистої дистрофії у центролобулярній ділянці часточки (Рис. 3.44).

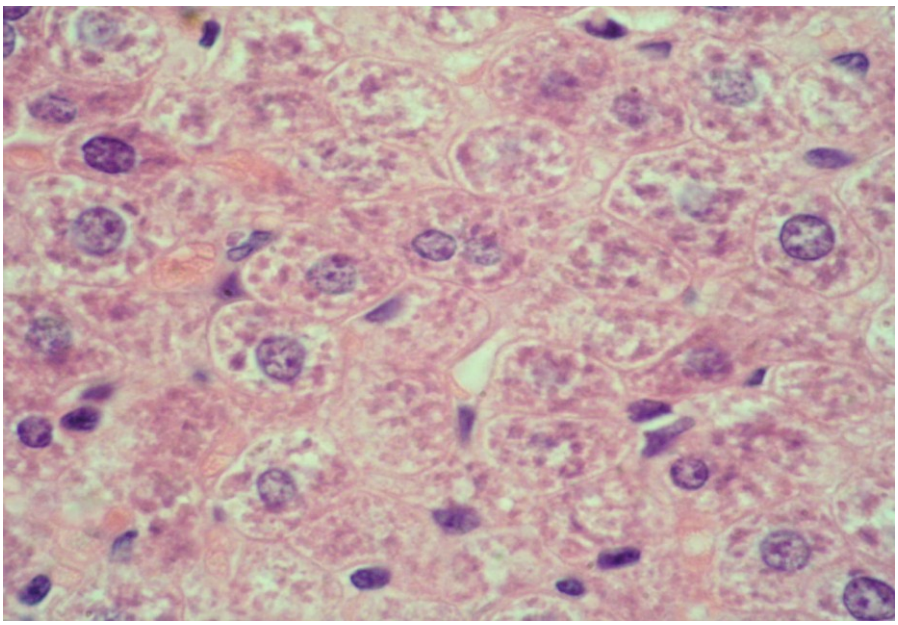


Рис. 3.44. Печінка щурів контрольної групи. Зерниста дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100

Найменш виражені зміни у печінці було зафіксовано у групі лабораторних тварин, яким додатково до корму вводили багатий на біологічно активні речовини препарат селезінки, що, на нашу думку, спричинило позитивний вплив.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

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. — 2015. — Т. 5, № 1. — С. 94–104. **http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v5i1.965**

Морфометрична характеристика селезінки щурів за використання біологічно активних речовин за умов передзабійного стресу

Відомо, що селезінка, найбільша серед вторинних лімфоїдних органів, і є у всіх хребетних. Паренхіма цього органу представлена двома компартментами — червоною та білою пульпою, які відрізняються за кольором на зрізі органу та на гістологічних препаратах за дослідження останніх на малому збільшенні. Біла пульпа селезінки має високоорганізовану акумуляцію Т- та В-лімфоцитів, що оточують центральні артерії, у той час як червона пульпа складається з венозних синусів (наявні не в усіх видах) та селезінкових тяжів. Структурні розбіжності у будові селезінки людини і тварин, які пов'язані з видовими анатомічними та фізіологічними особливостями, зумовлює переважання функцій, що виконуються цим важливим органом. У дослідженнях [396] на основі гістологічної та морфометричної оцінки функціональних зон селезінки виділяють чотири групи тварин. Перша група об'єднує тварин з гарно вираженою депонуючою функцією селезінки (кінь, собака, кішка). Друга група представлена тваринами з «селезінкою захисту», у яких переважною функцією органу є імунна та бактерицидна (миші, щури). У деяких ссавців (людина, велика рогата худоба), що складають третю групу, гістоархітектоніка селезінки зумовлює, як депонувальну, так і функцію захисту однаковою мірою, що дозволяє віднести її до «змішаного варіанту». До четвертої групи віднесені ті види тварин, у яких селезінка слабо розвинута і функціонально мало активна (кролик, морська свинка) [397].

За гістологічного дослідження селезінки щурів усіх дослідних груп встановлено чіткий поділ її на червону та білу пульпу. Червона пульпа складала основну масу паренхіми органу і представлена сіткою ретикулярних волокон, що переходять у колагенові, волокна трабекул і капсули. Ретикулярна сітка пронизана венозними синусами у петлях яких розташовані еритроцити, лімфоцити, клітини плазматичного ряду, лейкоцити та інші елементи крові.

За мікроскопічного дослідження селезінки щурів І групи виявляли, що основну площу зрізів займала червона пульпа, у масиві якої вирізнялась

рівномірно розміщена тканина білої пульпи у формі лімфатичних вузликів навколо центральних вен і лімфоїдних скупчень (Рис. 3.45). У лімфатичних вузликах чітко визначали вузьку периартеріальну зону, яка переходила у ширшу й розширену гермінативну. Мантійна зона була обмежена маргінальною, що межує з лімфоїдними вузликами, і червоною пульпою. Лімфатичні вузлики чітко контуровані на тлі червоної пульпи.

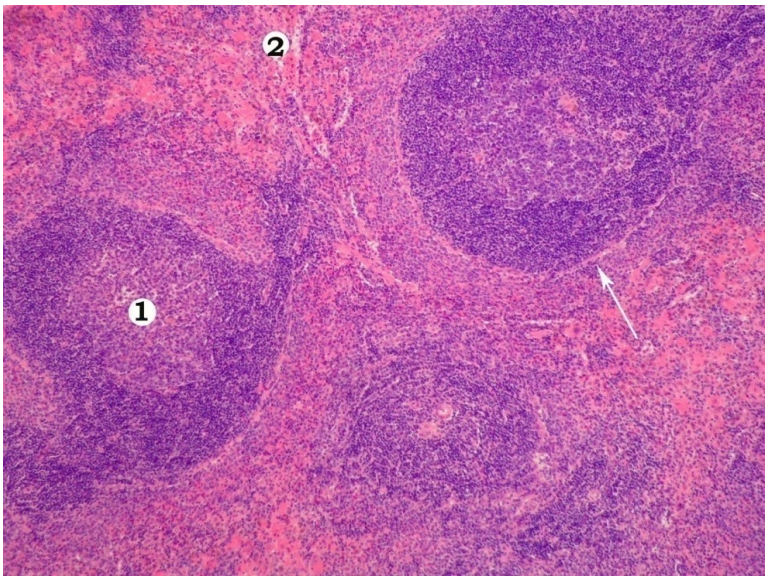


Рис. 3.45. Селезінка щурів 1 групи. Лімфоїдний вузлик (1), червона пульпа (2), маргінальна зона (показана стрілкою). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

При морфометричному дослідженні селезінки щурів досліджуваних груп встановлено, що у тварин I групи сформована найбільша кількість лімфатичних вузлів з реактивними центрами. Так, співвідношення загальної кількості лімфатичних вузлів селезінки до лімфатичних вузлів із реактивними центрами становило, відповідно, у тварин I групи 1:0,8; II групи — 1:0,4; III групи — 1:0,36; і контрольної групи — 1:0,32 (Рис. 3.46). Відомо, що поява реактивних центрів у лімфатичних вузлах селезінки є реакцією на антигенну стимуляцію.

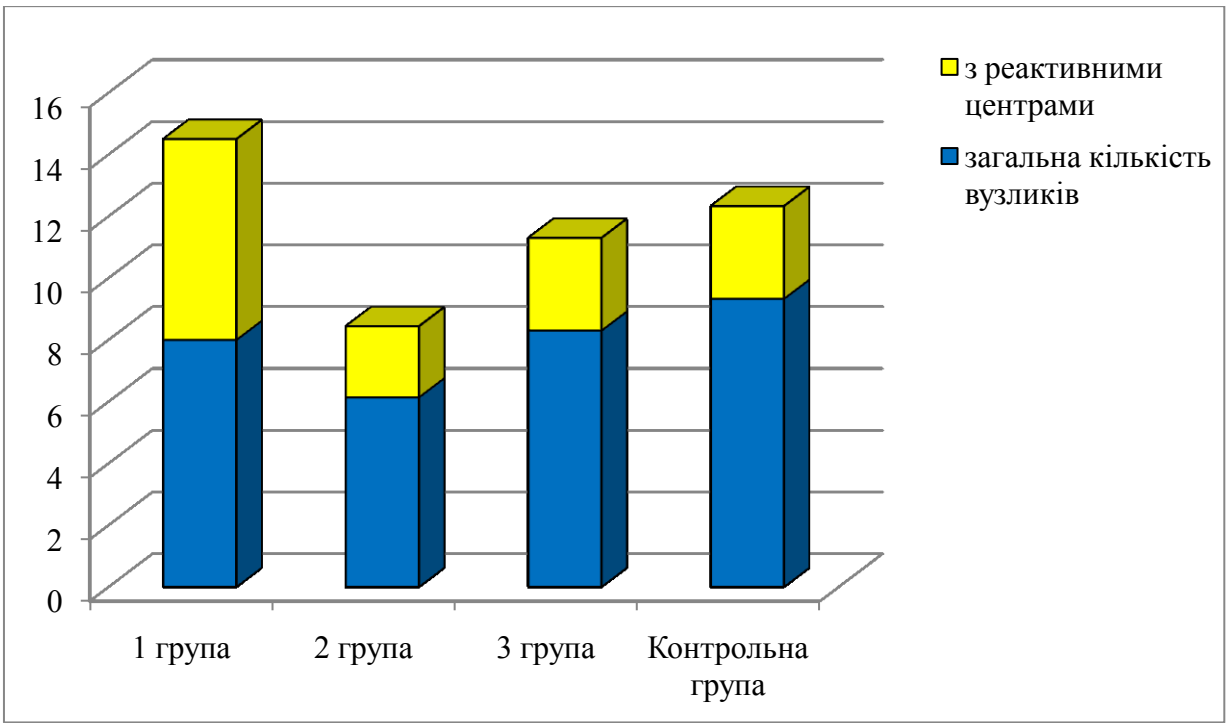


Рис. 3.46. Співвід ношення загальної кількості лімфатичних вузлів селезінки до лімфатичних вузлів із реактивними центрами

У червоній пульпі селезінки щурів I та II груп виявляли значну кількість мегакаріоцитів, що, ймовірно, можна пов’язати з перебудовою імунної системи у відповідь на її активацію біологічно активними речовинами введеного препарату селезінки та ехінацеї (Рис. 3.51).

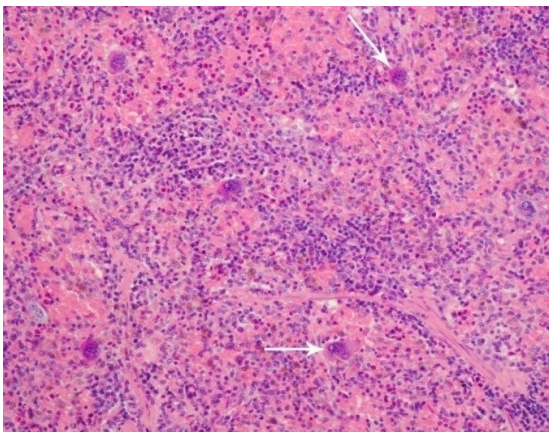


Рис. 3.51. Селезінка щурів II групи. Мегакаріоцити у червоній пульпі (показано стрілками). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

Разом з тим, слід відмітити, що у селезінці щурів I та II груп периартеріальна зона, яка представлена скупченням Т-лімфоцитів навколо артерії лімфатичного вузлика, достатньо широка, збагачена інтердигітуючими клітинами — макрофагами, здатними фіксувати на своїй поверхні комплекси антитіл з антигенами і викликати проліферацію та дозрівання Т-лімфоцитів. Темна мантійна зона утворена з компактно розміщених малих В-лімфоцитів і незначної кількості Т-лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів (Рис. 3.52).

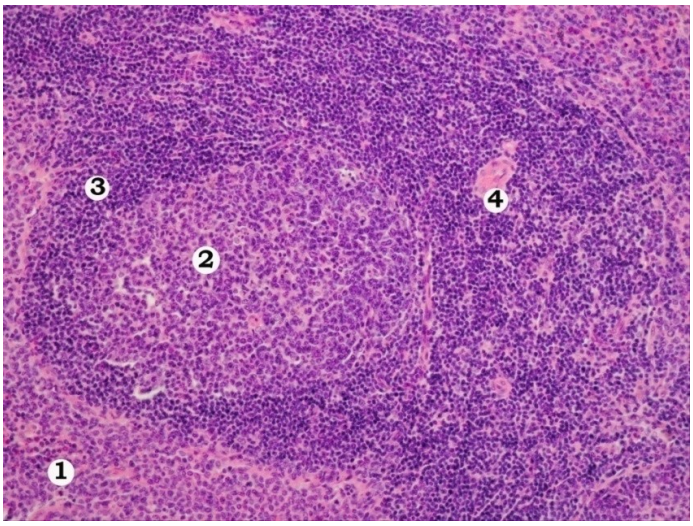


Рис. 3.52. Селезінка щурів II групи. Червона пульпа (1), реактивний центр лімфатичного вузла (2), мантійна зона (3), артерія лімфатичного вузла (4). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

Аналізуючи морфометричні показники селезінки щурів слід відзначити, що окрім збільшення загальної кількості лімфатичних вузлів селезінки, відзначали також і зміни їх середньої площі. Так у щурів I групи середня площа лімфатичних вузлів селезінки складала, відповідно, 289,12 мкм^2, II групи — 255,35; III групи — 187, 27; і IV групи — 187,05 мкм^2 (Рис. 3.53, Рис. 3.54).

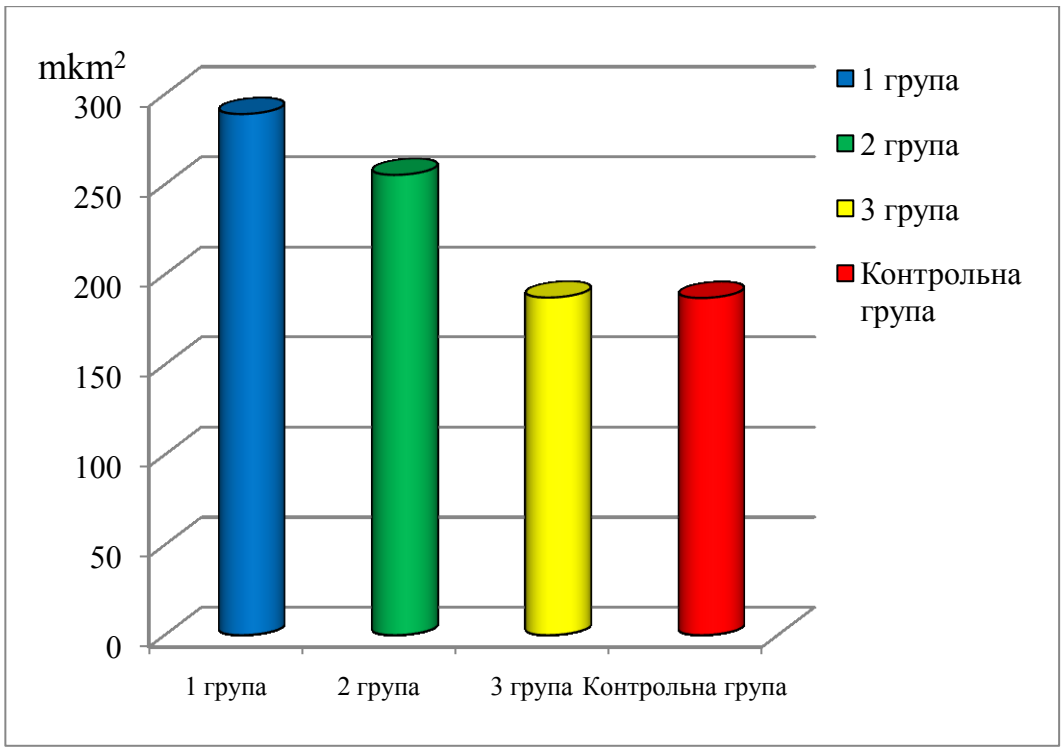


Рис. 3.53. Середня площа лімфатичних вузлів селезінки

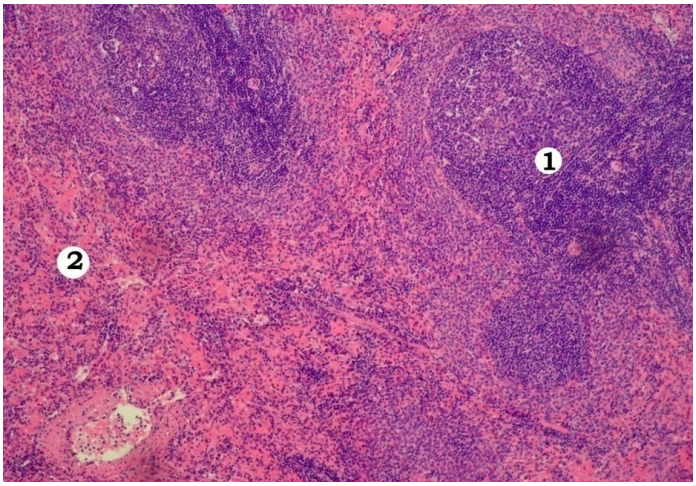


Рис. 3.54. Селезінка щурів III групи. Сформовані лімфатичні вузлики з реактивними центрами (1), червона пульпа (2).Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

Якщо за мікроскопічного дослідження селезінка щурів контрольної групи не мала змін, то за морфометричними показниками площа білої пульпи

була значно меншою. Лімфоїдні вузлики втрачали чітко виражену структуру, пульпарні артеріоли потовщені (Рис. 3.55).

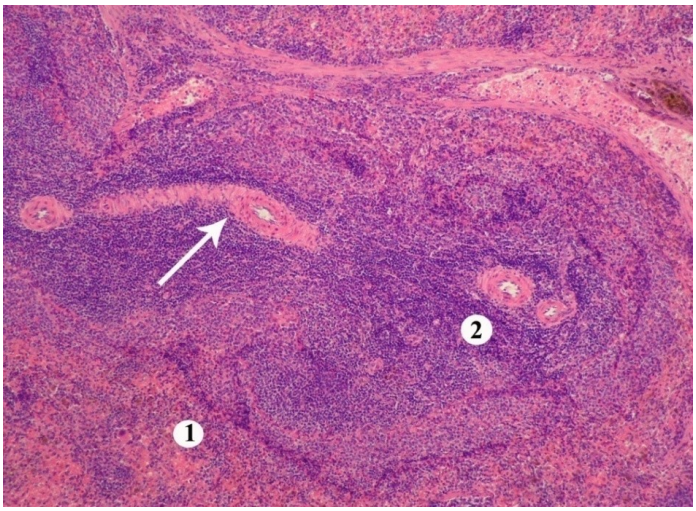


Рис. 3.55. Селезінка щурів контрольна групи. Потовщення пульпарних артеріол.Червона пульпа (1), біла пульпа (лімфоїдний вузлик (2)).Гематоксилін та еозин.Ок.10,об.10

Проведені дослідження показали, що поліаміни на основі препарату селезінки впливають на величину лімфоїдних вузликів та на формування лімфатичних вузлів з реактивними центрами. У червоній пульпі селезінки було виявлено значну кількість мегакаріоцитів, що, ймовірно, можна пов’язати з перебудовою імунної системи при активації її біологічно активними речовинами з препарату селезінки та ехінацеї.

Периартеріальна зона тварин І дослідної групи була збагачена інтердигітуючими клітинами — макрофагами.

Використання препарату препарату селезінки на фоні стресу сприяло збільшенню площі лімфоїдних вузликів у щурів І групи та площі білої пульпи селезінки і тим самим активізувало механізми адаптації організму тварин, в порівнянні з контрольною групою щурів.

Підтвердженням позитивного впливу на зміни морфофункціональної структури селезінки можуть служити наші попередні дослідження, де показано зменшення концентрації кортизолу та підвищення неспецифічної

резистентності крові щурів за дії біологічно активних речовин з препарату селезінки.

У тварин, яким додатково до раціону вносили препарат селезінки була сформована найбільша кількість лімфатичних вузлів з реактивними центрами та встановлено збільшення їх середньої площі вузлів.

Біологічно активні речовини препарату селезінки впливають на величину лімфоїдних вузликів та на формування лімфатичних вузлів з реактивними центрами.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

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

Дослідження впливу імуномодуляторів природного походження на співвідношення протеїнових фракцій у крові тварин

У попередніх дослідженнях нами також встановлено зміни вмісту поліамінів [353] та окремих класів ліпідів [352]. Тому метою роботи було дослідження впливу ІМД та антистресорів різного походження (препаратів селезінки, ехінацеї і лимоннику, а також пророщеного зерна) у передзабійний період на білкові фракції у плазмі крові щурів.

В експерименті визначали співвідношення протеїнових фракцій плазми крові щурів, яким додатково до корму вносили біологічно активні речовини природного походження. У результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів дослідних груп, порівняно з контролем, виявлено певні зміни у відсоткових співвідношеннях протеїнових фракцій. Так, у тварин І дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки, знизилась вміст преальбумінів удвічі, підвищився рівень β- і γ-глобулінів, відповідно, на 41 П. п. та 46 П. п. Зменшення преальбумінової фракції спостерігали у тварин ІІ та ІІІ дослідних груп, яким як антистресори та ІМД у передзабійний період

додатково до основного раціону додавали екстракти ехінацеї, лимоннику та пророщене зерно. Відмічено зростання вміст γ-глобулінової фракції на 40 П. п. у плазмі крові щурів II дослідної групи (P<0,05) (табл. 3.13).

Збільшення концентрації глобулінової фракції можна пояснити впливом поліамінів препарату селезінки — Put, Spd та Spm, які стимулюють продукування глобулінів [398, 399, 400].

Таблиця 3.13.

Співвідношення протеїнових фракцій у плазмі крові щурів (%; M±m; n=5)

Фракції протеїнів	Група твари			
	I Дослідна	II Дослідна	III Дослідна	Контрольна
Преальбуміни	19,64±11,079**	9,75±8,371*	13,15±6,385*	38,82±9,326
Альбуміни	20,7±8,64	16,68±6,41	38,07±9,368	25,53±15,467
Глобуліни: α	19,33±2,558	36,46±10,217	18,084±1,736	18,09±6,824
β	16,68±3,621**	9,52±1,803	14,12±5,005	6,77±6,46
γ	24,29±4,105*	27,76±5,609*	17,43±5,904	11,28±5,223

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Відомо, що глобуліни можуть зв’язувати кортизол. Зменшення концентрації вільного кортизолу в плазмі крові тварин I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки, пов’язано з підвищенням вмісту глобулінової фракції, що збігається з даними, отриманими під час досліджень на щурах за умов стресу — вимушеного плавання [401]. Автори відмічають надзвичайно динамічну роль глобулінів, які регулюють вміст глюкокортикоїдів під час гострого стресу [402].

Отже, підсумовуючи отримані дані, можна зробити висновок, що використання імуностимуляторів рослинного і тваринного походження знижує негативний вплив передзабійного стресу та підвищує імунітет тварин. Серед застосованих біологічно активних речовин найбільший вплив на тварин за умов стресу мав препарат селезінки, який містить поліаміни, ліпіди та аргінін. Додаткове введення до корму препарату селезінки супроводжувалось

підвищенням концентрації β- і γ-глобулінів та зниженням рівня кортизолу у плазмі крові щурів порівняно з контролем, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

С. С. Грабовський. Вплив імуномодуляторів природного походження на концентрацію білкових фракцій і рівень кортизолу у плазмі крові щурів за умов стресу / С. С. Грабовський, О.С. Грабовська, Д. Д. Остапів // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. — 2014. — Вип. 67. — С. 29–34.

Морфометрична характеристики щурів* лінії *Вістар під впливом біологічно активних речовин різного походження

Для усіх живих організмів характерною особливістю є здатність адаптуватися до різних зовнішніх чинників, підтримувати постійність внутрішнього середовища, незважаючи на зміни у навколишньому середовищі. Існують дві найважливіші фізіологічні відповіді на стрес: стимулювання симпатичної нервової системи і активування системи 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 [147,714]. Для забезпечення тварин усіма необхідними мікро-, макроелементами і вітамінами застосовуються різні препарати і кормові добавки. Додавання до раціону біологічно активних добавок сприяє підвищенню продуктивності та плодючості, стимуляції росту, зниженню захворюваності у тварин і поліпшенню якості продукції [403]. Існує багато речовин, котрі негативно впливають на систему крові і викликають зміну гемопоезу (бензол, хлорбензол, ДДТ, стирол тощо), порушення синтезу порфірину та гему (важкі метали, зокрема Свинець), зміни властивостей гемоглобіну і гемоліз (анілін, метил-, диметиланілін, нітро- і динітробензол, нітро-, динітро- і тринітротолуол; окис вуглецю, миш’яковистий водень, фенілгідразин, толуїлендіамін тощо) [404].

Інтерес викликає дослідження впливу біологічно активних речовин природного походження на масу деяких внутрішніх органів щурів за умов передзабійного стресу. Тому метою роботи було дослідження впливу ІМД та антистресорів у передзабійний період на морфо метричні зміни у внутрішніх органами лабораторних тварин.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів ІІ дослідної групи маса тіла, печінки та підшлункової залози була вірогідно нижчою порівняно з контролем (Р<0,01) (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Маса тіла та внутрішніх органів щурів, г (М±m; n=5)

Маса	Група тварин			
	Контрольна	І дослід	ІІ дослід	ІІІ дослід
Тварина	234±38,47	246±26,08	185±10,0**	252±30,33
Печінка	7,7±1,65	8,4±1,29	5,9±0,33**	8,7±1,39
Селезінка	0,9±0,20	0,8±0,12	0,6±0,04	0,9±0,14
Підшлункова залоза	0,6±0,10	0,6±0,08	0,5±0,02**	0,7±0,03
Нирки	1,7±0,26	1,7±0,17	1,5±0,01	1,8±0,18
Наднирники	0,03±0,005	0,03±0,004	0,03±0,005	0,03±0,004

Примітка. Статистично вірогідні різниці: ** — Р<0,01 (стосовно контролю)

Отже, за умов додавання до основного раціону у передзабійний період препаратів селезінки, ехінацеї та лимоннику, пророщеного зерна не мало негативного впливу на організм лабораторних тварин.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Грабовський С. С. Морфометрична та гематологічна характеристика щурів лінії *wistar* за умов передзабійного стресу та при споживанні біологічно активних речовин / С. С. Грабовский, О. С. Грабовська // Сб. научных трудов SWorld. — 2014, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 31. Вып. 4.(37) — С. 7–10.

3.5 Дослідження впливу препарату селезінки на біохімічний та імунологічний профіль крові кролів перед забоєм

Вплив препарату селезінки на показники клітинного імунітету та рівень кортизолу у крові кроликів

У попередніх дослідженнях йшлося про вплив передзабійного стресу на клітинний імунітет та рівень кортизолу в крові щурів [350].

У контролі вродженої імунної відповіді у вищих хребетних відіграють важливу роль поліаміни: Put, Spd та Spm . Поліаміни можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції [145, 109, 111], поглинатися Т- та В-лімфоцитами, регулювати апоптоз В-клітин [197]. В-лімфоцити ініціюють транспорт позаклітинних поліамінів [146]. У дослідженнях на курчатах-бройлерах нами було встановлено високий вміст поліамінів у препараті селезінки [353], що дозволило використати цю добавку як імуностимулятор та з’ясувати його дію ще й як антистресора.

Саме тому в дослідженнях ми використали біологічно активні речовини природного походження — препарат селезінки. Метою роботи було встановити чи змінюється резистентність та імунітет у кроликів за одночасного зменшення передзабійного стресу за використання препарату селезінки.

Важливого значення при дослідженні показників імунітету тварин надається визначенню кількості Т- і В-лімфоцитів, як провідних імунокомпетентних клітин крові, які характеризують рівень захисних сил організму і стан специфічного (адаптивного) імунітету.

Аналізуючи результати досліджень окремих показників імунного статусу організму, не було встановлено вірогідних різниць у кількості загальних та активних Т-лімфоцитів у крові кроликів як дослідної, так і контрольної групи. У результаті проведених досліджень (табл. 3.15) встановлено зменшення Т-лімфоцитів-хелперів (з низькою щільністю рецепторів) у кроликів дослідної групи на 5,5 % ($P<0,01$) порівняно з контролем. Їх відсоткова кількість теж зменшилась — на 6,6 % ($P<0,01$).

Відмічено зменшення кількості малодиференційованих (низькоавідних лімфоцитів або клітин з малою щільністю поверхневих рецепторів) — лімфоцитів, які приєднали 3–5 еритроцитів.

Таблиця 3.15

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові кроликів, % (M±m; n=5)

Показник	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), 0	51,5±1,73	53,8±2,22
3–5	37,5±2,08	35,3±2,22
6–10	7,6±1,26	7,5±1,29
М	3,3±1,89	3,5±2,08
%	48,5±1,73	46,3±2,22
Т-активні (ТА-РУЛ), 0	74,0±2,94	78,0±1,83
3–5	21,5±3,42	18,8±3,40
6–10	4,5±1,73	3,0±1,41
%	26,0±2,94	22,0±1,83
Т-теофілінрезистентні (Th-РУЛ), 0	72,0±1,83**	76,0±1,63
3–5	22,3±2,87	20,8±1,50
6–10	4,8±0,50	3,0±1,41
М	1,0±0,82	0,3±0,50
%	28,0±1,83**	24,0±1,63
Т-супресори (Ts)	20,5±3,11	22,3±0,96
В-РУЛ (ЕАС-РУЛ), 0	54,0±2,94	53,0±6,78
3–5	30,0±2,16**	33,8±1,50
6–10	10,3±0,96	7,0±3,46
М	5,8±1,26	6,3±4,50
%	45,0±2,65**	50,3±1,53

Примітка: статистично вірогідні різниці ** — P<0,01(стосовно контролю)

Спостерігалася динаміка до зменшення відсотка Т-супресорів в крові кроликів дослідної групи, що може вказувати на збільшення кількості В-клітин та синтез антитіл, але ці дані невірогідні.

Кількість В-лімфоцитів вірогідно менша — на 12,5 % (P<0,01) у крові тварин дослідної групи за рахунок малодиференційованих (низькоавідних лімфоцитів або клітин з малою щільністю поверхневих рецепторів) —

лімфоцитів, які приєднали 3–5 еритроцитів. Відповідно і їх відсоткова кількість теж менша — на 11,8 % (P<0,01).

З цих даних випливає, що внесення до корму препарату селезінки кроликам дослідної групи в основному впливає на функціональні властивості Т-лімфоцитів крові, зокрема зміцнює рецепторний апарат клітин.

У модельному експерименті на щурах вивчали вплив передзабійного стресу на клітинний імунітет і концентрацію в крові кортизолу — стресового гормону. У плазмі крові щурів, які додатково з кормом отримували препарат селезінки, рівень кортизолу був вірогідно нижчим порівняно з контролем, що може свідчити про зменшення стресу перед забоєм [350].

Дослідження на щурах та кроликах вказують на те, що біологічно активні речовини препарату селезінки підвищують резистентність організму, корегують та нівелюють вплив стресу перед забоєм тварин.

Як видно з досліджень (табл. 3.16), у крові кроликів I дослідної групи, яким додатково до корму аерозольним методом вносили препарат селезінки вірогідно збільшилася фагоцитарна активність крові та фагоцитарне число на 27 % (P < 0,01) порівняно з тваринами контрольної групи.

Таблиця 3.16

Показники неспецифічної резистентності крові кроликів перед забоєм, (M±m, n=5)

Група	Фагоцитарна активність нейтрофілів, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Контроль	39,7±2,52	8,4±0,57	3,3±0,32
I дослідна	46,0±1,0**	9,1±0,46	4,2±0,29**
II дослідна	44,3±2,08	9,7±0,59	4,3±0,46**

Аналіз біохімічних показників крові кроликів за умов стресу перед забоєм, показали негативний вплив його дії на адаптивні механізми організму цих тварин. У крові кроликів контрольної групи збільшилась концентрація кортизолу на 40 % (P < 0,05) порівняно з тваринами, які отримували препарат селезінки (Рис. 3.56).

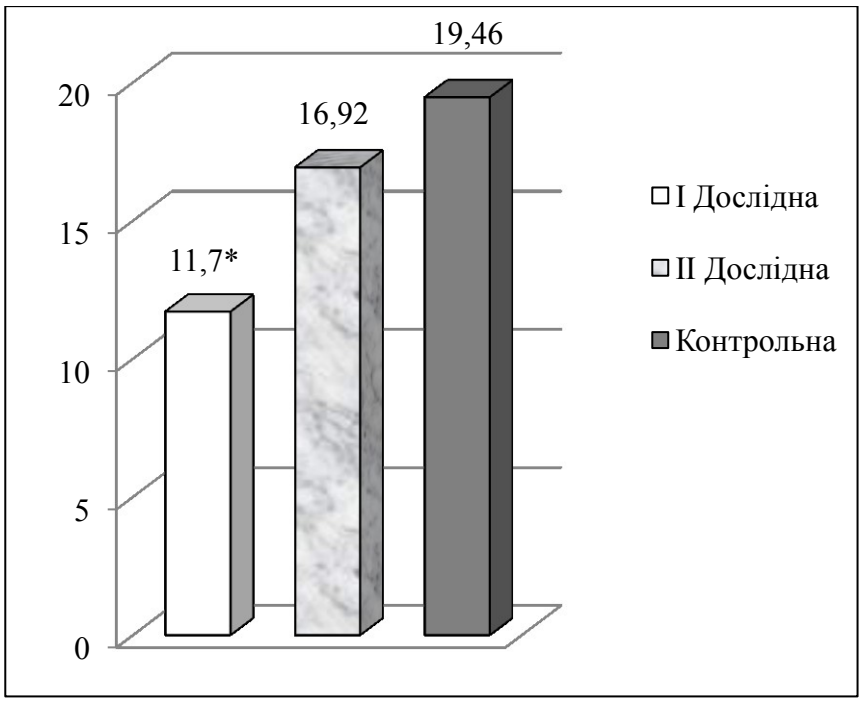


Рис. 3.56. Рівень кортизолу у плазмі крові кроликів перед забоєм, нг/мл

Таким чином, встановлено, що як ІМС та антистресори, біологічно активні речовини і, зокрема ліпіди, аргінін та поліаміни, з препарату селезінки, позитивно впливають на показники Т- і В-клітинного імунітету в крові кроликів перед їх забоєм. При цьому зменшується кількість Т-теофілінрезистентних ((Th), 0) недиференційованих лімфоцитів та В-РУЛ (3–5) малодиференційованих (низькоавідних або клітин з малою щільністю поверхневих рецепторів).

Рівень кортизолу в плазмі крові кроликів, які отримували препарат селезінки був вірогідно нижчим порівняно з тваринами контрольної групи, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. 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). — P. 14–17.

2. Патент України на корисну модель (19) UA. — № 98958; (51) МПК (2015.01): A01K 67/02 (2006.01), A61D 7/00, A61K 35/28 (2015.01). Спосіб підвищення імунної реактивності та корекції стресового стану кроликів перед забоєм / Грабовський С. С., Кирилів Я. І., Грабовська О. С. (21) Заявка u 2014 13302; (22) 11.12.2014; (24) 12.05.2015; (46) 12.05.2015, Бюл. № 9 — 4 с.

Вміст окремих класів ліпідів у крові кроликів за умов стресу та його корекції

З літературних джерел відомо про вплив стресових факторів, а саме: оксидаційного стресу на ліпідний обмін тварин і, зокрема кроликів [405,406,407].

Оксидаційний стрес спричиняє глибокі зміни у концентраціях клітинних мембранних ліпідів, білків та нуклеїнових кислот, що послаблює клітинний метаболізм і сприяє виникненню захворювання [408,409,410,411]. Дослідженням впливу короткострокового психологічного стресу на концентрацію ліпідів крові присвячено багато робіт [412,413,414], але недостатньо робіт про вплив стресу перед забоєм на концентрацію окремих класів ліпідів у плазмі крові кроликів. Власне тому, метою нашої роботи було дослідження змін рівня різних фракцій ліпідів у плазмі крові кроликів перед забоєм і їх корекція біологічно активними речовинами природного походження.

Дослід провели на 10 кроликах породи білий велетень, яких утримували на стандартному гранульованому комбікормі фермерського господарства Бузького району Львівської області. Для дослідження було сформовано дві групи тварин 5-місячного віку (по 5 кроликів у кожній).

Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п’ять діб до забою) використовували препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (дослідна група). Препарати наносили на комбікорм аерозольним методом (70 % спиртовий розчин препарату селезінки об’ємом 1,4 мл на тварину). Кроликам контрольної групи таким же чином додавали до корму 70 % спиртовий розчин в аналогічному об’ємі.

Аналізуючи отримані дані вмісту окремих фракцій ліпідів у плазмі крові кроликів за умов стресу та при додаванні до раціону біологічно активних речовин препарату селезінки виявлено, що у тварин досліджуваних груп серед нейтральних ліпідів переважають фосфоліпіди, найменшу кількість встановлено неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) і тригліцеролів. Високий вміст фосфоліпідів, можливо, зумовлений інтенсивнішим використанням не тільки екзогенних, а й ендогенних жирних кислот внаслідок посиленого ліполізу. У кроликів дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, вміст холестеролу становив 7,23±0,50 % ($P < 0,05$), що є вірогідним нижчим порівняно з контролем 9,66±1,07 %. Невисокий вміст вільного холестеролу, можливо, пояснюється більшим використанням його у синтезі стероїдних гормонів у кроликів контрольної групи. Рівень етерифікованого холестеролу у досліді був вірогідно вищим ($P < 0,05$) (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

Вміст нейтральних ліпідів та співвідношення їх класів у плазмі крові кроликів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник		Контроль	Дослід
	Загальні ліпіди	2,9±1,53	4,9±2,00
Фракції:	Фосфоліпіди	52,9±2,73	50,8±6,53
	Холестерол	9,7±1,07	7,2±0,50*
	Моно- і диацилгліцероли	12,8±0,48	12,6±4,28
	НЕЖК	7,3±2,62	6,9±3,49
	Триацилгліцероли	7,5±0,49	8,1±3,72
	Е. холестерол	9,9±1,61	14,4±2,29*

Примітка: статистично вірогідні різниці * — $P<0,05$ (стосовно контролю)

Встановлено, що перед забоєм вміст моно- і дигліцеролів був практично на однаковому рівні у плазмі крові кроликів двох груп, що узгоджується з попередніми дослідженнями на курчатах-бройлерах [352].

У плазмі крові кроликів досліджуваних груп переважали фосфоліпіди: кардіоліпін, фосфатидна кислота і фосфатидилінозитол та

фосфатидилетаноламін, тоді як вміст лізолецитину та фосфатидилсерину був найменшим. Рівень лізолецитину та фосфатидилсерину у плазмі крові кроликів дослідної групи перед забоєм підвищився майже у три рази порівняно з контролем (Р < 0,05) (табл. 3.18). Вміст фосфатидилхоліну у плазмі крові кроликів дослідної групи перед забоєм (Р < 0,05) свідчило про пригнічення фосфоліпази Д — ензиму, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти [415,416].

Рівень фосфатидилінозитолу знизився майже вдвічі у плазмі крові кроликів дослідної групи (Р < 0,05) порівняно з контролем. Відомо, що фосфоінозитоли залучені у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих посередників в обміні, як диацилгліцерол (ДАГ), інозитолфосфати та арахідонова кислота [417]. Вміст фосфатидилетаноламіну зменшився (Р < 0,05), а фосфатидної кислоти збільшився (Р < 0,01) у плазмі крові кроликів дослідної групи. Фосфатидна кислота — продукт дії фосфоліпаз С та Д і виступає у клітинному матриксі як вторинний месенджер [418].

Таблиця 3.18

Співвідношення фосфоліпідів у плазмі крові кроликів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Контроль	Дослід
Лізолецитин	3,8±0,30	10,0±1,05*
Сфінгоміелін	8,2±1,05	9,1±0,99
Фосфатидилсерин	5,9±1,12	16,1±0,77*
Фосфатидилхолін	10,9±2,44	4,8±0,84*
Фосфатидилінозитол	16,6±2,41	9,6±1,24*
Фосфатидилетаноламін	18,7±2,56	12,5±2,08*
Кардіоліпін	19,1±3,62	18,9±0,75
Фосфатидна кислота	16,8±1,73	19,1±0,51**

Примітка: статистично вірогідні різниці *—Р < 0,05; **— Р < 0,01

Таким чином, виявлено вплив біологічно активних речовин, одержаних з препарату селезінки із застосуванням ультразвуку, при передзабійному стресі

на вміст окремих фракцій нейтральних ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові кроликів.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Грабовський С. С. Вміст ліпідів у крові кроликів за умов стресу / С. С. Грабовский, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Сб. научных трудов SWorld. — 2014, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 29. — Вып. 3. — С. 3–6.

Активність ензимів та гематологічна характеристика кроликів за умов стресу і його корекції

Проведення біохімічного моніторингу крові неможливе без використання діагностичних ензимів, а саме: визначення активності аспарагінової та аланінової амінотрансфераз (АсАТ та АлАТ) та гематологічних показників. Активність амінотрансфераз дослідної групи була дещо вищою порівняно з тваринами контрольної групи: АлАТ була вищою на 24 % (P<0,01), а АсАТ — на 16 % (P<0,05) (табл. 3.19). Така ж тенденція спостерігалася щодо концентрації гемоглобіну та загального протеїну, хоча ці показники були в межах норми.

Таблиця 3.19

Активність АсАТ, АлАТ та вміст гематологічних показників у крові кроликів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Групи тварин	
	Дослідна	Контрольна
АлАТ, мкмоль/(год/х/мл)	0,42 ± 0,074**	0,32 ± 0,024
АсАТ, мкмоль/(год/х/мл)	0,50 ± 0,42*	0,42 ± 0,01
Гемоглобін, г/л	138,8 ± 4,31*	131,5 ± 1,96
Еритроцити, Т/л, 10^{12}/л, млн,/мкл	6,6± 0,11	5,7 ± 1,43
Загальний протеїн, г/л	131,9 ±1,97*	110,4 ± 7,92

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Зниження активності ензимів АсАТ та АлАТ у плазмі крові кролів вказує на позитивний вплив використання препарату селезінки і тим самим сприяло активізації метаболічних процесів в організмі тварин перед забоєм, що співпадає з працями інших науковців [419,420,421,422].

Дослідження впливу стресу та препарату селезінки на концентрацію протеїнових фракцій плазми крові кроликів

У наших попередніх дослідженнях серед застосованих нами імуностимуляторів найбільший вплив на організм лабораторних тварин за умов передзабійного стресу мав препарат селезінки, який містить біологічно активні речовини, що власне і є антистресорами: додаткове введення до корму препарату селезінки підвищувало концентрацію β- і γ-глобулінів та знижувало рівень кортизолу у плазмі крові щурів.

Особливий інтерес викликають дослідження впливу біологічно активних речовин природного походження на співвідношення протеїнових фракцій крові у передзабійний період, тобто за стресового стану організму тварини. Тому метою роботи було дослідження впливу препарату селезінки, що містить імуностимулятори та анти стресори, на співвідношення протеїнових фракцій крові кроликів у передзабійний період.

У плазмі крові кроликів дослідних груп, яким додатково до основного раціону додавали препарат селезінки та етиловий спирт перед забоєм, змінювалось співвідношення протеїнових фракції. Вміст преальбумінів зріс вдвічі ($P < 0,05$) та 2,8 разу ($P < 0,01$) відповідно. На нашу думку суттєвіше збільшення вмісту преальбумінів в другій дослідній групі пов’язано з дією етанолу (табл. 3.20).

Преальбумін — протеїн, який синтезується у печінці і метаболізується переважно в нирках. Одна з найважливіших його функцій — транспорт гормонів щитовидної залози (тироксину і трийодтироніну) у крові.

Таблиця 3.20

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові кроликів перед забоєм, (%; M ± m; n=5)

Фракція протеїнів	Група тварин		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
Преальбуміни	4,40±0,351*	5,64±1,768**	1,90±0,546
Альбуміни	37,72±5,611	33,90±1,669	30,27±15,812
Глобуліни: α	15,60±1,821	17,90±1,447	23,58±8,967
β	4,948±2,177	6,93±4,673	5,47±1,544
γ	35,89±3,774	34,82±3,031	34,17±5,686

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

У зв’язку з тим, що період напіврозпаду цього протеїну в організмі дуже короткий (1–2 дні), він є чутливим параметром протеїнсинтезувальної функції печінки. Враховуючи роль нирок у розпаді преальбуміну, дані про його концентрацію у крові використовуються в якості одного з показників, що характеризують функції нирок.

Коротший період напіврозпаду преальбуміну порівняно з альбуміном дозволяє його рівню у сироватці крові швидше реагувати на зміни протеїнсинтезувальої активності печінки. У зв’язку з цим преальбумін може займати одне з центральних місць у системі діагностичних параметрів функціонального стану печінки [423].

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

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 // Біологичний вісник Мелітопольского державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького. — 2015. — Т. 5. — Вип. 2. — С. 93–102. http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v5i1.979

3.6 Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на біохімічний та імунологічний профіль крові кнурців перед забоєм

Вплив препарату селезінки на показники клітинного імунітету та рівень кортизолу в крові кнурців

Стресовий стан у домашніх тварин і свиней, зокрема, викликає не лише економічні втрати, але й погіршення якості продукції [424, 425,426]. На жаль мало враховується стрес самих тварин перед забоєм [305], тому виникає необхідність підвищення як імунного статусу тварини, так і нівелювання передзабійного стану. Є дослідження, де враховано тривалість транспортування та процеси розвантаження, які були пов’язані з ушкодженнями тварин на шкірі із зазначенням впливу на біохімічні показники [306,427].

Найбільш надійним, ефективним і екологічно безпечним методом профілактики стресу у свиней є вдосконалення методів використання антистресорів і ІМД природного походження, які б формували в організмі механізми адаптації до дії несприятливих чинників довкілля [428].

Попередніми дослідженнями нами встановлено позитивний вплив препарату селезінки на підвищення імунного статусу і зменшення передзабійного стресу у щурів (модельний досвід) [350]. Є ряд досліджень, які показують, що у розвитку стресового синдрому у поросят після відлучення від свиноматки важливу роль відіграють гормони кори наднирників — глюкокортикоїди, рівень яких у крові значно підвищується [429,430].

Аналізуючи концентрації кортизолу, інсуліну та АКТГ у плазмі крові кнурців, нами не було встановлено вірогідноїної різниці у цих показниках між тваринами дослідної та контрольної групи до транспортування на м’ясокомбінат (табл. 3.21).

Слід відмітити, що рівень досліджуваних гормонів у плазмі крові кнурців значно зріс після перевезення — перед самим забоєм (табл. 3.22) порівняно з цими показниками до перевезення.

Таблиця 3.21

Рівень гормонів у плазмі крові кнурців до транспортування, нг/мл (M±m, n=5)

Група тварин	Гормони		
	Інсулін, ммоль/л	АКТГ, пг/мл	Кортизол, нмоль/л
I дослідна	4,9±0,79	6,3±2,62	27,1±15,29
II дослідна	7,5±1,58	8,4±3,44	32,9±12,10
Контроль	7,4±2,42	8,3±2,35	21,8±7,40

Рівень кортизолу має чітко виражені добові коливання: найвищий рівень спостерігається ранком. З отриманих даних видно, що тварини під час транспортування та перед забоєм виявляють ознаки стресу. Рівень кортизолу зріс на 33 % перед забоєм, у кнурців як дослідних, так і контрольної груп. За рівнем АКТГ — після транспортування (перед забоєм) різниця між тваринами I дослідної групи, яким до основного раціону додавали препарат селезінки, була на 10 % меншою, ніж у контролі порівняно з показниками до та після транспортування. За рівнем інсуліну вірогідних різниць ми не спостерігали.

Таблиця 3.22

Рівень гормонів у плазмі крові кнурців після транспортування перед забоєм, нг/мл (M±m, n=5)

Група тварин	Гормони		
	Інсулін, ммоль/л	АКТГ, пг/мл	Кортизол, нмоль/л
I дослідна	8,9±2,15	33,1±13,92	80,5±4,33
II дослідна	7,6±2,36	25,3±6,35	73,6±17,03
Контроль	10,2±2,18	29,8±4,20	66,2±13,99

Ми провели дослідження впливу передзабійного стану тварин на окремі показники імунітету та дію біологічно активних речовин, одержаних з препарату селезінки. Як відомо, у контролі вродженої імунної відповіді

у вищих хребетних важливу роль відіграють поліаміни: Put, Spd та Spm, котрі можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції.

Т- і В-лімфоцити — імунокомпетентні клітин крові, які характеризують стан специфічного імунітету організму тварин. У літературі є дослідження, пов'язані з вивченням впливу стресу на показники імунітету кнурців. Показано [431], що стрес, який виникає у поросят після відлучення від свиноматок, спричиняє імуносупресивний вплив на лімфоцити крові, що супроводжується зменшенням їх кількості та функціональної активності. Встановлено, що внутрішньом'язове введення поросятам інтерфлоку призводить до вірогідного збільшення у крові кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних) та В-лімфоцитів. При цьому зростання кількості Т- (активних) і В-лімфоцитів у крові поросят відбувалось за рахунок лімфоцитів з низькою та середньою щільністю рецепторів [350,109].

Аналізуючи результати досліджень окремих показників імунного статусу організму кнурців до транспортування (табл. 3.23) було встановлено вірогідне збільшення відносної кількості Т- і В-лімфоцитів з низькою щільністю рецепторів (3–5), у крові як I, так і у II дослідних груп кнурців: Т-лімфоцитів — на 28 % і 30 % ($P < 0,01$), В-лімфоцитів — на 29 % ($P < 0,05$), і 20 % ($P < 0,01$), відповідно.

В-лімфоцити — попередники клітин, які продукують антитіла, а збільшення їх кількості у крові вказує на здатність організму до активного синтезу захисних антитіл, а значить й підвищення резистентності організму.

Відносна кількість Т-хелперів (Th) загальних від кількості усіх Т-лімфоцитів була більшою на 20 % ($P < 0,01$), низькоавідних, тобто з низькою (3–5) щільністю рецепторів на 22 % ($P < 0,01$), а недиференційованих або (0) — меншою лише на 8 %, у крові кнурців I дослідної групи порівняно з контролем. Отримані результати досліджень можуть вказувати на стимулювальний вплив застосованих ІМД тваринного походження, які містяться в препараті селезінки, на кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональну активність у крові кнурців на початку досліду.

Таблиця 3.23

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові кнурців до транспортування, од. (M±m; n=5)

Показник	Групи тварин		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), %	27,4±2,3	27,8±5,5	22,2±4,6
недиференційовані (0)	72,6±2,3	72,2±5,45	77,8±4,55
низькоавідні (3–5)	24,0±1,87**	24,4±3,29**	18,8±4,15
середньоавідні (6–10)	3,4±1,1	3,4±2,5	3,2±1,8
високоавідні М	0	0	0
Т-активні (ТА-РУЛ), %	39,6±1,5	42,2±4,2	38,6±4,8
недиференційовані (0)	60,4±1,5	57,8±4,2	61,4±4,8
низькоавідні (3–5)	31,8±3,3	33,4±3,1	32,6±3,8
середньоавідні (6–10)	5,4±2,2	6,6±1,3	5,0±2,5
високоавідні М	2,4±2,3	2,2±2,7	1,0±0,7
Т-хелпери (Th), %	29,0±1,4**	22,8±2,6	23,0±5,2
недиференційовані (0)	71,0±1,4**	72,2±2,6	77,0±5,1
низькоавідні (3–5)	25,2±1,9**	22,6±3,4	19,6±3,4
середньоавідні (6–10)	2,8±1,3	4,0±1,4	3,2±1,9
високоавідні М	1,0±0,7	1,2±0,8**	0,2±0,4
Т-супресори (Ts), %	10,6±3,3	14,6±5,7	16,6±8,3
В-лімфоцити, %	46,0±4,3	39,8±6,7	38,6±7,6
недиференційовані (0)	54,0±4,3	60,2±6,7	61,4±7,6
низькоавідні (3–5)	33,2±1,9*	31,0±2,3**	25,8±3,6
середньоавідні (6–10)	9,0±1,2	6,6±3,6	8,2±2,4
високоавідні М	3,8±4,1	2,2±2,8	4,6±2,1

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Аналізуючи результати досліджень окремих показників специфічного імунітету організму тварин після транспортування, власне перед забоєм встановлено, що у крові кнурців І дослідної групи відбулося збільшення кількості Т-загальних — на 10 % (P < 0,01), Т-активних — на 19 % (P < 0,01), Т-хелперів — на 28 % (P < 0,05) від кількості усіх Т-лімфоцитів відповідно. Також встановлено незначне зменшення кількості недиференційованих або (0) ТЕ-РУЛ — на 10 % (P < 0,01) та недиференційованих ТА-РУЛ — на 12 %.

Натомість, встановлено збільшення кількості низькоавідних, тобто Т-лімфоцитів з низькою (3–5) щільністю рецепторів Т-хелперів на 25 % (Р < 0,05) та середньоавідних (6–10) Т-хелперів — у три рази (Р < 0,05) у крові кнурців І дослідної групи, що може вказувати на стимулювальний вплив біологічно активних речовин, які містить препарат селезінки, на кількість та функціональну активність цих клітин. Отже, внесення препарату селезінки до корму кнурцям впливає на кількість та функціональні властивості Т- і В-лімфоцитів крові, тобто зміцнює рецепторний апарат клітин (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові кнурців після транспортування, перед забоєм, од. (M±m; n=5)

Показник	Група тварин		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), %	31,2±4,2**	21,6±0,9	23,4±6,0
недиференційовані (0)	68,8±4,2**	78,4±0,9	76,6±6,0
низькоавідні (3–5)	27,6±2,3*	19,8±1,1	19,8±4,0
середньоавідні (6–10)	3,6±2,1	1,8±1,3	3,0±1,9
високоавідні М	0	0	0
Т-активні (ТА-РУЛ), %	43,8±5,3**	33,0±2,1	36,8±4,0
недиференційовані (0)	56,2±5,3**	67,0±2,1	63,2±3,9
низькоавідні (3–5)	35,2±2,3**	26,8±3,8	31,0±2,0
середньоавідні (6–10)	5,6±2,7	4,2±1,8	4,4±1,8
високоавідні М	3,0±2,8	2,0±2,0	1,4±1,1
Т-хелпери (Th), %	31,6±2,3*	20,6±2,7	21,0±2,8
недиференційовані (0)	68,4±2,3*	79,4±2,7	79,0±2,8
низькоавідні (3–5)	26,2±3,0*	19,2±3,7	19,4±2,7
середньоавідні (6–10)	4,8±1,5*	1,2±1,3	1,4±1,5
високоавідні М	0,6±1,3	0,2±0,5	0,2±0,5
Т-супресори (Ts), %	13,8±3,1	12,4±4,2	15,8±6,4
В-лімфоцити, %	44,7±7,2	37,8±7,5	37,0±7,4
недиференційовані (0)	55,6±7,2	62,2±7,5	63,0±7,4
низькоавідні (3–5)	32,2±4,0	27,8±2,3	28,8±2,3
середньоавідні (6–10)	7,6±3,3	6,6±3,0	5,4±3,4
високоавідні М	4,6±4,2	3,4±4,3	2,8±3,6

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — Р<0,05; ** — Р<0,01 (стосовно контролю)

Дослідження імунологічних показників у свиней пов’язані з віковими змінами у специфічному та неспецифічному імунітеті [430], різними генотипами [432,433], різними захворюваннями [434], з хронічним та гострим стресом різної тривалості його дії [435,436], температурними режимами [437] зі стимуляцією імунних процесів [438] та з онтогенезом [439]. Поряд з тим є недостатньо досліджень, пов’язаних із визначенням неспецифічної резистентності крові кнурців у передзабійний період, та його корекція біологічно активними речовинами.

За нашими дослідженнями у крові кнурців, які додатково в корм отримували препарат селезінки (І дослідна група), достовірно збільшилися усі Показники фагоцитозу нейтрофілів крові порівняно з тваринами контрольної групи після перевезення тварин і власне перед самим забоєм. Фагоцитарна активність підвищилась у дослідних групах на 12% (P<0,05), фагоцитарний індекс — на 13 % (P<0,01) та фагоцитарне число —на 14 % (P<0,05) у І дослідній групі, у крові тварин, яким додатково до корму додавали препарат селезінки. Слід відмітити, що до перевезення такої тенденції ми не спостерігали (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Показники фагоцитозу нейтрофілів крові кнурців
до транспортування, % (M±m, n=5)

Групи тварин	Фагоцитарна активність крові, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Контроль	38,4 ±2,70*	9,9 ± 1,0	3,8 ± 0,22*
І дослідна	31,2 ± 1,92	9,8 ±1,21	3,1 ± 0,24
ІІ дослідна	34,4 ± 1,52**	10,6 ± 0,87	3,6 ± 0,31

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Тварини, які отримували замість препарату селезінки лише 70 % спиртовий розчин в аналогічному об'ємі, мали вищу фагоцитарну

активність крові до перевезення порівняно з кнурцями контрольної групи (табл. 3.26).

Таблиця 3.26

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

Група тварин	Фагоцитарна активність крові, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Контроль	36,6 ± 1,14	8,3 ± 0,68	3,0 ± 0,22
І дослідна	41,8 ± 2,28*	9,6 ± 0,64**	4,0 ±0,16*
ІІ дослідна	41,8 ± 2,95*	7,9 ± 0,83	3,3 ± 0,42

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Оскільки свині, зокрема є надзвичайно стесочутливими тваринами, то з отриманих результатів досліджень можна зробити висновок, що застосовані антистресори та ІМД з препарату селезінки знівелювали передзабійний стрес та підвищили імунітет тварин.

Результати цих досліджень були опубліковані у працях:

1. С. Грабовський Вплив екстракту селезінки на показники клітинного імунітету у крові кнурців за умов стресу / С. Грабовський, О. Грабовська // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. — 2015. — Вип. 70. — С. 107–114.

2. 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», 2–3 жовтня 2015 р. — «Біологія тварин». — 2015. — Т. 17. — № 3 — С. 201.

3. Грабовський С. С. Гормональний профіль та неспецифічна резистентність кнурців за умов передзабійного стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості», Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, 8-9 жовтня, Тернопіль — 2015. — С. 223.

Вміст окремих класів ліпідів у крові кнурців за умов стресу та при його корекції

Метою роботи було дослідження зміни рівнів ліпідів в плазмі крові кнурців перед забоєм і корекція стресу біологічно активними речовинами природного походження.

Аналізуючи вміст окремих фракцій ліпідів (Таблиця 3.24) у плазмі крові кнурців до і після транспортування при додаванні в раціон біологічно активних речовин препарату селезінки вивлено, що у тварин усіх досліджуваних груп переважають фосфоліпіди і триацилгліцероли. Встановлена найменша кількість неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) і етерифікованого холестеролу — до транспортування і холестеролу, НЕЖК і етерифікованого холестеролу — після транспортування і перед забоєм тварин.

Високий вміст фосфоліпідів, можливо, обумовлений інтенсивнішим використанням не лише екзогенних, але і ендогенних жирних кислот внаслідок посиленого ліполізу, причому у тварин I і II дослідних груп до транспортування рівень фосфоліпідів був вищий на 13,4 % ($P < 0,05$) і 6,7 % ($P < 0,01$), відповідно.

У плазмі крові кнурців II дослідної групи до транспортування вміст холестеролу становив 14,6 ± 2,09 % ($P < 0,05$), що є достовірним в порівнянні з контрольною групою тварин. Невисокий вміст вільного холестерину в плазмі крові тварин I дослідної і контрольною груп, можливо, пояснюється інтенсивнішим його використанням в синтезі стероїдних гормонів. Рівень моно- і диацилгліцеролів в плазмі крові кнурців I дослідної групи був нижче на 28 % ($P < 0,01$) в порівнянні з контролем.

Встановлено, що після транспортування і перед забоєм зросла концентрація НЕЖК на 35 % і 37 % етерифікованого холестеролу — на 27 % і 32 % ($P < 0,01$), рівень триацилгліцеролів знизився — на 35 % і 42 % ($P < 0,05$) в плазмі крові кнурців як I, так і II дослідних груп, відповідно (табл. 3.27, табл. 3.28), що, правдоподібно, пояснюється інтенсивнішим синтезом ліпідів.

Таблиця 3.27

Вміст ліпідів та співвідношення їх класів у плазмі крові кнурців до транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Групи тварин		
	Контрольна	І Дослідна	ІІ Дослідна
Загальні ліпіди	0,8±0,21	0,5±0,07**	0,5±0,12
Фосфоліпіди	44,8±2,19	51,8±1,61*	48,1±1,61**
Холестерол	8,7±0,15	8,4±1,01	14,6±2,09*
Моно- і диацилгліцероли	12,8±2,71	9,2±0,93**	10,9±2,65
НЕЖК	10,5±0,46	8,2±1,65**	5,4±0,70*
Триацилгліцероли	14,2±2,47	13,4±2,05	11,6±2,47
Е. холестерол	8,9±2,26	9,1±1,34	9,5±1,02

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Таблиця 3.28

Вміст нейтральних ліпідів у плазмі крові кнурців перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Групи тварин		
	Контроль	І Дослідна	ІІ Дослідна
Загальні ліпіди	0,6±0,26	0,8±0,30	0,6±0,33
Фосфоліпіди	46,5±3,12	42,8±2,12	44,2±2,68
Холестерол	9,1±4,54	9,4±1,90	10,1±1,39
Моно- і диацилгліцероли	10,7±2,80	11,9±2,23	13,5±2,35
НЕЖК	7,1±1,70	10,9±2,40**	11,3±2,43**
Триацилгліцероли	19,5±3,29	12,7±2,37*	11,3±2,01*
Е. холестерол	7,1±1,15	12,4±2,39*	9,4±1,14**

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

На стан організму домашніх тварин під впливом передзабійного стресу, а згодом і на людину, яка споживає продукцію від цих тварин, зовсім не звертається увага. У літературі обмаль повідомлень про метаболічнітпроцеси в організмі тварин за умов стресу перед забоєм.

Дослідженням впливу короткострокового психологічного стресу на концентрацію ліпідів у крові людей присвячено немало робіт [413,414], а про

передзабійний стрес у тварин у літературі є дуже мало відомостей. Стресовий стан у домашніх тварин і свиней, зокрема, викликає не тільки економічні втрати, але й погіршення якості продукції [424,425,426]. Ліпіди та фосфоліпіди зокрема є неполярним середовищем для жиророзчинних субстратів і кофакторів ензимів, забезпечують відповідну орієнтацію білків у мембранах клітин, зумовлюють їх конформаційні зміни і є регуляторами та модуляторами ензимної активності у клітині [440]. Співвідношення окремих підкласів фосфоліпідів, ступінь насиченості жирних кислот, які є у складі фосфоліпідів, визначають плинність ліпідного бішару мембрани, впливають на впорядкованість ліпідних молекул, а також характер ліпід- і протеїн-ліпідних взаємодій [441]. Збільшення мікров'язкості ліпідів плазматичних мембран призводить до зниження активності мембранозв'язаних ензимів та порушення важливих для клітини процесів [9]. Передзабійний стрес усунути повністю неможливо, тому виникає необхідність підвищення імунного статусу тварини та використання антистресорів природного походження.

Метою досліджень було встановлення вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у плазмі крові кнурців перед забоєм та при його корекції біологічно активними речовинами.

Аналізуючи отримані дані вмісту окремих фракцій фосфоліпідів, (табл. 3.29, табл. 3.30) у плазмі крові кнурців до та після транспортування при додаванні до їх раціону біологічно активних речовин препарату селезінки виявлено, що у тварин усіх досліджуваних груп переважають фосфатидна кислота і кардіоліпін. Найменшу кількість встановлено фосфатидилінозитолу до транспортування і фосфатидилхоліну — після транспортування та перед забоєм тварин.

До транспортування рівень кардіоліпіну у плазмі крові кнурців обох дослідних груп знизився майже у два рази порівняно з контролем ($P < 0,01$) (табл. 3.29), тоді як після транспортування та перед забоєм — підвищився майже у чотири рази порівняно з контролем ($P<0,01$) (табл. 3.30), при чому лише у кнурців I дослідної групи. Вміст лізолецитину був

вищий майже втричі лише у тварин II дослідної групи (P<0,01) до транспортування.

Таблиця 3.29

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у плазмі крові кнурців до транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Групи тварин		
	Контрольна	I Дослідна	II Дослідна
Лізолецитин	3,6±1,58	9,2±3,44**	8,8±5,09
Сфінгоміелін	5,9±3,01	8,5±5,92	9,5±7,15
Фосфатидил серин	11,3±10,17	12,5±4,30	10,4±5,93
Фосфатидил холін	3,6±3,42	6,8±3,42	10,8±7,12
Фосфатидил інозитол	5,8±1,95	7,0±4,25	7,1±1,70
Фосфатидил етаноламін	14,8±9,26	8,5±2,45	10,3±8,83
Кардіоліпін	27,4±9,10	13,0±3,88**	16,4±4,02**
Фосфатидна кислота	27,6±7,00	34,5±9,98	21,7±13,64

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Таблиця 3.30

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у плазмі крові кнурців після транспортування та перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Група тварин		
	Контроль	I Дослідна	II Дослідна
Лізолецитин	8,5±3,18	4,6±4,14	11,4±6,36
Сфінгоміелін	13,6±2,53	7,6±6,07	12,8±6,43
Фосфатидилсерин	13,0±9,65	3,6±2,78	9,0±3,86
Фосфатидилхолін	3,8±3,55	4,1±2,06	6,6±5,26
Фосфатидилінозитол	17,2±13,61	13,6±12,90	19,2±9,98
Фосфатидилетаноламін	15,1±12,58	14,4±6,72	14,3±8,27
Кардіоліпін	7,7±1,74	28,8±17,03**	12,5±7,85
Фосфатидна кислота	16,1±4,45	23,5±3,21**	16,0±5,30

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Таким чином, за умов передзабійного стресу виявлено вплив біологічно активних речовин, одержаних з препарату селезінки, на вміст окремих фракцій нейтральних ліпідів у плазмі крові кнурців.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Грабовский С. С., Грабовская А. С., Содержание липидов в крови свиней при стрессе // Санкт-Петербург: Научный фонд «Биолог». — 2014. — № 2. — С. 9–11.

2. Грабовський С. С. Вміст фосфоліпідів у крові свиней за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Scientific Journal «ScienceRise». Біологічні науки. — 2014. — №4/1(4) — P. 10–13.

Дослідження впливу стресу та препарату селезінки на концентрацію протеїнових фракцій плазми крові кнурців

На сучасному етапі розвитку науки особливе місце займають дослідження механізмів життєдіяльності тварин та свиней зокрема, в умовах промислового виробництва свинини. Такого характеру дослідження дозволять удосконалити адаптацію тварин до стресових ситуацій, які виникають у процесі вирощування та, що найважливіше, у передзабійний період. Основні показники крові дозволяють судити про стан організму і про його захисні можливості, оскільки процеси, пов’язані з ростом і розвитком, завжди супроводжуються змінами на білковому спектрі крові. Чимало експериментальних робіт спрямовані на дослідження впливу стресу у свиней різних генетичних ліній [442], на стан тварин, пов’язаний з ранньою супоросністю [443], різними температурними режимами [444] впливу на імунологічні показники [435] та характеристиці м’ясних якостей [445,446].

Протеїни відіграють важливу роль в життєдіяльності організму, оскільки є пластичним матеріалом, з якого синтезуються усі клітини і тканини організму. Вміст білків крові характеризується великою стабільністю і за нормальних умов не піддається значним коливанням. У літературі є ряд

досліджень, що підтвердили взаємозв'язок між деякими біохімічними показниками крові, зокрема вмістом протеїну і м'ясною продуктивністю [447,448,449].

Утворюючи комплекси з токсичними речовинами, альбуміни знешкоджують їх, а за необхідності використовуються як енергетичне джерело. Протеїни глобулінових фракцій, зокрема α і β-глобуліни, беруть активну участь у підтримці осмотичного тиску крові, крім того, β-глобуліни активно проявляють захисні властивості. Імунні властивості мають γ-глобуліни, оскільки містять антитіла до збудників різних інфекційних хвороб і є основними носіями антитіл в організмі. Проведені дослідження на свинях різних спеціалізованих типів показали вищий рівень γ-глобулінів у гібридів, що вказує на вищі захисні можливості цих тварин до вироблення антитіл [432]. Протеїнові фракції сироватки крові у свиней зазнають в онтогенезі кількісних змін, які залежать, у першу чергу, від фізіологічного стану тварин, їх віку, технологічних процесів. Є дослідження про стимуляцію компенсаторно-адаптивних реакцій на організм свиней та блокування біологічно активних центрів гормонів мікроін'єкціями атропіну [450] про використання водного розчину глобуліну в період відлучення поросят від свиноматки для зняття стресу за ще незрілої імунної системи і дефіциті імуноглобулінів [451].

Аналізуючи показники протеїнових фракцій плазми крові кнурців до транспортування ми не спостерігали вірогідних різниць їх концентрації Відмічено тенденцію до зменшення α-глобулінової фракції та деяке збільшення β-глобулінів в обох дослідних групах порівняно з контролем (табл. 3.31).

Після транспортування і власне перед забоєм у кнурців обох дослідних груп спостерігається тенденція до деякого зниження концентрації альбумінів. Щодо фракції глобулінів, то у плазмі крові кнурців лише I дослідної групи концентрація α-глобулінів вірогідно зменшується вдвічі ($P<0,05$), у той час як відбулося вірогідне збільшення у 1,5 разу вмісту як фракції β-глобулінів ($P<0,01$) так і фракції γ-глобулінів ($P<0,05$), порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 3.32).

Таблиця 3.31

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові кнурців до транспортування, (%; M±m; n=5)

Фракція протеїнів (%)	Група тварин		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
До транспортування			
Альбуміни	17,2±4,92	18,8±8,08	15,0±3,16
Глобуліни: α	21,0±7,25	26,2±7,73	32,0±12,23
β	16,4±6,11	16,6±8,56	9,4±4,78
γ	45,6±8,47	36,4±4,22	44,0±11,68

Таблиця 3.32

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові кнурців після транспортування, (%; M±m; n=5)

Фракція протеїнів (%)	Група тварин		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
Після транспортування			
Альбуміни	18,6±5,94	21,6±7,83	22,2±5,07
Глобуліни: α	15,6±5,18	18,6±9,61	35,2±3,96*
β	14,6±1,52**	14,6±6,69	9,4±3,85
γ	51,6±5,37*	45,0±11,34	33,4±4,34

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

За результатами досліджень у тварин контрольної групи на тлі стресу спостерігалось зниження γ- та β-глобулінів, що вказує на сповільнення процесів транспортування поживних речовин клітинам та зниження захисту організму від несприятливих чинників зовнішнього середовища. Ці дані збігаються з дослідженнями деяких авторів [164, 452,453].

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Грабовський С. С. Вплив імуномодуляторів природного походження на вміст протеїнових фракцій плазми крові кнурців за умов стресу

/ С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Вісник проблем біології і медицини. — 2015. — Вип. 3, Том 2(123). — С. 104–107.

3.7 Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на біохімічний та імунологічний профіль крові бугайців перед забоєм

Вплив препарату селезінки на показники клітинного імунітету та рівень гормонів у крові бугайців перед забоєм

Нашими попередніми дослідженнями на великій рогатій худобі встановлено коливання активності окремих ензимів у певні періоди онтогенезу. На наш погляд це пов’язано із переходом на грубі корми в 2-місячному віці та статевого дозрівання в 9-місячному [454]. У ці періоди онтогенезу відбувалися різкі зміни в біохімічних показниках — так званий фізіологічний стрес. Більшим подразником є власне перед забійний стрес

Транспортування та передзабійне утримання викликає у тварин і бугайців, зокрема стрес, який призводить до їх збудження, супроводжується втратою продуктивності, травматизмом, змінами в метаболізмі і відображається на якості отриманої від них продукції [455,456,457].

Основна увага при забезпеченні населення м’ясом звертається на інтенсифікацію виробництва, впровадження сучасних технологій вирощування, організацію повноцінної годівлі і створення оптимальних умов утримання великої рогатої худоби, скорочення втрат м’ясної продукції у процесі її виробництва, реалізації і зберігання. Транспортування і перезабійне утримання викликають один з найважчих стресів. Завантажування тварин у транспортний засіб і перевезення призводять їх до збудження, що супроводжується втратою живої маси, травматизмом, а нерідко й загибеллю [458, 455].

Скупчення, незвичні звуки і шум, поштовхи під час перевезення, а також його тривалість, метеорологічні чинники створюють стресову ситуацію, яка у більшості своїй триває після прибуття тварин на м’ясокомбінат, де їх

стресовий стан може посилитися через незвичні умови: змішування тварин різних груп, відсутність корму та дія інших стресових чинників [459,460,461, 456,457]. Але, правдоподібно, найуразливішим у цьому технологічному процесі виробництва тваринної продукції займає саме передзабійний стрес, коли не завжди вдається досягти бажаного результату, так як використовувати антидепресанти гормональної природи у цей період заборонено.

ІМД почали застосовувати у ветеринарній практиці приблизно 30 років тому. Але слід звертати увагу на те, що їх використання може бути пов'язане з побічними реакціями, що виникали після застосування препаратів для підтримки імунної системи. При цьому, як правило, не враховують, що під виглядом ІМД нерідко фігурують звичайні харчові добавки, а також сумнівні за своєю ефективністю природні продукти, що частенько зовсім не мають імуномодулюючої активності. Іноді, наприклад, властивості ІМД незаслужено приписують звичайним білково-вітамінним сумішам або, наприклад, гуміновим та іншим кислотам, яким властива більша антиоксидантна активність. Відомі випадки, коли призначення ІМД наосліп, без вивчення імунологічного статусу і ланок прикладення в імунній системі, призводило до загострення захворювання [462].

Адже справжні ІМД — це зовсім інша група препаратів, які безпосередньо впливають на певні ланки імунної системи. ІМД — речовини, здатні позитивно або негативно модулювати імунореактивність організму і підвищувати його природну резистентність — здатність протистояти тій або іншій інфекції або інвазії. Зміна імунореактивності у відповідь на введення ІМД залежить від багатьох чинників: хімічної структури ІМД, дози, способу і схеми введення, стану організму і т. д. Практично будь-який ІМД має гранично допустиму дозу, перевищивши яку, можна, замість очікуваної стимуляції імунної відповіді, отримати імуносупресію. І тому слід віддавати перевагу ІМД природного походження (із залоз внутрішньої секреції, дріжджів, бактерійних клітин, рослин), які, як правило, не дають побічних ефектів. Це пов'язано, зокрема, з тим, що, по-перше, екзогенний ІМД після введення в організм

здатний пригнічувати 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 (максидин, фоспреніл, достим, риботан, камедон, сальмозан та ін.) стимулюють синтез ендогенного ІФН (що фізіологічно, та й активність ендогенного ІФН зберігається довше), а також, у більшості випадків, запускають синтез і продукцію інших цитокінів, передусім, саме Th1 ряду і активніше впливають на В-, чим на Т-клітини [462].

Показаннями для застосування ІМД служить будь-яка імунологічна недостатність, викликана стресом [463], гострою або хронічною інфекцією, медикаментозною терапією і т. д. Оскільки інфекційні захворювання практично завжди супроводжуються імуносупресією, актуальним видається науково обґрунтований підхід до вибору таких ІМД, які здатні підвищувати природну резистентність організму за рахунок стимуляції функціональної активності тих клітин, що в стадії фагоцитування, вироблення антитіл, посилення цитотоксичної активності лімфоцитів і природних клітин кіллерів, індукції синтезу інтерферону й інших цитокінів. ІМД можна застосовувати при лікуванні імунодефіцитних станів, викликаних бактерійними і вірусними інфекціями, паразитарними інвазіями, а також для профілактики інфекційних захворювань [464,465]

Однією з центральних ланок в ендокринній системі організму є надниркові залози, основними гормонами кори яких є глюкокортикоїди, зокрема кортизол. Рівень коливання концентрації кортизолу проявляється на різних ланках метаболічних процесів, і зокрема на адаптації організму. Разом з альдостероном кортизол діє на мінеральний обмін в організмі, впливає на виведення Натрію і Фосфору через нирки [461, 460].

Є ряд досліджень з визначенням концентрації кортизолу у слині та в порівнянні з плазмовим кортизолом. Проте встановлено, що плазмові концентрації кортизолу були значно вищі, ніж концентрації у слині [466,467]

Альдостерон синтезується з холестеролу клітинами клубочкової зони кори надниркових залоз. При його синтезі ключову роль відіграє ензим альдостерон-синтаза [468]. Експериментальні дослідження показали, що окрім кори надниркових залоз, синтез альдостерону може здійснюватися і на локальному рівні — в ендотеліальних клітинах і гладких м'язах кровоносних судин, головному мозку і міокарді.

Концентрація альдостерону в плазмі крові непостійна і змінюється впродовж доби: максимальна у ранішні години (8^{00}–9^{00}), знижується вдень (14^{00}) і стає мінімальною увечері (21^{00}) [469].

Основним стимулятором синтезу альдостерону є АКТГ та іони Калію [470]. Меншою мірою на продукцію альдостерону впливають серотонін, вазопресин та ацетилхолін [471].

З даних, наведених у (Таблиця 3.30) видно, що після транспортування, перед забоєм, концентрація АКТГ збільшилась майже вдвічі ($P<0,05$) у бугайців контрольної групи в порівнянні з дослідною.

Незважаючи на те, що рівень альдостерону за класичною схемою мав би знизитись [469], він значно зріс — на (34) 37 % ($P<0,05$) (Таблиця 3.30) перед забоєм у плазмі крові тварин контрольної групи у порівнянні з дослідною, що може свідчити про значний стрес тварин, який вдалося зменшити використовуючи препарат селезінки у дослідній групі тварин.

У плазмі крові бугайців, які з кормом отримували препарат селезінки (дослідна група), рівень кортизолу був вірогідно нижчим на 31% ($P<0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи, що може свідчити про зменшення стресу перед забоєм (табл. 3.33).

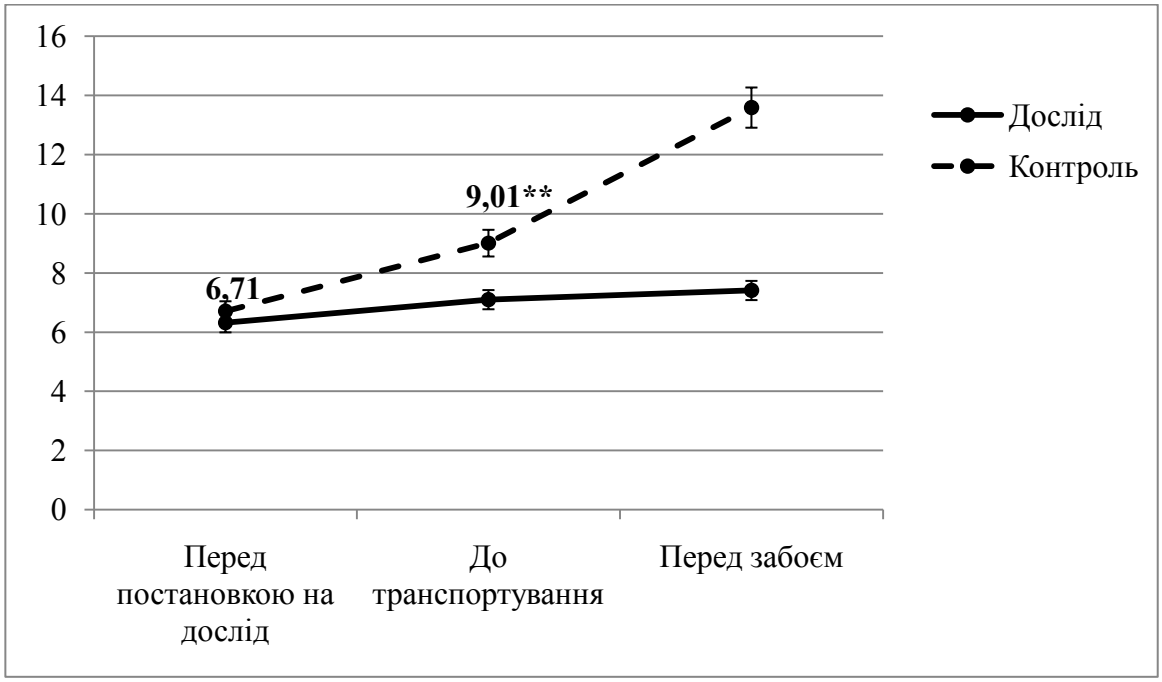
Концентрація АКТГ перед постановкою на дослід (підготовчий період) була вірогідно меншою від рівня гормону до транспортування — 6,71 та 9,01 пг/мл ($P<0,01$) відповідно. Оскільки кров для досліджень брали в один і той же час, то можна припустити, що бугайці контрольної групи зазнавали більшого стресу перед забоєм порівняно з бугайцями дослідної групи, яким до корму вносили препарат селезінки (Рис. 3.57).

Таблиця 3.33

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

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

Примітка. Вірогідні різниці: * — P<0,05; (стосовно контролю)



Примітка. Статистично вірогідні різниці: ** — P<0,01 (стосовно підготовчого періоду та перед транспортуванням).

Рис. 3.57. Рівень АКТГ у крові бугайців в підготовчий та передзабійний періоди, пг/мл (M±m, n=5)

Відомо, що неспецифічна резистентність тварин забезпечується комплексом показників, серед яких є морфологічний склад крові, котрий

характеризує загальний стан організму, а лейкоцити зокрема відіграють важливу роль в захисних і відновлювальних процесах організму. Одним із показників неспецифічної резистентності, які характеризують систему клітинного імунітету тварин, є фагоцитарна активність нейрофілів 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 [145].

Аналізуючи показники неспецифічної резистентності організму бугайців, можна відмітити зростання фагоцитарної активності крові у тварин дослідної групи порівняно з контролем (табл. 3.34) 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.

Таблиця 3.34

Показники фагоцитозу нейтрофілів крові бугайців

Група тварин	Показник		
	Фагоцитарна активність крові, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Перед постановкою на дослід			
Контрольна	49,8 ± 3,96	8,06 ± 0,85	4,04 ± 0,71
Дослідна	49,2 ± 3,7	8,13 ± 0,88	4,02 ± 0,66
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*

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

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 препарат селезінки, порівняно з контролем. Наші дані узгоджуються з дослідженнями авторів [472], які використовували мікроелементний премікс, що містить Селен, Йод, Цинк, Кобальт. Цей комплекс впливав на 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 [473], де за умов хірургічного втручання спостерігали зниження неспецифічної резистентності організму.

Таким чином, отримані результати дослідження вказують на те, що біологічно активні речовини і, зокрема поліаміни, ліпіди, амінокислоти (аргінін) препарату селезінки, за умови його внесення до корму бугайців дослідної групи, підвищують резистентність організму, нівелюють вплив стресу на тварин перед забоєм.

Аналізуючи показники імунного статусу організму бугайців перед постановкою на дослід (підготовчий період) (табл. 3.35), було встановлено вірогідно меншу кількість Т-активних лімфоцитів (ТА-РУЛ) — на 10 % (P < 0,05) та недиференційованих або «нульових» Т-загальних лімфоцитів (ТЕ-РУЛ) — на 5 % (P < 0,01) у бугайців дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи. Усі інші показники специфічного імунітету бугайців у цей період були практично на однаковому рівні та в межах фізіологічної норми.

Таблиця 3.35

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові бугайців перед постановкою на дослід, % (M±m; n=5)

Показник	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), %	53,0±1,9	50,4±1,3
недиференційовані (0)	47,0±1,9**	49,6±1,3
низькоавідні (3–5)	33,6±0,5	33,4±1,3
середньоавідні (6–10)	11,8±0,8	11,0±1,0
високоавідні М	7,6±1,3	6,0±3,0
Т-активні (ТА-РУЛ), %	28,2±1,3*	31,4±0,6
недиференційовані (0)	71,8±1,3	68,6±0,5
низькоавідні (3–5)	15,6±0,6	16,6±0,6
середньоавідні (6–10)	9,0±0,7	9,6±1,5
високоавідні М	3,6±1,3	5,2±1,6
Т-хелпери (Th), %	31,6±1,3	30,6±1,3
недиференційовані (0)	68,4±7,2	69,4±1,3
низькоавідні (3–5)	21,0±1,0	21,4±1,3
середньоавідні (6–10)	6,0±0,7	5,0±1,2
високоавідні М	4,6±0,5	4,2±0,8
Т-супресори (Ts), %	21,2±2,4	19,8±1,8
В-лімфоцити, %	40,8±1,3	41,2±2,0
недиференційовані (0)	59,2±1,3	58,8±2,0
низькоавідні (3–5)	31,2±0,8	31,0±1,9
середньоавідні (6–10)	5,4±1,1	7,2±2,0
високоавідні М	4,2±0,8	3,0±1,2

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Як видно з даних, наведених у (табл. 3.36), загальна кількість Т-хелперів у крові бугайців перед транспортуванням перебувала на однаковому рівні, як у дослідній, так і контрольній групах. До транспортування встановлено вірогідно більшу кількість Т-хелперів з низькою щільністю рецепторів, тобто низькоавідних (3–5) Т-хелперних лімфоцитів на 18 % (P < 0,05) та меншу кількість з середньою щільністю поверхневих рецепторів, тобто середньоавідних (6–10) — на 26 % (P < 0,01) у крові бугайців дослідної групи порівняно з контролем.

Таблиця 3.36

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові бугайців перед транспортуванням, % (M±m; n=5)

Показник	Група тварин	
	І Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), %	48,2±4,3	46,4±4,5
недиференційовані (0)	51,8±4,3	53,6±4,5
низькоавідні (3–5)	25,0±10,2	24,2±8,1
середньоавідні (6–10)	12,8±1,1	11,4±3,1
високоавідні М	10,4±6,3	10,8±2,6
Т-активні (ТА-РУЛ), %	29,8±3,9	28,2±2,7
недиференційовані (0)	70,2±3,9	71,8±2,7
низькоавідні (3–5)	16,4±1,8	14,2±0,5
середньоавідні (6–10)	7,0±0,7	8,4±3,2
високоавідні М	6,4±2,6	5,6±1,3
Т-хелпери (Th), %	28,2±0,8	28,0±1,9
недиференційовані (0)	71,2±0,8	72,0±1,9
низькоавідні (3–5)	22,6±0,9*	19,2±0,5
середньоавідні (6–10)	5,0±1,2**	6,8±0,8
високоавідні М	1,2±0,5	2,0±1,0
Т-супресори (Ts), %	20,0±1,9*	18,4±2,1
В-лімфоцити, %	42,6±2,9	41,4±1,5
недиференційовані (0)	57,4±2,9	58,6±1,5
низькоавідні (3–5)	28,2±2,3	26,4±1,3
середньоавідні (6–10)	9,4±2,8	11,0±4,6
високоавідні М	5,0±2,1	4,0±2,0

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Також встановлено більшу відносну кількість Т-супресорів на 9 % (P < 0,05) у крові бугайців, які отримували препарат селезінки.

Щодо кількості Т- і В-лімфоцитів та їх функціональної активності у крові бугайців після транспортування та безпосередньо перед забоєм (табл. 3.37), то всі досліджувані параметри Т- і В-клітинного імунітету були в межах фізіологічної норми.

Таблиця 3.37

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові бугайців після транспортування перед забоєм, % (M±m; n=5)

Показник	Група тварин	
	І Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), %	50,4±1,2*	47,2±1,8
недиференційовані (0)	49,6±3,2	52,8±3,8
низькоавідні (3–5)	27,6±1,6*	24,8±1,1
середньоавідні (6–10)	14,8±1,8	15,2±1,1
високоавідні М	8,0±1,2	7,2±3,8
Т-активні (ТА-РУЛ), %	28,8±3,6	28,0±3,0
недиференційовані (0)	71,2±3,6	72,0±3,0
низькоавідні (3–5)	16,8±1,5	17,6±1,3
середньоавідні (6–10)	7,8±1,8	6,2±1,1
високоавідні М	4,2±2,3	4,2±1,1
Т-хелпери (Th), %	31,8±0,7*	29,0±0,9
недиференційовані (0)	68,2±3,5	71,0±3,7
низькоавідні (3–5)	19,2±3,4	18,8±2,0
середньоавідні (6–10)	7,8±2,7	6,6±2,1
високоавідні М	4,8±1,8	3,6±0,5
Т-супресори (Ts), %	18,6±6,1	18,2±7,5
В-лімфоцити, %	42,4±1,5	42,2±2,2
недиференційовані (0)	57,6±1,5	57,8±2,2
низькоавідні (3–5)	30,8±1,1	32,0±2,0
середньоавідні (6–10)	9,2±0,4	8,4±3,1
високоавідні М	2,4±0,5	1,8±0,8

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Встановлено більшу кількість ТЕ-РУЛ на 7 % (P < 0,05) та Т-хелперів — на 11 % (P < 0,05) відносно загальної кількості Т-лімфоцитів у бугайців дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи. Кількість Т-загальних низькоавідних (3–5) клітин теж була більша на — 10 % (P < 0,05) у тварин, яким до корму вносили препарат селезінки. Отримані дані можуть вказувати на стимулювальний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки і, зокрема поліамінів, на кількість та функціональну активність окремих показників специфічного імунітету.

Зниження у крові кількості Т-лімфоцитів хелперів у контрольній групі тварин перед транспортуванням може вказувати на зменшення всіх ланок клітинного імунітету і тим самим можна стверджувати про позитивний вплив препарату селезінки на специфічний імунітет бугайців дослідної групи.

Застосування препарату селезінки нівелює передзабійний стрес: після транспортування, перед забоєм у бугайців дослідної групи вміст АКТГ зменшився майже вдвічі (P<0,05), рівень кортизолу знизився на 31 % (P<0,05), альдостерону — на 34 % (P<0,05) порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 3.33).

Застосування біологічно активних речовин препарату 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<0,01) та фагоцитарне число — на 10 % (P<0,05) у бугайців за введення до раціону препарату селезінки.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Grabovskyj S. Influence of certain periods of ontogenesis on productive qualities of young cattle / S. Grabovskyj, O. Grabovska // I-st Polish-Ukrainian Scientific Conference ANIMAL SCIENCES IN THE XXI CENTURY. — Krakow. — 2001. — P. 59–64.

2. Грабовський С. С. Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету крові бугайців за умов стресу / С. С. Грабовський // Вісник проблем біології і медицини. — 2015. — Вип. 2. — Том 4(121). — С. 56–60.

3. 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. — Том 17. — № 2. — С. 43–49.

Вміст окремих класів ліпідів у крові бугайців за умов стресу та його корекції

За стресових ситуацій підвищується функціональна активність мозкового шару надниркових залоз з підвищенням синтезу та збільшенням концентрації у крові стероїдних гормонів та пригнічення специфічної імунної системи; а також супресія чинників неспецифічної резистентності і накопичення в організмі високоактивних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, що пригнічує клітинний і гуморальний імунітет [474].

У літературі є дослідження, пов'язані з вивченням ліпідного обміну за дії різноманітних чинників: в залежності від сезону [475], в онтогенезі, а також у корів за різного фізіологічного стану [476,477], і у ранньому постнатальному періоді онтогенезу [478].

Для нівелювання стресу і дослідження впливу на обмін ліпідів деякі дослідники використовували рослинні екстракти [479]. Про стан організму домашніх тварин за впливу передзабійного стресу у літературі обмаль повідомлень.

Передзабійний стресовий стан у домашніх тварин зумовлює не тільки економічні втрати, але й погіршення якості продукції [424,425].

Серед відомих біологічно активних речовин, які використовуються на сьогоднішній день у тваринництві є поверхнево активні речовини (ПАР) — дві великі групи сполук: біологічного походження та синтетичні. Перші утворюються в живих організмах, беруть участь у різних функціях клітини та організму в цілому. Це ліпіди, жирні кислоти та їх солі, біологічно активні речовини (простагландини, стероїдні гормони, цереброзиди). Ендогенні біологічні ПАР — ПАР травного каналу (жовч та її компоненти), шкіри, слизових оболонок, сурфактант легень. Інші — синтетичні ПАР (детергенти) — група хімічних сполук, здатних вибірково адсорбуватися на межах розподілу фаз і знижувати поверхневий натяг рідин.

При вивченні динаміки синтезу ліпідів при використанні як попередника [C_{14}]-ацетату встановлено, що поверхнево активні речовини ПАР посилюють

синтез ліпідів у печінці. Підвищений вміст ПАР та їх метаболітів в організмі тварин порушує обмін ліпідів [480]. Деякі автори дотримуються думки, що незалежно від способу дії ПАР існують загальні схеми їх впливу на обмін речовин в організмі: підвищення концентрації холестеролу в плазмі крові, вплив на процеси транс амінування, зміни активності холін естерази крові [481].

Враховуючи літературні дані про вплив біологічно активних речовин на різні ланки обміну ліпідів метою наших досліджень було встановлення вмісту окремих класів ліпідів та фракцій фосфоліпідів, у плазмі крові бугайців за умов передзабійного стресу при використанні біологічно активних речовин природного походження.

У результаті проведених досліджень встановлено, що перед забоєм у плазмі крові бугайців усіх експериментальних груп як до (табл. 3.38), так і після транспортування (табл. 3.40) серед ліпідів переважали фосфоліпіди, а значно менше холестеролу, моно-, ди- і тригліцеролів.

До транспортування (табл. 3.38) кількість фосфоліпідів вірогідно зменшилась на 10 % (P<0,01), натомість рівень моно- і дигліцеролів значно підвищився (P<0,05) у плазмі крові бугайців дослідної групи, яким додатково до основного раціону додавали препарат селезінки в порівнянні з контрольною групою тварин.

Таблиця 3.38

Вміст ліпідів у плазмі крові бугайців до транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Підготовчий період	Група тварин	
		Дослідна	Контрольна
Фосфоліпіди	83,2±9,85	62,6±4,07**	69,6±1,43
Холестерол	0,6±0,37	0,7±0,39	1,1±0,11
Моно- і диацилгліцероли	1,6±0,68	3,7±1,16*	0,3±0,22
НЕЖК	9,2±4,56	15,3±4,44	12,2±2,87
Триацилгліцероли	1,7±0,66	1,8±0,52	1,9±0,18
Е. холестерол	10,6±1,21	15,8±3,63	17,5±1,69

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Зменшення вмісту фосфоліпідів, можливо, зумовлене менш інтенсивним використанням не тільки екзогенних, а й ендогенних жирних кислот внаслідок зниженого ліполізу у бугайців.

Аналізуючи отримані дані вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у плазмі крові бугайців до (табл. 3.39) та після (табл. 3.41) транспортування і перед забоєм при додаванні до раціону біологічно активних речовин препарату селезінки виявлено, що у всіх тварин досліджуваних груп переважають фосфатидилсерин, сфінгоміелін та фосфатидна кислота, натомість найменшу кількість встановлено фосфатидилінозитолу та кардіоліпіну.

Таблиця 3.39

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців до транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Підготовчий період	Група тварин	
		Дослідна	Контрольна
Лізолецитин	6,5±3,04	3,9±2,46	3,6±0,86
Сфінгоміелін	23,8±4,67	18,1±3,23	19,7±2,33
Фосфатидилсерин	44,5±11,62	52,6±6,40	57,4±3,99
Фосфатидилхолін	3,9±1,93	3,1±1,31	2,9±2,69
Фосфатидилінозитол	0,8±0,47	0,6±0,07	0,5±0,06
Фосфатидилетаноламін	4,3±3,79	0,4±0,27	0,7±0,23
Кардіоліпін	1,1±1,13	1,4±0,77	1,5±1,09
Фосфатидна кислота	14,9±1,94	21,4±12,52	11,8±5,23

Як видно із даних (Таблиця 3.36), вірогідних змін та суттєвих відмінностей у співвідношення окремих підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців до транспортування не спостерігалося.

Дещо інші результати отримані у вмісті окремих класів ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців після транспортування (Таблиця 3.37, Таблиця 3.38). Щодо нейтральних ліпідів, то виявлене збільшення вмісту НЕЖК у плазмі крові бугайців після транспортування ($P < 0,01$), можна пояснити інтенсивнішим розщепленням у них тригліцеролів. Вміст триацилгліцеролів практично не зазнавав змін у плазмі крові тварин досліджуваних груп.

Таблиця 3.40

Вміст ліпідів у плазмі крові бугайців після транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Фосфоліпіди	58,2±3,23	65,1±3,96
Холестерол	5,5±2,57	8,1±2,67
Моно- і диацилгліцероли	2,5±0,24*	5,8±1,18
НЕЖК	18,5±3,48**	8,7±3,33
Триацилгліцероли	1,8±1,02	1,0±0,52
Ефіри холестеролу	13,6±3,44	11,4±1,03

Примітка: у цій та наступних таблицях статистично вірогідні різниці:

* — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Вміст моно- і диацилгліцеролів зменшився удвічі (P<0,05) у плазмі крові бугайців дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, порівняно з контролем.

Аналізуючи дані у (табл. 3.41), слід відмітити, що після транспортування рівень кардіоліпіну у плазмі крові бугайців дослідної групи знизився майже у чотири рази (P < 0,05), а фосфатидилсерину — на 13 % (P < 0,05) порівняно з контролем, тоді як сфінгоміеліну — підвищився майже на 30 % (P<0,01) порівняно з бугайцями контрольної групи.

Таблиця 3.41

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців після транспортування, % (M±m, n=5)

Показник	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Лізолецитин	2,9±0,37	2,6±0,474
Сфінгоміелін	22,2±1,18**	16,4±2,28
Фосфатидилсерин	50,7±0,59*	58,3±2,26
Фосфатидилхолін	2,9±1,12	0,3±0,22
Фосфатидилінозитол	0,6±0,34	0,8±0,24
Фосфатидилетаноламін	2,7±0,87	1,0±0,99
Кардіоліпін	1,0±0,66*	3,78±0,71
Фосфатидна кислота	16,8±1,19	16,4±2,89

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Таким чином, виявлено вплив антистресорів та імуностимуляторів, одержаних з препарату селезінки із застосуванням ультразвуку, при передзабійному стресі на вміст окремих класів ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців. На завершальній стадії відгодівлі бугайців необхідно застосовувати біологічно активні речовини природного походження, які сприятимуть зменшенню негативного впливу передзабійного стресу.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

1. 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». — 2015. — Вип. 24. — № 1153. — 144–149.

Дослідження впливу стресу та препарату селезінки на концентрацію протеїнових фракцій плазми крові бугайців

Одним з показників, що відображають інтенсивність метаболізму і стан неспецифічної резистентності організму, може бути біохімічний склад сироватки крові, що має важливе діагностичне значення [482]. У літературі є дослідження, присвячені вивченню різних видів стресу у тварин, і зокрема при вирощуванні великої рогатої худоби [483,484].

Кількість протеїнових фракцій упродовж дослідження в бугайців усіх груп була практично однаковою і знаходилася в межах фізіологічної норми. Перед постановкою на дослід (підготовчий період) відмінностей у показниках протеїнових фракцій між дослідною та контрольною групами не спостерігалось. Вірогідних різниць у співвідношеннях протеїнових фракцій крові бугайців до транспортування теж не відмічалось (табл. 3.42).

Таблиця 3.42

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові бугайців до транспортування, (%; M±m; n=5)

Фракція протеїнів	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Альбуміни	31,75±6,635	30,0±3,122
Глобуліни: α	11,98±5,648	13,14±1,971
β	16,40±2,864	37,62±5,696
γ	18,14±2,220	36,73±3,809

Після транспортування і власне перед самим забоєм (табл. 3.43) у тварин дослідної групи рівень γ-глобулінів був вищий на 27 % (P<0,01).

Таблиця 3.43

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові бугайців після транспортуванням, перед забоєм, (%; M±m; n=5)

Фракції протеїнів	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Альбуміни	37,14±5,804	38,62±3,494
Глобуліни: α	10,85±1,959	10,76±1,233
β	20,08±3,252	20,06±1,822
γ	41,93±8,398**	30,6±3,041

Примітка. Статистично вірогідні різниці: ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Таким чином, аналіз протеїнового спектру плазми крові бугайців дозволяє зробити висновок, що на тлі застосування ІМД із препарату селезінки відбувається підвищення концентрації глобулиновых фракцій, переважно γ-глобулинової. Цей ефект вказує на підвищення активності гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму бугайців перед забоєм.

3.8 Дослідження впливу біологічно активних речовин препарату селезінки на біохімічний та імунологічний профіль курчат-бройлерів за умов стресу перед забоєм

Вплив препарату селезінки на показники клітинного імунітету та рівень кортизолу у крові курчат-бройлерів

У літературі недостатньо висвітлені питання про вплив передзабійного стресу тварин на окремі показники імунітету. Слід пам'ятати, що перед забоєм домашніх тварин не можна використовувати препарати, які б мали негативний вплив на організм людини після споживання продукції від цих тварин. Саме тому у дослідженнях ми використали біологічно активні речовини природного походження — препарат селезінки. Метою роботи було встановити чи підвищується резистентність та імунітет у курчат-бройлерів при одночасному зменшенні передзабійного стресу за використання препарату селезінки.

Аналізуючи отримані результати досліджень окремих показників імунного статусу організму курчат-бройлерів, не встановлено вірогідних різниць у кількості загальних та активних Т-лімфоцитів у крові курчат-бройлерів обох дослідних груп (табл. 3.44).

Однак, відмічено зменшення кількості активних Т-лімфоцитів з низькою щільністю рецепторів, тобто низькоавідних (малодиференційованих) (3–5) на 22 % (P<0,01) та з високою щільністю рецепторів, тобто високоавідних (М) — на 11 % (P<0,05) при збільшенні середньоавідних (6–10) — на 15 % (P<0,05).

При цьому слід відмітити зростання відносної кількості Т-хелперних клітин (Th) за рахунок середньоавідних (6–10) на — 18 % (P<0,05) та високоавідних (М) — на 35 % (P<0,05). Спостерігали незначне зменшення відсотка Т-супресорів (Ts) у крові курчат-бройлерів дослідної групи на 3 % (P<0,05) і тенденцію до збільшення кількісті В-лімфоцитів за рахунок низькоавідних та середньоавідних клітин. З цих даних випливає, що внесення препарату селезінки до корму курчатам-бройлерам дослідних груп має вплив на функціональні властивості Т-лімфоцитів крові, зокрема на рецепторний апарат

клітин, про що повідомляють автори [485,486], котрі при ін'єкції АКТГ спостерігали істотне зменшення CD3, CD4 та CD8 лімфоцитів у крові.

Таблиця 3.44

Кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові курчат-бройлерів, % (M±m; n=5)

Показник	Група курчат-бройлерів		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
Т-загальні (ТЕ-РУЛ), 0, у т. ч.	76,4±0,52	75,2±1,32	76,2±1,35
низькоавідні (3–5)	6,0±2,71	5,2±1,13	4,6±1,53
середньоавідні (6–10)	11,4±0,63	12,8±0,46	14,2±1,81
високоавідні М	6,2±1,66	6,8±0,81	5,0±1,02
%	23,6±0,52	24,8±1,36	23,8±1,39
Т-активні (ТА-РУЛ), у т. ч. 0	52,8±1,19	52,0±4,08	49,8±3,38
низькоавідні (3–5)	11,4±0,51**	14,0±2,52	14,6±2,71
середньоавідні (6–10)	27,2±1,13*	23,8±2,44	23,0±2,33
високоавідні М	8,6±0,51*	10,2±3,46	10,6±0,91
Т-хелпери (Th), 0	65,4±0,53	66,6±2,18	66,8±2,38
низькоавідні (3–5)	7,6±2,22	8,0±1,09	10,4±1,81
середньоавідні (6–10)	18,2±0,45*	14,6±2,13	15,0±1,02
високоавідні М	9,8±1,64*	10,6±2,48	6,4±0,55
%	34,6±0,61	33,2±1,91	33,2±2,35
Т-супресори (Ts), %	12,6±0,51**	14,8±4,08	15,0±1,91
В-лімфоцити, у т. ч. 0	46,4±0,62**	47,8±2,81	48,0±1,48
низькоавідні (3–5)	21,0±2,73	20,2±3,05	20,6±1,53
середньоавідні (6–10)	23,8±1,61	23,6±2,52	22,4±1,71
високоавідні М	8,8±1,62	8,4±1,18	9,0±1,45

Примітка: статистично вірогідні різниці:** — P<0,01 (стосовно контролю)

Стимуляція птиці мелатоніном або кормовою добавкою на основі вітамінів спричиняє проліферацію лімфоцитів у курчат [487,485, 488,489], що спостерігалося і в наших дослідженням за використання препарату селезінки.

Отримані дані дещо відрізняються від повідомлень [160], де випоювання курчатам-бройлерам настою з евкаліпту та з додаванням вітаміну С стимулювало активність Т-В-клітинної ланки імунітету.

Виявлена більша кількість Т- і В-лімфоцитів та вища функціональна активність імунокомпетентних клітин за рахунок перерозподілу авідності рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів, а саме: збільшення кількості лімфоцитів із низькою і середньою щільністю рецепторів і зменшення недиференційованих у функціональному відношенні клітин, у крові гусенят та індичат, яким до раціону вводили вітамін Е. Токоферол мав стимулювальний вплив на бластогенез Т-лімфоцитів крові індичат і гусенят [346].

У модельному експерименті на щурах ми вивчали вплив передзабійного стресу на клітинний імунітет. У крові щурів, які отримували препарат селезінки, була більша кількість Т-лімфоцитів активних, Т-лімфоцитів хелперів «нульових» та нижчий рівень кортизолу, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм. Отже, введення щурам ІМД природного походження мало стимулювальний вплив на функціональну активність Т- і В-клітинної ланок імунітету [350].

Наукові дослідження у птахівництві спрямовані на з’ясування впливу довкілля на імунну систему організму, екологічних стресорів, таких як температура, якість повітря та інфекційні чинники [490]. Основою ж захисних функцій організму є його реактивність — здатність відповідати на різні чинники, що обумовлено цілим комплексом неспецифічних і специфічних реакцій. Первинний захист організму від сторонніх чинників, здатних порушити гомеостаз, забезпечуються механізмами неспецифічної резистентності, які можуть бути клітинними і гуморальними. Серед клітинних чинників захисту велике значення мають мікро- і макрофаги. У птахів фагоцитарну активність мають псевдоеозинофіли, еозинофіли, моноцити і тромбоцити.

Серед стресових чинників розглядаються температурний вплив [491], але не враховується стрес курей-бройлерів перед забоєм та його вплив на показники неспецифічного імунітету.

У наших дослідженнях встановлено підвищення фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу в крові курчат-бройлерів І дослідної групи

на 11 %, та на 19 % (P<0,05) відповідно. Рівень фагоцитарного числа зріс у крові курчат-бройлерів обох дослідних груп: на 26 % (P<0,05) у I та на 15 % (P<0,01) в II дослідній групі стосовно до контрольної групи (табл. 3.45).

Таблиця 3.45

Показники фагоцитозу нейтрофілів крові курчат-бройлерів перед забоєм, (M±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**

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Нейрони пришлункового ядра гіпоталамуса, які виробляють КРГ — що стимулює секрецію АКТГ у гіпофізі і тим самим активізується гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову систему. Кінцевим продуктом активації цієї системи є глюкокортикоїди, які виділяються залозами коркового шару наднирників під впливом АКТГ [492].

Аналіз біохімічних показників крові курчат-бройлерів, що перебували за умов стресу перед забоєм, показав негативний вплив його дії на адаптивні механізми організму. У крові курчат-бройлерів контрольної групи збільшилась концентрація АКТГ майже вдвічі (P < 0,05) порівняно з курчатами, які отримували препарат селезінки з використанням ультразвуку (Рис. 3.58).

Дослідження на курчата-бройлерах вказують на те, що біологічно активні речовини, і зокрема поліаміни, ліпіди та аргінін з препарату селезінки, як ІМС та антистресори, впливають на показники специфічного імунітету — Т- і В-клітинного імунітету в крові курчат-бройлерів перед їх забоєм, підвищують резистентність організму, корегують та нівелюють вплив стресу перед забоєм тварин.

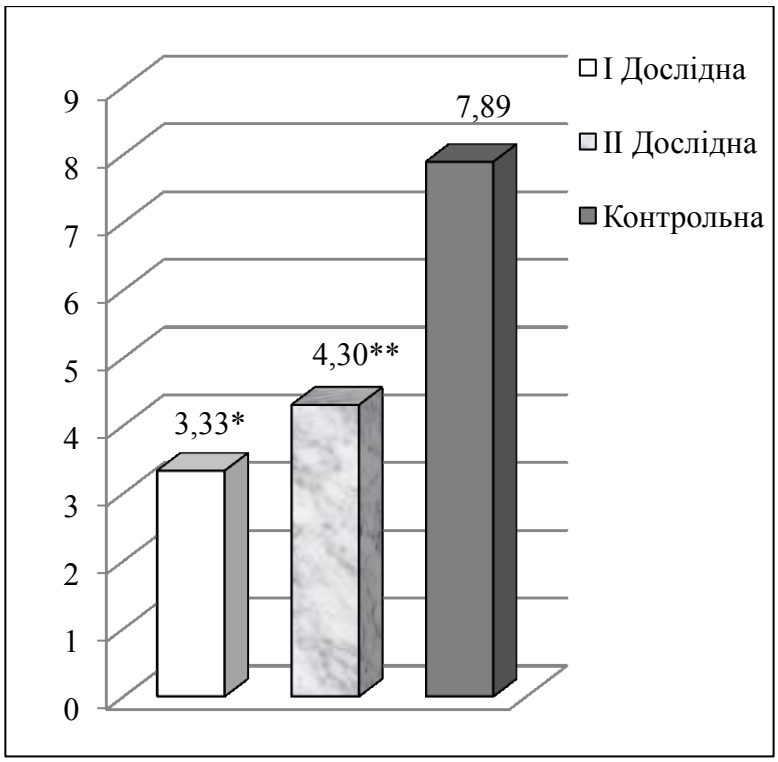


Рис. 3.58. Рівень АКТГ у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм, пг/мл

У плазмі крові курчат-бройлерів, які з кормом отримували препарат селезінки, отриманий із застосуванням ультразвуку (I дослідна група), встановлено вірогідно нижчий рівень АКТГ що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. 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. Біологія, медицина. — 2015. Том 6(1). — С. 36–39. Doi:10.15421/021507

2. Патент України на корисну модель (19) UA. — № 98752; (51) МПК (2015.01): A01K 67/02 (2006.01), A61D 7/00, A61K 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. — (21) Заявка u 2014 11148; (22) 13.10.2014; (24) 12.05.2015; (46) 12.05.2015, Бюл. № 9 — 4 с.

Активність ензимів та гематологічна характеристика курчат-бройлерів за умов стресу і його корекції

Сучасне виробництво продукції птахівництва супроводжується технологічними стресами, які, як відомо, знижують резистентність організму птиці, суттєво впливають на її здоров'я, збереженість і продуктивність.

Необхідність отримання екологічно чистої продукції, наштовхує виробників кормових сумішей широко застосовувати натуральні добавки. Широке застосування біологічно активних препаратів тваринного і рослинного походження відкриває нові перспективи для збереження здоров'я курчат, максимального використання їх генетичного потенціалу та отримання екологічно чистої і повноцінної продукції.

Проведення біохімічного моніторингу крові за різних патологій та стресів неможливе без використання в діагностиці ензимів, зокрема визначення активності АсАТ і АлАТ.

Відновлений глутатіон (GSH), присутній у центральній нервовій системі, вивільняється у великих кількостях як і окисненний глутатіон (GSSG), при деполяризації астроцитів [493, 494]. В останні роки появляються 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 [495]. Глутатіон забезпечує захист клітин від багатьох видів стресу. М'який стрес зазвичай збільшує рівень глутатіону, а тривалий стрес призводить до зниження його концентрації у ряді тканин [496].

Інтоксикація тетрахлорметаном та радіоактивне опромінення викликало значне підвищення вмісту глутатіону [158, 497]. Деякими авторами встановлено вищий рівень глутатіону у пацієнтів з вираженою подагрою та у субсиндромальних хворих [498]. Концентрація глутатіону може служити біомаркером окиснювально стресу [499].

Мета роботи — дослідження змін активності АсАТ і АлАТ у плазмі крові курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу та його корекції біологічно активними речовинами природного походження.

Активність амінотрансфераз в плазмі крові курчат-бройлерів дослідних груп перед забоєм знизилась: активність АсАТ на 29 % — І дослідна група і на 19 % — ІІ дослідна група (Р < 0,05); активність АлАТ, відповідно, на 44 % (Р < 0,05) і 24 % (Р < 0,01) у порівнянні з контролем (табл. 3.46).

Нами виявлено вірогідно вищий рівень глутатіону у крові курчат-бройлерів контрольної групи, що може бути проявом окиснювального стресу або гальмуванням транспорту амінокислот у клітини тканин організму за рахунок зниження активності γ-глутамілового циклу.

Таблиця 3.46

Активність АсАТ, АлАТ та гематологічних показників у крові курчат-бройлерів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Група курчат-бройлерів		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
АлАТ, мкмоль/(год/х/мл)	0,041 ± 0,01*	0,056 ± 0,01**	0,073 ± 0,01
АсАТ, мкмоль/(год/х/мл)	0,505 ± 0,08*	0,579 ± 0,05*	0,711 ± 0,03
Гемоглобін, г/л	111,95 ± 1,85*	101,318 ± 2,66	99,322 ± 3,48
Еритроцити, Т/л, 10^{12}/л, млн,/мкл	5,648 ± 0,11	5,166 ± 0,11	4,476 ± 1,34
Глутатіон нмоль/мг протеїну	24,002±0,81*	27,618 ± 2,9	28,542±1,25

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — Р<0,05; ** — Р<0,01 (стосовно контролю)

Встановлено вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов передзабійного стресу на активність АлАТ і АсАТ в плазмі крові курчат-бройлерів. Передзабійний стрес підвищує активність амінотрансферез. Застосування екстракту селезінки в якості антистресора знижує активність амінотрансферез і в плазмі крові курчат-бройлерів, а значить нівелює вплив стресу перед забоєм і покращує якість продукції від цієї птиці.

У крові курчат-бройлерів I дослідної групи відмічено нижчий рівень глутатіону порівняно з контролем.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

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

Дослідження концентрації гормонів у крові курчат-бройлерів за умов стресу та його корекції

Змінам в організмі птиці на метаболічму рівні за умов технологічного процесу її вирощування присвячено багато робіт [500,501,502,503,504], але в дослідженнях недостатньо уваги приділяється стресу перед забоєм.

Важливу роль за умов стресу відіграють глюкокортикоїдні гормони і, зокрема кортизол, рівень якого зростає у плазмі крові лабораторних тварин та птиці за умов передзабійного стресу [350], а також ліпіди і поліаміни [352, 353], про що було повідомлено у наших попередніх дослідженнях. Кортизол у значних кількостях поступає в кров'яне русло і активізує катаболічні процеси. У плазмі крові курчат-бройлерів контрольної групи збільшилась концентрація кортизолу на 10 % ($P < 0,05$) порівняно з курчатами дослідної групи, які отримували препарат селезінки з використанням ультразвуку (табл. 3.47).

У наших дослідженнях відмічено зменшення концентрації кортизолу у плазмі крові курчат-бройлерів дослідних груп за умов стресу, що збігається з дослідженнями [505]. Деякі автори не відмічали змін у концентрації гормонів [506], а інші вказують, що такі зміни показників потребують годин, а іноді й кілька днів дії стресового чинника [507, 508, 509]. Правдоподібно, що гостра стресова реакція-відповідь може стосуватися фізіологічних або екологічних умов і, зокрема передзабійного стресу.

Таблиця 3.47

Концентрація гормонів в плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Група курчат-бройлерів		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
Кортизол нг/мл	7,88±1,201*	11,04±1,403	12,92±1,404
Інсулін, ммоль/л	20,00 ±3,848*	15,84 ±2,064*	10,43±1,884
ДГЕА, мкг/мл	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
E_2, пг/мл	30,53 ±7,98*	27,53±7,715*	50,77±10,557
E_3, нг/мл	0,32±0,071*	0,26±0,088*	0,48±0,047

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Зменшення концентрації вільного кортизолу в плазмі крові курчат I дослідної групи, яким додатково згодовували препарат селезінки із застосуванням ультразвуку, можливо, пов’язано зі збільшенням вмісту глобулінової фракції, де і інші автори відзначають надзвичайно динамічну роль глобулінів, які регулюють концентрацію глюкокортикоїдів під час гострого стресу [401].

Ми визначали рівень інсуліну у плазмі крові курчат-бройлерів, яким додатково до корму згодовували біологічно активні речовини природного походження.

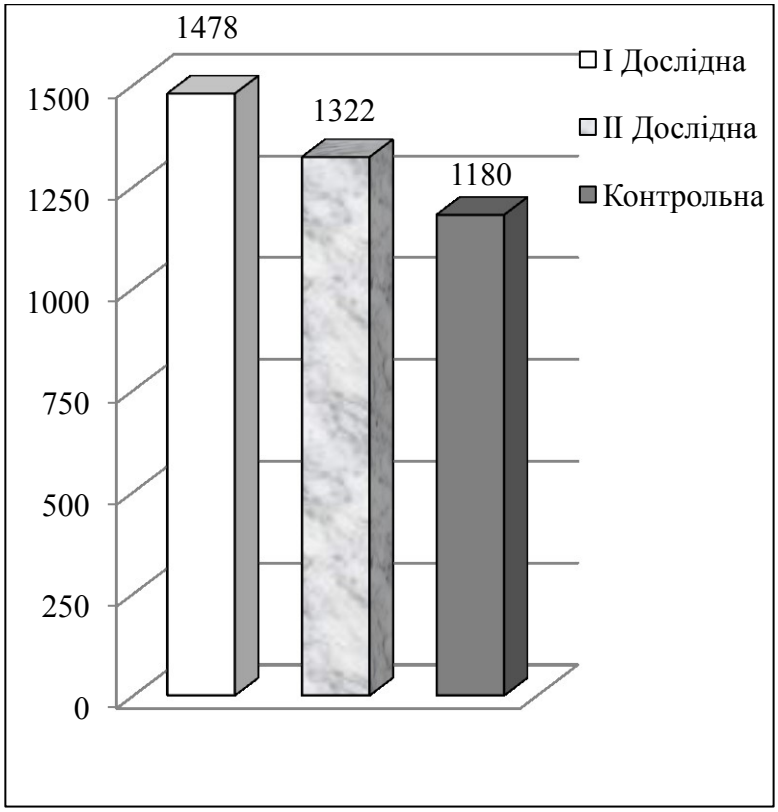
У результаті проведених досліджень виявлено деякі зміни у значеннях концентрації інсуліну порівняно з контролем: у крові курчат-бройлерів контрольної групи концентрація інсуліну знизилась у 2 рази у порівнянні з курчатами I дослідної групи та у 1,5 разу — II дослідної групи (табл. 3.47).

За умов стресу перед забоєм у тварин виникає спонтанна гіперглікемія, яка ініціює секрецію катаболічних гормонів і є наслідком дисонансу між секрецією інсуліну і резистентністю, яка розвивається до нього, периферичних тканин: скелетної мускулатури, гепатоцитів, жирової тканини. Це обумовлено пригніченням секреції інсуліну на фоні адренергічної стимуляції.

За використання препарату селезінки у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм знижується концентрація естрогенів (естрадіолу та естріолу). Необхідно зазначити, що відбулося значне зниження концентрації естрогенів

у I дослідній групі — де курчатам-бройлерам до корму додатково вводили препарат селезінки, оброблений ультразвуком (табл. 3.47).

Маса тіла курчат-бройлерів контрольної групи була меншою порівняно з курчатами дослідних груп (Рис. 3.59).



Примітка: статистична вірогідність різниць: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.59. Маса тіла курчат-бройлерів після забою (M±m, n=5)

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

У плазмі крові курчат-бройлерів, які з кормом отримували препарат селезінки, встановлено вірогідно вищий рівень інсуліну порівняно з курчатами контрольної групи.

Встановлено вплив біологічно активних речовин із препарату селезінки за умов передзабійного стресу на концентрацію естрадіолу E_2 і естріолу E_3 у плазмі крові курчат-бройлерів. Застосування препарату селезінки в якості антистресора знижує концентрацію естрогенів у плазмі крові курчат-бройлерів.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. Грабовский С. С. Активность аминотрансфераз и концентрация эстрогенов в крови цыплят-бройлеров при передубойном стрессе / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — 2014, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 32. — Вып. 2. — С. 3–6.
2. 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). — С. 67–69. — Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/j-pdf/texc_2014_1_11.pdf.

Вміст та склад окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів за умов стресу та його корекції

Відомо, що ліпіди є одними з найважливіших біологічних ефекторів, регуляторами та медіаторами, які беруть участь майже у всіх фізіологічних процесах організму. Вивченню ліпідного обміну у курей присвячено багато робіт. Зокрема розглядається вплив транспортування птиці і температурних чинників на якість м’яса курей-бройлерів: pH м’яса, колір, внутрішній жир [510,511,512]. Протягом останніх десяти років дослідники визначили роль оксидаційного стресу при запальній відповіді, особливо, за ураження підшлункової залози під час гострого панкреатиту. За цих умов вільні радикали Оксигену, (активні форми Оксигену (АФО)), безумовно, відіграють ключову роль, як ініціатори підсилення їх негативної дії. Шкідливий вплив АФО і Нітрогену опосередкований їх прямою дією на біомолекули (ліпіди, протеїни і нуклеїнові кислоти) і активацією прозапальних каскадних сигналів, які згодом призводять до активування імунних реакцій. Оксидаційний і нітрозаційний стреси є не тільки причиною оксидаційного пошкодження при гострому

панкреатиті, але й можуть бути внутрішньоклітинним сигналом запальних процесів [513], особливо, при підвищеному регулюванні експресії генів прозапальних факторів [514]. Відомо, що АФО є запальними медіаторами, які через активують, міграцію і адгезію лейкоцитів, а також збільшують експресію інших медіаторів, зокрема цитокінів, хемокінів і молекул адгезії [515].

Продукти перекисного окиснення ліпідів можуть модулювати сигнальні шляхи, задіяні при стресі, і пошкоджувати ДНК (включаючи мДНК), інгібувати активність міграції клітин кісткового мозку і викликати їх апоптоз [516,517].

З літературних джерел відомо про вплив стресових факторів на курей у пренатальний період [518]. Для того, щоб зменшити вплив стресорів у передзабійний період окремі науковці використовували вітамін С [519], курей [520,521] і людей [522,523], але було встановлено, що вітамінне доповнення не змінювало активність креатинкінази. Пояснювали це тим, що вітамін С не впливає на зняття окиснювального стресу [524].

У літературі є дослідження з впливу генотипу (кросу курей) на концентрації глікогену в грудині курей у передзабійний період [525,526,527], але відносно мало даних про вплив стресу перед забоєм на вміст окремих класів ліпідів: фосфоліпідів, моно-, ди- і тригліцеролів, НЕЖК, холестеролу та його етерифікованої форми у крові курей-бройлерів.

Власне тому, метою нашої роботи було дослідження змін рівня різних фракцій ліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм та при їх корекції біологічно активними речовинами природного походження (препарату селезінки).

При аналізі отриманих даних щодо вмісту окремих фракцій ліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм та при додаванні до раціону біологічно активних речовин виявлено, що в усіх досліджуваних групах серед нейтральних ліпідів переважають фосфоліпіди, найменшу концентрацію встановлено холестеролу і триацилгліцеролів (табл. 3.48). Невисокий вміст вільного холестеролу, можливо, пояснюється значним використанням його у синтезі стероїдних гормонів у курчат-бройлерів усіх досліджуваних груп.

Таблиця 3.48

Вміст та склад нейтральних ліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Групи курчат-бройлерів		
	Контрольна	І Дослідна	ІІ Дослідна
Фосфоліпіди	26,6±3,30	35,5±2,46*	21,9±8,80
Холестерол	7,8±3,99	7,8±0,86	12,1±6,41
Диацилгліцероли	25,4±8,02	16,6±3,96	18,7±5,32
НЕЖК	11,1±4,37	16,0±0,57**	15,6±5,80
Триацилгліцероли	10,2±4,02	9,8±1,90	11,9±5,22
Е. холестерол	18,8±8,05	14,3±4,74	19,9±5,08

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

У курчат-бройлерів І дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, вміст фосфоліпідів був вищий на 39 % (P < 0,05), порівняно з контрольною групою. Значно нижчий рівень фосфоліпідів встановили у курчат другої дослідної групи, яким додатково до раціону вносили препарат селезінки, одержаний без застосування ультразвуку, хоча ці дані невірогідні у порівнянні з контрольною групою. Збільшення вмісту фосфоліпідів, можливо, зумовлене інтенсивнішим використанням не тільки екзогенних, а й ендогенних жирних кислот внаслідок посиленого ліполізу у курчат-бройлерів. Нами відзначено, що вміст дигліцеролів та етерифікованого холестеролу знаходився практично на однаковому рівні у плазмі крові усіх курчат-бройлерів перед забоєм.

Виявлене збільшення вмісту неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) у курчат-бройлерів І дослідної групи (15,96±0,57 %) (P < 0,01), порівняно з контрольною групою (11,13±4,37 %), можна пояснити інтенсивнішим розщепленням у них тригліцеролів. Вміст тригліцеролів практично не зазнавав жодних змін у плазмі крові птиці усіх досліджуваних груп і перебув у межах

величин від 9,76±1,90 % (перша дослідна група), 10,23±4,02 % — контрольна група, до 11,87±5,22 % (друга дослідна група).

Аналізуючи отримані дані, наведені у (табл. 3.49), встановлено, що у плазмі крові курчат-бройлерів усіх досліджуваних груп переважають фосфоліпіди: лізолецитин та фосфатидилетаноламін, тоді як вміст фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитолу і фосфатидної кислоти є меншим.

Рівень лізолецитину у плазмі крові курчат-бройлерів першої дослідної групи (24,78±3,30; $P < 0,05$), яким до основного раціону додавали препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, перед забоєм підвищився майже у три рази порівняно з контрольною групою (8,24±3,26).

Виявлене вірогідне зниження вмісту фосфатидилхоліну у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм із використанням препарату селезінки, одержаного із застосуванням ультразвуку (перша дослідна група (7,16±1,91; $P < 0,05$)) вказує на активацію фосфоліпази Д — ензиму, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти [415,416]. Встановлене зменшення вмісту фосфатидилхоліну може бути зумовлено також пригніченням його реацилювання.

На відміну від описаних вище фракцій фосфоліпідів, рівень фосфатидилінозитолу знижувався майже вдвічі у плазмі крові курчат-бройлерів як першої (5,73±2,17; $P < 0,01$), так і другої дослідної (5,44±2,56; $P < 0,01$) груп порівняно з контрольною групою (10,19±3,68) (табл. 3.49). Відомо, що фосфоінозитоли є залученими у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих месенджерів, як диацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота [417]. Виходячи з вищезазначеного, виявлені нами зміни вмісту фосфатидилінозитолу можна пояснити інгібуванням активності фосфоліпази С.

Встановлене нами збільшення вмісту фосфатидилетаноламіну на 4,65 % ($P < 0,05$) у плазмі крові курчат-бройлерів першої дослідної групи та на 9,08 % ($P < 0,01$) — другої дослідної групи може бути пов’язане з тим, що цей фосфоліпід менш залучений до різних фізіологічних процесів: реакції

дезінтоксикації, енергетичного обміну, активації ліпази та регуляції активності різних трансмембранних протеїнів, що суперечить з даними літератури [528].

Зміна вмісту, а саме: зменшення у три рази (з 26,34±9,72 — у контрольної групи до 7,98±2,16 (P < 0,05) — у плазмі крові курчат-бройлерів першої дослідної групи) [418].

Таблиця 3.49

Співвідношення підкласів фосфоліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Показник	Група курчат-бройлерів		
	Контрольна	I Дослідна	II Дослідна
Лізолецитин	8,2±3,26	24,8±3,30*	18,4±10,94
Сфінгоміелін	11,6±6,04	15,4±1,28	9,5±5,18
Фосфатидил серин	11,0±11,00	7,2±2,55	6,2±4,22
Фосфатидил холін	10,5±1,08	7,2±1,91*	9,1±6,58
Фосфатидил інозитол	10,2±3,68	5,7±2,17**	5,4±2,56**
Фосфатидил етаноламін	8,9±0,57	13,6±1,13*	18,0±6,74**
Кардіоліпін	13,2±10,66	18,2±1,06	18,0±15,95
Фосфатидна кислота	26,3±9,72	8,0±2,16*	15,4±8,77

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Спостерігається тенденція до зменшення вмісту сфінгоміеліну у плазмі крові птиці контрольної групи. Це може бути пов’язане з використанням сфінголіпідів у біосинтезі кортизолу, що узгоджується з дослідженнями [529].

Проведені дослідження показали, що відносний вміст окремих підкласів фосфоліпідів дещо відрізняється залежно від фізіологічного стану (передзабійний стрес) курчат-бройлерів і від того, які саме біологічно активні речовини використовували у передзабійний період: препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (перша дослідна група) чи без використання ультразвуку (друга дослідна група).

Виявлено вплив біологічно активних речовин, одержаних з екстракту селезінки із застосуванням чи без використання ультразвуку, при

передзабійному стресі на відносний вміст окремих фракцій ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів.

Перед забоєм у плазмі крові курчат-бройлерів усіх експериментальних груп переважають фосфоліпіди, а найменше є холестеролу і тригліцеролів.

Найвищий рівень фосфоліпідів та НЕЖК у плазмі крові спостерігали перед забоєм у курчат-бройлерів першої дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку.

У плазмі крові курчат-бройлерів усіх груп переважають фосфоліпіди: лізолецитин та фосфатидилетаноламін, тоді як значно менше є фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитолу і фосфатидної кислоти.

Рівень лізолецитину у плазмі крові курчат-бройлерів першої дослідної групи перед забоєм підвищився, а фосфатидної кислоти — знизився майже у три рази; вміст фосфатидилхоліну зменшився. Перед забоєм рівень фосфатидилінозитолу у плазмі крові знизився, а фосфатидилетаноламіну — підвищився майже вдвічі у курчат-бройлерів дослідних груп.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

Грабовський С. С. Вміст окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів при передзабійному стресі / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2013. — Том 15. — № 4. — С. 24–31.

Вміст високомолекулярних жирних кислот в грудному м'язі курчат-бройлерів за умов стресу та його корекції

Сильний стресогенний вплив на організм активізує гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему. У свою чергу гіпертрофія наднирників викликає різке підвищення рівня глюкокортикоїдних гормонів, що пригнічують процеси проліферації клітин та синтезу біополімерів сполучної тканини [530,531,532,533,534,535,536].

Гормональні зміни, які виникають за умов стресу викликають мобілізацію жирів і підвищення у крові концентрації холестеролу та жирних кислот [537].

Аналізуючи отримані дані щодо вмісту ВЖК перед забоєм у крові курчат-бройлерів дослідної групи, яким до корму додавали препарат селезінки, встановлено збільшення міристинової, стеаринової та ейкозатетраєново-арахідонової кислот і зменшення пентадеканової кислоти порівняно з птицею контрольної групи($P < 0,05$). Щодо інших досліджуваних кислот, то вірогідної різниці у концентрації ВЖК між групами ми не спостерігали.

Збільшення вмісту неетерифікованих жирних кислот у сироватці крові відмічали [538] за ожиріння.

Неетерифіковані жирні кислоти поступають у печінку з тонкого відділу кишечнику або жирової тканини чи синтезуються у печінці. Далі вони етерифікуються з утворенням тригліцеридів або проникають в мітохондрії, де відбувається β-окиснення. Пальмітинова кислота — основний субстрат β-окиснення у клітині. Основним субстратом спонтанного окиснення є поліненасичені жирні кислоти; ензимному окисненню можуть, мабуть, піддаватися і мононенасичені кислоти [533], що збігається з результатами наших досліджень. У курчат-бройлерів контрольної групи відмічено тенденцію до незначного зменшення вмісту пальмітинової кислоти (табл. 3.50).

Отже, **с**истема розподілу жирних кислот в організмі дуже складна, а механізм підтримки їх стаціонарного рівня в крові відсутній. Стрес-реакція організму має незначний вплив на досліджувані показники, зважаючи на це можна зробити висновок, що рівень ліпідів не може бути доказом, який би характеризував стійкість тварин і птиці до стресів, що збігається з дослідженнями деяких авторів [538].

Таблиця 3.50

Концентрація вищих жирних кислот у в грудному м’язі курчат-бройлерів, перед забоєм, % (M±m, n=5)

Жирна кислота	Група	
	Дослідна	Контрольна
Міристинова, 14:0	0,52±0,019*	0,31±0,029
Пентадеканова, 15:0	0,43±0,291*	0,92±0,12
Пальмітинова, 16:0	14,38±1,717	13,17±0,723
Пальмітоолеїнова, 16:1	0,19±0,062	0,19±0,021
Стеаринова,18:0	11,75±1,316*	9,156±0,28
Олеїнова, 18:1	30,65±4,4	27,77±13,795
Лінолева, 18:2	30,45±2,663	29,95±3,159
Ліноленова, 18:3	5,81±2,3	5,17±0,695
Ейкозатетраєнова–арахідонова, 20:4	9,88±2,114*	4,79±1,802

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05 (стосовно контролю)

Дослідження впливу стресу на концентрацію протеїнових фракцій крові курчат-бройлерів та за умов його корекції

Розроблення фізіологічно обґрунтованої технології утримання, годівлі та експлуатації домашніх 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: істотне 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 [352], концентрації загального протеїну та збільшення кількості продуктів розщеплення протеїну (сечовини і залишкового азоту), а також концентрації глюкози, Калію, Натрію та хлоридів [539].

У результаті проведених досліджень були виявлені зміни у відсотковому значенні відносного вмісту протеїнових фракцій у плазмі крові курчат-бройлерів дослідних груп порівняно з курчатами контрольної групи. У курчат-бройлерів обох дослідних груп дещо знизилась концентрація преальбумінів та альбумінів, у той час як збільшився вміст γ-глобулінів на 54 % — I дослідна група та 46 % — II дослідна група, відповідно (табл. 3.51).

Таблиця 3.51

Співвідношення протеїнових фракцій плазми крові курчат-бройлерів (%; M±m; n=5)

Фракції протеїнів	Група курчат-бройлерів		
	I Дослідна	II Дослідна	Контрольна
Преальбуміни	3,64 ± 1,788	3,67 ± 2,072	4,1 ± 2,516
Альбуміни	28,27 ±12,086	21,95 ± 9,631	32,2 ± 6,148
Глобуліни: α	5,55 ± 0,997	5,74 ± 0,859	8,88 ± 3,289
β	33,94±10,755	42,02±8,264	10,22±6,057
γ	22,11±3,001*	19,01±3,091**	10,22±6,057

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Збільшення концентрації глобулінової фракції можна пояснити вмістом у препараті селезінки біологічно активних речовин і, зокрема поліамінів: Put, Spd та Spm, які впливають на продукування їх організмом [398, 399].

Додаткове введення препарату селезінки супроводжувалось підвищенням концентрації γ-глобулінів у плазмі крові курчат-бройлерів обох дослідних груп.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

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. — 2014. — Вип. 4, Том 1(113). — С. 57–61.

Вміст поліамінів, амінокислот у тканинах курчат-бройлерів за умов стресу та його корекції

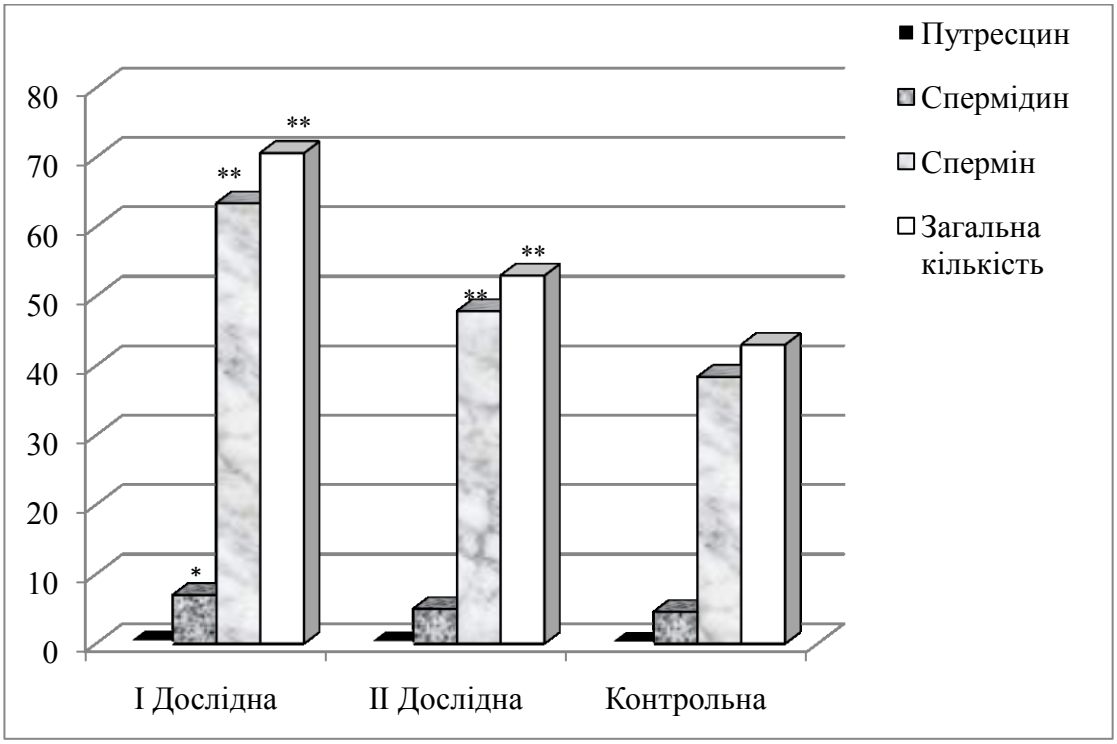
Put, Spd та Spm — аліфатичні полікатіони, які належать до біологічно активних амінів, виявлені у всіх живих організмах (у тварин і рослин, у водоростях і грибах, у бактеріях і вірусах). Тканини еукаріот містять спермін та спермідин в мілімолярних концентраціях, тоді як кількістьPut у них знайдено у наномольних концентраціях. Кількість поліамінів у тканинах тварин залежить від виду тканини, віку та багатьох інших факторів. Найбільшу концентрацію поліамінів виявлено у підшлунковій залозі, селезінці, тимусі та інших залозах, а також у печінці, тобто в органах, де відбувається інтенсивний синтез білків [241, 242]. У багатьох лабораторіях досліджували внутрішньоклітинний розподіл поліамінів [229, 540, 222], їх вміст у м’ясі курей, свиней та великої рогатої худоби [541].

У жіночому грудному молоці дуже багато поліамінів (особливо сперміну), тому, на думку вчених, завдяки ним жіноче молоко має протиалергенні властивості [542]. За останні роки є багато публікацій, присвячених ролі дисбалансу поліамінів у патогенезі різних захворювань та патологічних станів у тварин і людей, особливо неврологічного характеру [543,544,545,546]. Окремі науковці розглядають поліаміни як харчові добавки, що мають оздоровчі властивості [547,548,549,550]. Поліаміни синтезуються майже усіма клітинами ссавців [392, 551], все ж їх накопичення необхідно підтримувати у окремі періоди онтогенезу [552,553] і, зокрема у стресових ситуаціях. У Швеції щодо дієтичного харчування особлива увага приділяється вмісту поліамінів у продуктах харчування і, зокрема у молоці [554].

Високий внутрішньоклітинний вміст та різноманітність життєво важливих функцій поліамінів дозволяє розглядати їх як низькомолекулярні регулятори клітинного метаболізму, особливо у стресових ситуаціях, у тому числі перед забоєм тварин та птиці. Тому нами була поставлена мета встановити вміст Put, Spd та Spm, їх кореляцію у крові і тканинах курей-

бройлерів з врахуванням передзабійного стресу та додаткового введення до корму препарату селезінки, багату на поліаміни.

Аналізуючи отримані дані щодо вмісту поліамінів перед забоєм у крові курчат-бройлерів першої дослідної групи, яким до корму додавали препарат селезінки, оброблений ультразвуком, встановлено, що загальна кількість поліамінів збільшилась порівняно з контролем на 39 % (P < 0,01) і, зокрема концентрація спермідину — на 34 % (P < 0,05), а сперміну — на 40 % (P < 0,01), (Рис. 3.60).



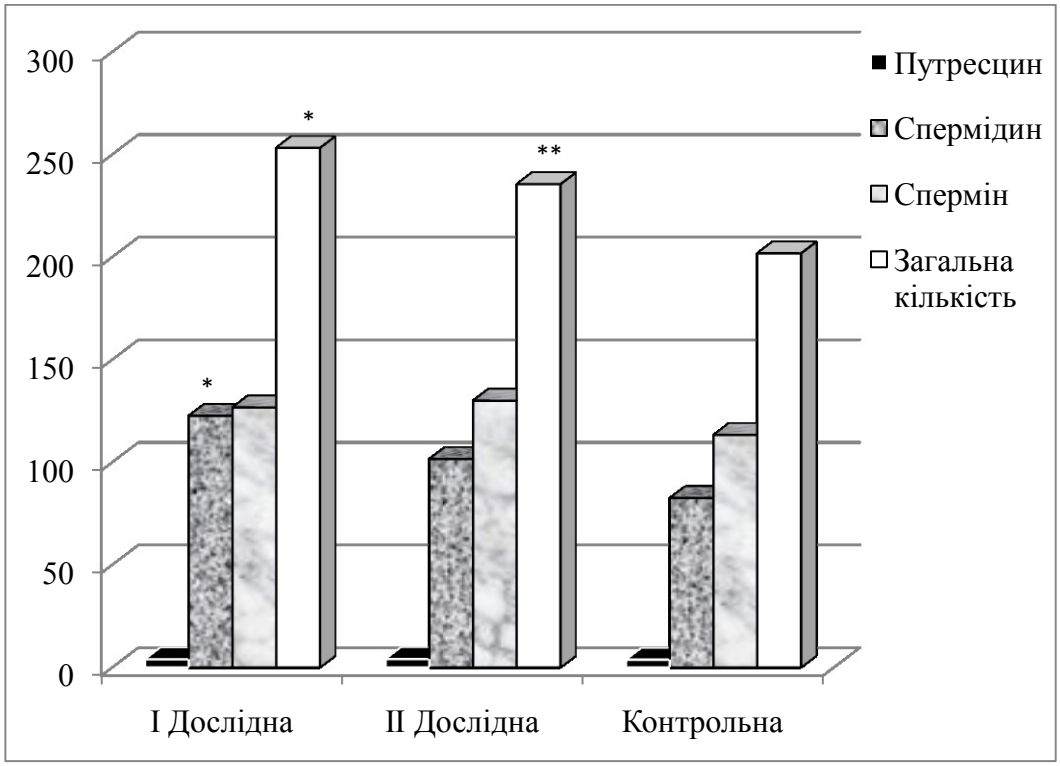
Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.60. Вміст поліамінів у крові курчат-бройлерів, нмоль/мл крові

Отримані результати досліджень узгоджуються з даними авторів [555,556], які показали, що додаткове застосування поліамінів і раціоні лабораторних тварин може впливати на їх концентрацію у тканинах та крові зокрема.

Аналізуючи вміст поліамінів у селезінці, відмічено зростання їх загальної кількості в обох дослідних групах: у курчат першої дослідної групи

на 20 % (P < 0,05), другої — на 14 % (P < 0,01) та збільшення концентрації Spd лише у курчат першої дослідної групи — на 33 % (P < 0,05). Концентрація Put у селезінці курчат-бройлерів усіх експериментальних груп була практично на однаковому рівні (Рис. 3.61).



Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.61. Вміст поліамінів у селезінці курчат-бройлерів, нмоль/г тканини

Вірогідне підвищення рівня поліамінів у селезінці курчат обох дослідних груп пов’язане не тільки з додатковим введенням їх до раціону, але й з їх синтезом у селезінці, незважаючи на інтенсивніше використання цих поліамінів у передзабійному стресі.

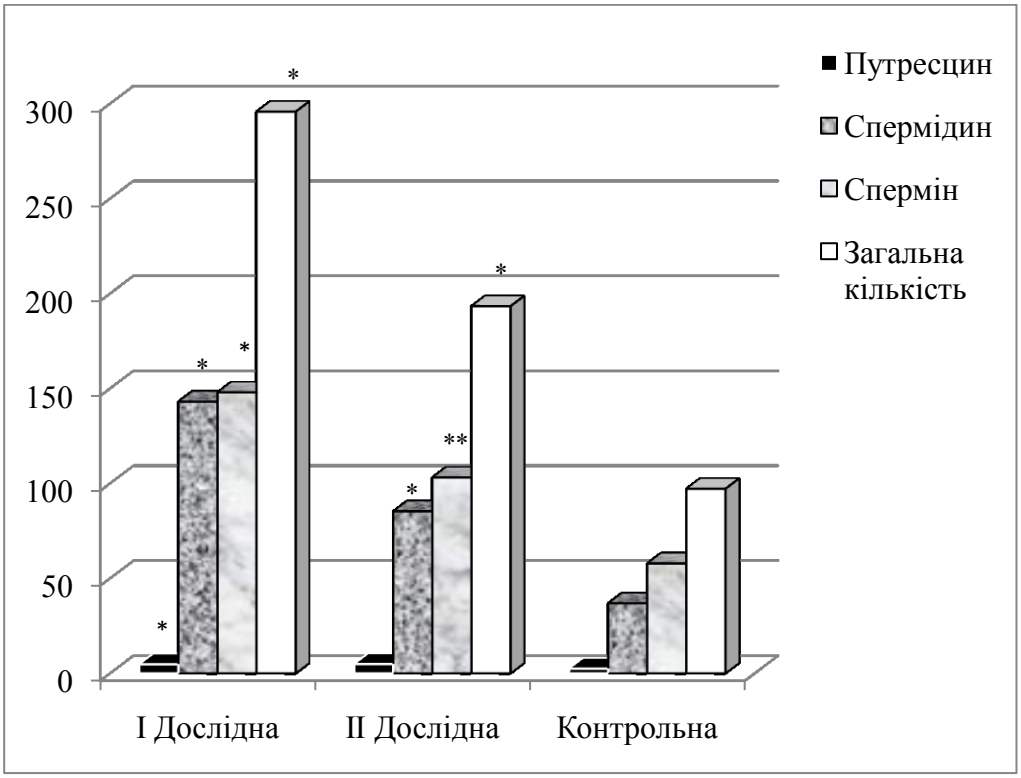
Встановлено вірогідно більший (P < 0,05) вміст сперміну, спермідину та загальної кількості поліамінів у печінці курчат-бройлерів усіх дослідних груп порівняно з контролем.

Слід відмітити, що рівень Put у печінці у курчат-бройлерів першої дослідної групи, яким додатково до корму аерозольно вводили препарат селезінки, оброблений ультразвуком, був вірогідно вищим

4,756±0,847 (P < 0,05) порівняно з контролем 2,469±0,872 нмоль/мл тканини (Рис. 3.62).

З літературних джерел відомо, що у малих кількостях поліаміни синтезуються майже усіма клітинами організму [392], але основну частину ендогенних поліамінів синтезує печінка [393,394,395 ,557], що узгоджується з нашими дослідженнями.

Найбільший вміст поліамінів у печінці, ймовірно, пов'язаний з інтенсивнішим синтезом їх у стані стресу та з додатковим введенням до корму препарату селезінки, що свідчить про необхідність підвищення концентрації поліамінів у раціоні домашніх тварин і птиці перед забоєм, оскільки поліаміни інтенсивно використовуються організмом за умов стресу.

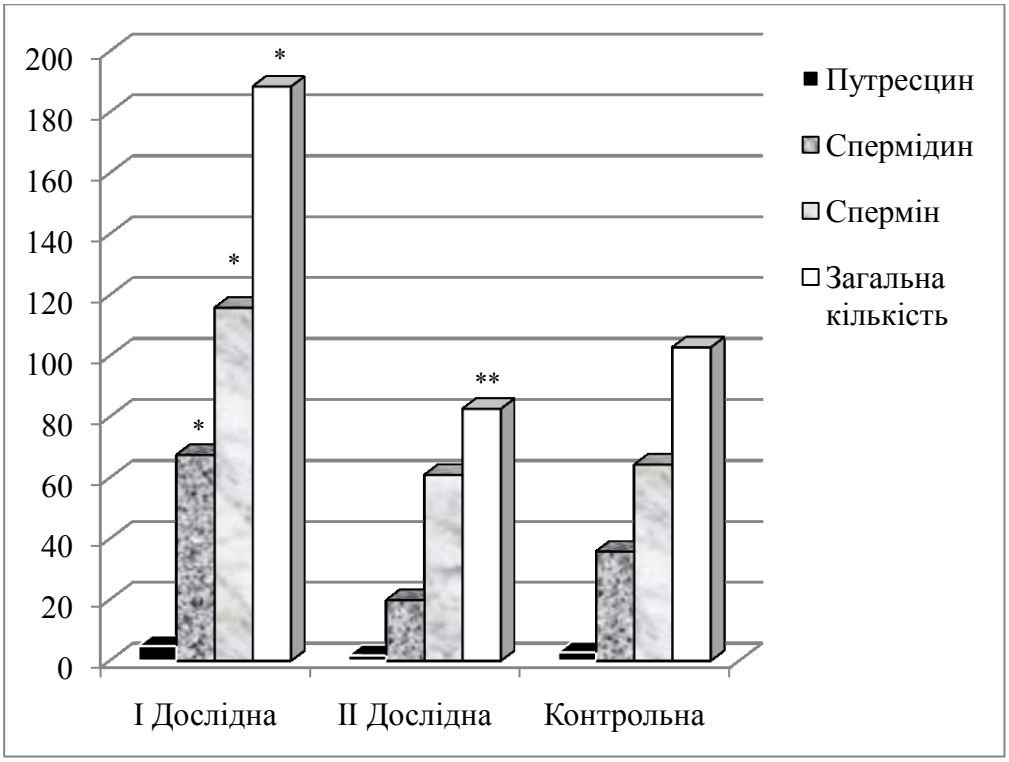


Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.62. Вміст поліамінів у печінці курчат-бройлерів, нмоль/г тканини

Встановлене вірогідне збільшення загальної кількості поліамінів у нирках курчат-бройлерів I дослідної групи до 188,39±23,33 (P < 0,05) та зменшення до 82,62±14,70 (P < 0,01) — у курчат II дослідної групи, порівняно

з курчатами контрольної групи, що може вказувати на ефективність застосування препарату селезінки, отриманого під впливом ультразвуку. Встановлено вірогідно більший вміст сперміну (на 45 %) та спермідину (на 47 %) (P < 0,05) лише у нирках курчат-бройлерів I дослідної групи (Рис. 3.63).



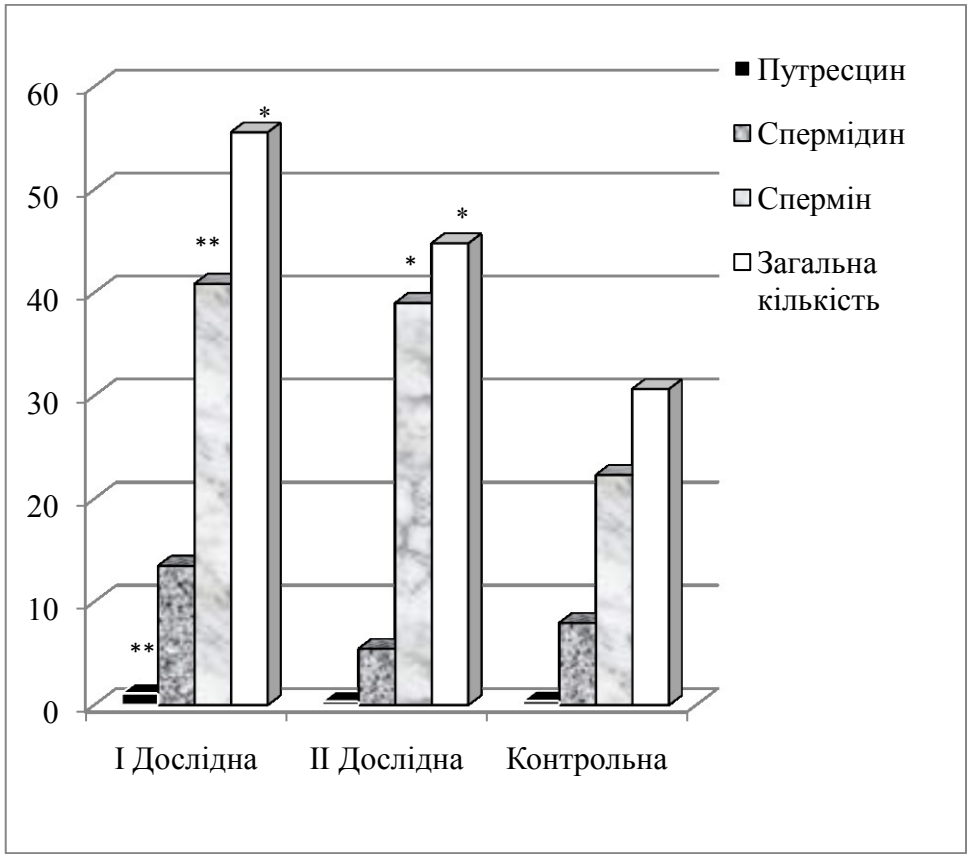
Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.63. Вміст поліамінів у нирках курчат-бройлерів, нмоль/г тканини

У курчат-бройлерів I дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, загальна кількість поліамінів у грудному м’язі була більшою на 45 % (P< 0,05), тоді як у курчат II дослідної групи — на 32 % (P < 0,05) порівняно з курчатами контрольної групи (Рис. 3.64).

Вміст Put у грудному м’язі курчат I дослідної групи становив 1,12±0,42 нмоль/мг тканини (P < 0,01), що є вірогідно більшим порівняно з аналогічним показником у курчат контрольної групи (0,39±0,45). Також встановлена вірогідно більша кількість сперміну у грудному м’язі обох

дослідних груп курчат-бройлерів: на 45 % (Р < 0,01) — І дослідна група та 43 % (Р < 0,05) — ІІ дослідна група порівняно з курчатами контрольної групи. Концентрація спермідину була вірогідно більшою лише у курчат І дослідної групи.



Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — Р<0,05; ** — Р<0,01 (стосовно контролю)

Рис. 3.64. Вміст поліамінів в грудному м’язі курчат-бройлерів, нмоль/г тканини

Значення біогенних амінокислот визначається не тільки їх унікальними функціями у побудові та проміжному синтезі основних структурних компонентів клітини, таких як протеїни, нуклеїнові кислоти, але й у синтезі ендогенних біологічно активних речовин — гормонів, нейромедіаторів, амінів, низькомолекулярних сполук Нітрогену та Сульфуру [558]. Самі АК або спільно з гормонами, відіграють важливу роль у контролі експресії генів тварин, птиці та людей [559,560,561]. Серед них деякі автори виділяють функціональні АК: аргінін, цистеїн, глютамін, лейцин, пролін і триптофан [562].

Вміст амінокислот у тканинах курей залежить від багатьох чинників, у тому числі, від віку, стресових чинників, фізіологічного стану, швидкості їх утилізації та біосинтезу, а також від якості корму, що надходить в організм [563, 558].

Біологічна повноцінність м’яса птиці обумовлена складом його протеїну, у ньому всі незамінні АК в оптимальному співвідношенні для засвоєння організмом людини. А, як стверджують деякі автори, стрес погіршує якість м’яса [564, 424,425,426].

Мета нашої роботи — дослідження вмісту амінокислот в грудному м’язі курчат-бройлерів перед забоєм та за умов корекції біологічно активними речовинами природного походження, що містяться в препараті селезінки.

Відомо, що поліаміни відіграють важливу роль майже в усіх клітинах організму [565,566,567]. Доведено, що при різних видах стресу зростає активність орнітин декарбоксилази — ключового ензиму при синтезі поліамінів, і при цьому підвищується їх концентрація [568].

Поліаміни синтезуються з таких амінокислот як аргінін, орнітин, лізин і метіонін [569]. В еукаріот Put синтезується безпосередньо з орнітину і лізину орнітиндекарбоксилазою і декарбоксилазою лізину, відповідно [570,571].

З даних, наведених у (табл. 3.52), видно, що у грудному м’язі курчат-бройлерів обох дослідних груп концентрація майже усіх амінокислот була вищою порівняно до контролю (курчатами контрольної групи).

Вміст більшості амінокислот в грудному м’язі курчат-бройлерів як I , так і II дослідної групи, був більший порівняно з контрольною групою і, зокрема: аргініну — на 25 % та 18 %, лізину — на 19 % та 16 % ($P<0,05$), тирозину — на 20 % ($P<0,05$) та 12 % ($P<0,01$), фенілаланіну — на 17 % та 14 %, валіну — на 17 % та 19 %, проліну — на 17 % та 14 %, треоніну — на 21 % та 16 %, аланіну — на 20 % та 16 %, гліцину — на 18 % та 19 % ($P<0,05$), відповідно. Вміст гістидину був вірогідно більший вдвічі ($P<0,01$) в грудному м’язі курчат-бройлерів тільки II дослідної групи, порівняно до контролю. Вміст

лейцину, ізолейцину був вірогідно більший на 18 % (P<0,05) та метіоніну — на 22 % (P<0,05) в грудному м’язі курчат-бройлерів лише І дослідної групи.

Таблиця 3.52

Вміст амінокислот в грудному м’язі курчат-бройлерів перед забоєм, % (M±m, n=5)

Назва амінокислот	Група курчат-бройлерів		
	І Дослідна	ІІ Дослідна	Контрольна
Аргінін	1,90±0,135*	1,75±0,152*	1,44±0,104
Лізин	2,59 ±0,054*	2,48±0,098*	2,09±0,133
Тирозин	0,83±0,071*	0,75±0,059**	0,67±0,033
Фенілаланін	0,97±0,022*	0,94±0,019*	0,80±0,056
Гістидин	0,73±0,324	0,87±0,114**	0,46±0,269
Лейцин, Ізолейцин	3,22±0,066*	3,10±0,111	2,65±0,156
Метіонін	0,70±0,015*	0,63±0,084	0,54±0,049
Валін	1,20±0,031*	1,22±0,058*	0,99±0,061
Пролін	0,78±0,015*	0,75±0,053*	0,65±0,047
Треонін	1,49±0,046*	1,39±0,102*	1,17±0,083
Серин	1,34±0,109	1,35±0,113	1,20±0,129
Аланін	2,50±0,047*	2,39±0,075*	2,00±0,13
Гліцин	1,09±0,032*	1,10±0,113*	0,90±0,052

Примітка. Статистично вірогідні різниці: * — P<0,05; ** — P<0,01 (стосовно контролю)

Лізин бере участь в утворенні антитіл, у процесі метаболізму карнітину, який покращує стійкість до стресів як і триптофан [572]. Метіонін сприяє підтримці азотистої рівноваги організму, посилює синтез стероїдних гормонів, оберігає від окиснення адреналін [573].

Можна припустити, що поліаміни, завдяки своїм фізико-хімічним властивостям виконують функції адаптогенів: підвищують резистентність організму до дії екстремальних чинників середовища. Захисний ефект поліамінів проявляється в регуляції інтенсивності вільнорадикальних реакцій, перекисного окислення, активності ряду ензимів, стабілізації біомембран [574].

Аналіз показників крові курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу показав негативний вплив його дії на адаптивні механізми організму.

Тому, на нашу думку, зменшення концентрації відповідних амінокислот у грудному м’язі курчат-бройлерів контрольної групи викликане стресом птиці перед забоєм та необхідністю додаткового синтезу поліамінів — Put, Spm та Spd, що підтверджується даними отриманими при дослідженні рівня поліамінів у грудному м’язі курчат-бройлерів (Рис. 3.63).

Додаткове введення поліамінів, отриманих з препарату селезінки, як із застосуванням так і без використання ультразвуку, супроводжувалось підвищенням загальної кількості поліамінів, а також збільшенням концентрації окремих із них: Put, Spd та Spm у крові і тканинах курчат-бройлерів.

Найнижчий рівень Put, Spd та Spm був у крові і тканинах курчат-бройлерів контрольної групи.

Вірогідно більший вміст поліамінів спостерігали у крові, печінці та грудному м’язі у курчат-бройлерів першої дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, отриманий із застосуванням ультразвуку.

Використання антистресової кормової добавки, сприяло збільшенню концентрації амінокислот у грудинці курей і тим самим підвищило біологічну цінність м’яса птиці.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступній праці:

Грабовський С. С. Вміст поліамінів та їх корекція у крові та тканинах курчат-бройлерів за умов стресу / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2014. — Том 16. — № 2. — С. 18–25.

3.9 Показники природної резистентності у людей за умов споживання м'яса курчат-бройлерів до і після корекції передзабійного стресу

Екологічний стан навколишнього середовища, спосіб життя та харчування, сфера діяльності, фізичні навантаження — далеко не всі чинники, впливу яких зазнає імунна система організму людини протягом свого життя. Стреси різного характеру, пригнічений стан організму, застосування деяких лікарських засобів є руйнівними для імунної системи, функціонуючою основою якої є складний комплекс імунокомпетентних клітин. На відміну від В-лімфоцитів, здатних розпізнавати антигени в розчині і зв'язувати білкові, полісахаридні і ліпопротеїдні розчинні антигени, Т-лімфоцити здатні розрізняти тільки короткі пептидні фрагменти протеїнових антигенів [295]. У контролі вродженої імунної відповіді у вищих хребетних важливу роль відіграють поліаміни: Put, Spd та Spm . Поліаміни можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції [145, 109, 111], регулювати апоптоз В-клітин при делеції клону [197], поглинатися Т- та В-лімфоцитами, а В-лімфоцити можуть ініціювати транспорт позаклітинних поліамінів [146].

У літературі недостатньо висвітлені питання про вплив передзабійного стану тварин на окремі показники імунітету. Слід пам'ятати, що перед забоєм тварин не можна використовувати препарати, які б мали негативний вплив на організм людини, що споживає їхню продукцію. М'ясо-молочна продукція, отримана від домашніх тварин за стресового стану, якого тварина зазнає перед забоєм, може бути непридатною для споживання. На сьогодні недостатньо уваги приділено впливу таких продуктів харчування на імунітет організму людини. Нами встановлено вищий рівень поліамінів: Put, Spd та Spm у крові та тканинах курчат-бройлерів, яким до основного раціону вносили препарат селезінки [353]. Як ІМД та антистресори були використані поліаміни, отримані з препарату селезінки із застосуванням ультразвуку. Тому ми використали біологічно активні речовини природного походження — препарат селезінки

Англійськими ученими-онкоепідеміологами [575] була підрахована питома частка різноманітних чинників, що впливають на виникнення раку. Центральна роль у процесі канцерогенезу належить харчуванню — цей чинник складає 35 % серед можливих причин онкології. Друге місце займає паління, на яке припадає 30 % випадків. На інші причини онкологічних новоутворень доводиться значно менший відсоток. Деякі дослідники вважають, що існує зв'язок між складом і характером харчування людини і вірогідністю розвитку злоякісних пухлин. Близько 40 % випадків онкологічних захворювань у чоловіків і 60 % — у жінок, за дослідженнями ВОЗ, обумовлені незбалансованим харчуванням [576]. При цьому, крім незбалансованого харчування, в основному звертається увага на хімічні речовини, фізичні чинники, віруси та мікроорганізми, нераціональне зберігання, переробка та пакування їжі, кулінарна обробка та приготування, але не враховується стресовий стан тварин перед забоєм. Тому метою роботи було вивчити особливості впливу споживання м'яса курчат-бройлерів з урахуванням їх передзабійного стану на деякі показники імунітету організму чоловіків.

У попередніх дослідженнях (модельний дослід) встановлено вплив передзабійного стану на клітинний імунітет та рівень кортизолу у плазмі крові щурів і курчат-бройлерів. Внесення до корму препарату селезінки супроводжувалось зниженням рівня кортизолу у плазмі крові як щурів, так курчат-бройлерів, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм [350, 577].

Для дослідження були підібрані чоловіки аналоги за віком (19-20 років) та масою тіла (50-55 кг), яких розділили на дві групи. Дослід тривав п'ять днів. Чоловіки споживали двічі м'ясо курчат-бройлерів, яким в передзабійний період додатково застосовували препарат селезінки — I гр. та без використання біологічно активних речовин перед забоєм — II гр. маса курчат-бройлерів коливалась в межах — 1,8–2,2 кг. Кров у чоловіків брали з вени у ліктьовому згині до та після вживання м'яса. У цільній крові визначали деякі показники природної резистентності [293,295].

На основі отриманих досліджень на тваринах можна зробити висновок, що використання ІСД, які містяться в препараті селезінки, знижує негативний вплив передзабійного стресу та підвищує імунітет тварин.

У таблиці показано як змінювалися показники природної резистентності у людей за умов споживання курчатини. У крові чоловіків після споживання м'яса курчат-бройлерів, які перед забоєм в якості антистресорів та ІМД отримували препарат селезінки (І дослідна група), зріс індекс стимуляції нейтрофілів (+0,82). У чоловіків, які споживали м'ясо курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу, індекс стимуляції нейтрофілів знизився (–2,21) у порівнянні з початком досліду. Вірогідної різниці в інших показниках природної резистентності ми не спостерігали (табл. 3.53).

Таблиця 3.53

Показники природної резистентності абс. число, г/л (n=5)

Показник	Дослідна група			Контрольна група		
Лейкоцити	+1,1	–0,4	–2,2	–1,2	+1	+0,8
Нейтрофіли (паличкоядерні, сегментноядерні)	–10	–1	–2	–7	+10	–14
Фагоцитарний показник (нейтрофіли) (латекс-тест, 30 хв)	+3	–24	+2	+17	–15	–7
НТС спонтанний (нейтрофіли)	+4	+4	+1	+24	+6	+6
НТС стимульований (нейтрофіли)	+16	+21	+10	+20	+12	+11
Індекс стимуляції НТС (нейтрофіли)	+0.2	+1,3	+0,97	–0,52	–1,1	–5
	+0,823			**–2,207**		

Індекс стимуляції НТС (нейтрофілів) у крові чоловіків представлено на рисунку 62 (Рис. 3.65). Як видно на рисунку, індекс стимуляції НТС у крові чоловіків між дослідною та контрольною групами різнилися на 0,89 абс. число, г/л, або 34,8 %, хоча не виходили за межі норми.

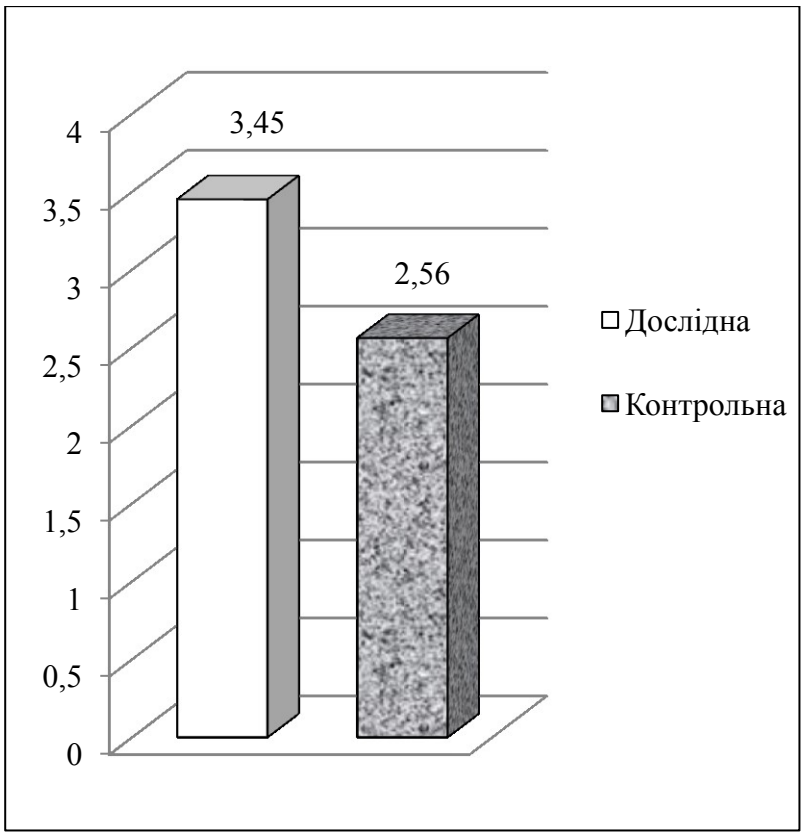


Рис. 3.65. Індекс стимуляції НТС (нейтрофіли), абс. число, г/л

У попередніх дослідженнях встановлено зменшення вмісту поліамінів у тканинах курчат-бройлерів у передзабійний період. Загальна кількість поліамінів у грудному м’язі була меншою на 45 % ($P < 0,05$) [353]. Правдоподібно, що зменшення концентрації поліамінів та відповідно амінокислот в м’язі грудинки курчат-бройлерів можуть впливати на показники імунітету у людей, що узгоджується з дослідженнями багатьох авторів [578, 579, 111].

Встановлено, що біологічно активні речовини природного походження, можуть нівелювати передзабійний стрес у тварин і таким чином поліпшувати якість їх м’яса. Споживання м’яса від цих тварин призводить до підвищення індексу стимуляції нейтрофілів у крові людей та підвищує резистентність їх організму.

Результати цих досліджень були опубліковані у наступних працях:

1. 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. Біологія, медицина / Vìsnik Dnìpropetrovs’kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, medicina / Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Med. — 2015. — Т. 6. — Вип. 2. — С. 165–168. doi:10.15421/021530 ISSN 2310-4155 print ISSN 2312-7295 online www.medicine.dp.ua

2. Grabovskyi Stepan. The effect of consumption of broiler chickens meat in conditions of pre- slaughter stress with its correction on natural resistance of people / Stepan Grabovskyi, Jaroslav Kyryliv, Oleksandra Grabovska // Acta Sci. Pol. Zootechnica 14(4) 2015, 53–62

РОЗДІЛ 4
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Організм людини постійно зазнає впливу різноманітних за інтенсивністю та якістю подразників, деякі з яких можуть викликати загальні та локальні реакції організму. На сьогоднішній день під час дослідження проблеми впливу продуктів харчування на ризик виникнення патологічних процесів в організмі основна увага вчених приділяється лише вмісту холестеролу, барвників, консервантів, харчової солі, виникненню метаболічного синдрому тощо [580].

Здоровий спосіб життя та правильне харчування — запорука активного довголіття, підвищення імунітету, забезпечення нормального росту людини і є одним з ключових факторів, який визначає здоров'я нації, її потенціал. Швидкий розвиток біологічних наук за останні роки вніс суттєві доповнення в розуміння суті багатьох ланок обміну речовин. Нині відомі майже усі поживні речовини, які відіграють важливу роль у харчуванні людей і тварин — їх підтримки «оптимальної» імунної відповіді, організму та загально-фізіологічних процесів гомеостазу. Сучасний спосіб життя вніс значні корективи у характер харчування людства у всьому світі. Значно знизилися енергозатрати, спостерігається стійка тенденція до збільшення споживання трансгенних жирів, рафінованих продуктів, солі і цукру. У розвинених країнах світу хронічні хвороби і проблеми зі здоров'ям людей частково або повністю залежні від неправильного харчування і, безумовно, складають найсерйознішу проблему для охорони здоров'я [581,582]. Основна увага для визначення повноцінного харчування приділяється поступленню в організм оптимальної кількості білків, жирів, вуглеводів, харчових волокон, мінеральних речовин, вітамінів тощо. У літературі достатньо добре висвітлені порушення в імунній системі, пов'язані з впливом харчових речовин на клітини імунної системи, які реалізуються на рівні рецепторів і їх сигнальних шляхів, що надалі вже

проявляється на рівні міжклітинних взаємодій і в цілому на розвиток імунної відповіді [583].

При цьому зовсім не звертається увага на стан організму тварин і птиці перед забоєм та вплив передзабійного стресу на їх організм та згодом і на людину, яка споживає продукцію від них.

М'ясо-молочна продукція, отримана від домашніх тварин за стресового стану, якого тварина зазнає перед забоєм, може бути непридатною для споживання. Усі ці чинники стають причиною виснаження адаптивних і компенсаторних механізмів і, як результат, — загрозою процесами генетичних змін в організмі та передчасним старінням. Англійськими ученими-онкоепідеміологами (Р. Долл та Р. Піто, 1984) [575] була підрахована питома частка різноманітних чинників, що впливають на виникнення раку. Центральна роль у процесі канцерогенезу належить харчуванню — цей чинник складає 35 % серед можливих причин онкології.

На сьогодні недостатньо уваги приділено впливу продуктів харчування на імунітет організму людини. Вивченням впливу їжі на геном людини займається нутрігенетика, яка досліджує, як різні поживні речовини здатні модифікувати людські гени, і як це у свою чергу впливає на здоров'я. Знання про взаємодію між довкіллям і нашими генами поклало початок новій ері в дієтології і медицині. Оптимізації харчування — це використання продуктів, які впливають на експресію поліморфних генів, допомагають у профілактиці захворювань.

І найважливішим є те, що все те, що ми споживаємо, може вплинути на нас і визначати наше здоров'я впродовж життя.

Проводячи дослідження на тваринах мало уваги приділяється саме їх стресу перед забоєм. Важливим завданням сільськогосподарського виробника — отримання якісної тваринницької продукції від здорових, з міцним імунітетом та підвищеною резистентністю тварин, тобто, щоб тварина перед забоєм якнайменше переживала стрес. Найважливішим є той факт, що перед забоєм тварин не можна використовувати препарати, які б мали негативний

вплив на організм людини, яка буде споживати отриману від цих тварин продукцію.

Вивчення стресових поведінкових реакцій на лабораторних тваринах за умов дії біологічно активних сполук переважно проводяться у серіях експериментів з моделювання стресу — «відкрите поле» [308], «чорно-біла камера» [309], тест «вимушеного плавання» Порсолта [584,585], тест вимушеного плавання у басейні з колесами, що вільно обертаються, за Nomura [586], тест «підвішування за хвіст» [311]. За дії на організм чинників середовища, що кількісно перевищують його адаптивні можливості, розвивається дезадаптація, яка може призвести до дисфункції, тобто до порушення функції органу або системи. Ці зміни пов’язані як з початковим функціональним станом організму, так і з дією різних побічних чинників [587,588,589,590]. У ряді робіт [591,592, 651] показано, що щури розрізняються за своєю реактивністю у відповідь на стрес-дію.

Літературні дані про вплив стресової ситуації на поведінку тварин є суперечливими, однак, більшість авторів схильні вважати, що в основному стратегією поведінки людей і тварин є реакція боротьби (агресії) або втечі — активна реакція, та реакція завмирання, затаювання, тобто пасивна реакція [593,594,595,596,597,598,599,600]. Усесторонні дослідження Кеннона [303], проведені на кішках, дозволили йому описати активну форму реакції на гострий стрес у критичних ситуаціях, яку він характеризував як втеча або боротьба. Він вважав, що у підготовці і здійсненні цих форм поведінки основне значення має функція симпатичної нервової системи і мозкового шару надниркових залоз. Інший тип поведінкової реакції, який спостерігається у тварин, коли їм загрожує небезпека, — це завмирання. Грей (1971) характеризує завмирання як «мовчазну напружену нерухомість». Існують різні думки з приводу того, чи вважати завмирання активним або пасивним типом реакції [601]. Для різних біологічних видів характерна перевага або однієї, або іншої реакції.

Ми пропонуємо доповнити ще одним різновидом реакції організму на стрес — стан перед забоєм, в якому тварина може відчувати, що не має шансів на життя, і що, на нашу думку, супроводжується іншими метаболічними змінами в цілому організмі, ніж попередні реакції на стрес (боротьби, втечі або завмирання), між якими доведена значна різниця в біохімічних процесах [307].

Зміна концентрації (активності) гормонів може носити різний характер: може бути пов'язана з процесами їх утворення, з активацією або інгібування певними речовинами і, найбільш ймовірно, дією різних стресових реакцій. Встановлено, що гормони є ефекторами і що вони впливають на синтез інформаційної РНК, що у свою чергу призводить до біосинтезу ензимних білків.

Ми провели модельний експеримент на щурах для визначення показників клітинного імунітету та концентрації кортизолу — стресового гормону. Порявняно з іншими дослідженнями такого плану ми враховували тільки передзабійний стрес.

Наведемо кілька прикладів, де результати краще ілюструються, коли розглядати зміни рівня кортизолу кожної тварини зокрема. Рівень кортизолу у лабораторних тварин, які отримували препарат селезінки коливався у діапазоні від 15,8 нг/мл (тварина, яку з клітки брали першою) до 156,3 нг/мл (тварина, яку з клітки брали останньою). У тварин контрольної групи концентрація кортизолу коливалася від 121,9 до 215,0 нг/мл, залежно від порядку взяття тварини з клітки.

Аналізуючи результати досліджень окремих показників імунного статусу організму лабораторних тварин, встановили зменшення кількості низькоавідних загальних Т-лімфоцитів (із низькою щільністю рецепторів (3–5)) — на 8,5 % ($P<0,01$); Т-лімфоцитів активних — на 7 % ($P<0,01$) і Т-лімфоцитів хелперів «нульових» — на 6,25 % ($P<0,01$) у крові щурів І дослідної групи (отримували препарат селезінки) перед забоєм порівняно з тваринами контрольної групи. Кількість В-лімфоцитів була вірогідно більша у крові тварин І дослідної групи за рахунок «нульових» малодиференційованих у

функціональному відношенні клітин (61,0±2,94 %), що на 11,5 % (P<0,05) більше порівняно з щурами контрольної групи.

Проведено дослідження з визначення функціональної активності фагоцитуючих нейтрофілів у передзабійний період. У крові щурів, яким додатково до корму не давали антистресори та ІМД, вірогідно зменшився фагоцитарний індекс. на 11,5 % (P<0,05)

Ці результати правдоподібно показують, що крім стресу у тварин перед забоєм знижується імунітет. Біохімічні процеси метаболізму стресу та імунітету є взаємопов'язані. Доведено, що підвищення рівня кортизолу призводить до пригнічення імунної функції [602]. Тому за завдання ми поставили собі мету знайти біологічно активні речовини природного походження, які б мали дію спрямовану на нівелювання стресу та підвищення імунітету — тобто були антистресорами та ІМД одночасно.

Для зменшення стресу та підвищення імунологічних показників використовують найрізноманітніші чинники, зокрема корені солодки [603,604, 165]. Нині в Україні та за її межами проводять дослідження ефективності та механізмів дії препаратів, отриманих за допомогою клітинної і тканинної терапії, у тому числі створених із ксеногенних органів [192, 190] та стовбурових клітин [605,606,607]. За умов використання ксеногенного матеріалу не виникають морально-етичні проблеми, а також відсутня небезпека інфікування характерними для людини вірусами (ВІЛ, гепатит тощо), яка має місце під час застосування алогенного матеріалу, але залишається небезпека передачі антропозоонозних захворювань. У тваринному матеріалі не повинно бути бактеріологічної, вірусологічної та мікологічної контамінації (Наказ МОЗ України № 96 від 4 травня 2000 р). Для проведення аналізів на відсутність контамінації матеріал необхідно деякий час зберігати у кріоконсервованому стані. Тканинні препарати використовують у клініці та наукових дослідженнях у вигляді клітин, фрагментів органа, препаратів тканин органів. Лікувальні технології з використанням тканинних препаратів у терапії онкологічних, гематологічних, неврологічних та кардіологічних захворювань впевненіше

переходять з лабораторії у клінічну практику. Введення тканинних препаратів в організм суттєво підвищує його регенераційні властивості, тому їх стали застосовувати у хірургічній практиці для стимуляції загоєння ран, розсмоктування спайок та рубців, як засіб, що сприяє зростанню кісток при переломах [608,609,610] та зменшенню болючості при каузалгіях, радикулітах, фантомних болях [611,612,613].

Для встановлення, які саме антистресори та імуностимулятори можуть мати найбільший ефект для зняття стресу у передзабійний період, нами були проведені дослідження з використанням біологічно активних речовин природного походження. Для експерименту було сформовано чотири групи (три дослідні (I, II і III) та контрольну (IV)) лабораторних тварин — щурів лінії Вістар по п’ять у кожній. Як біологічно активні речовини (за п’ять днів до забою тварин) використовували препарат селезінки (I), екстракти ехінацеї та лимоннику (II), пророщене зерно (III).

З наших досліджень випливає, що найбільший ефект у цій ситуації мають поліаміни, ліпіди та аргінін, які у великій кількості містяться у препараті селезінки. Перевага застосування тканинних і клітинних екстрактів у тому, що тварина одержує сполуки природного походження, які впливають на метаболізм цілісного організму.

Терапевтичний ефект ґрунтується на тому, що за введення в організм реципієнта фетальних клітин і тканин відбувається активація спеціалізованих і прогеніторних клітин, відновлення клітинного і тканинного гомеостазу.

Серед органопрепаратів, які застосовуються не лише у ветеринарній практиці, у наших дослідженнях ми віддали перевагу препарату селезінки свині, що було пов’язано з вмістом великої кількості біологічно активних речовин, зокрема ліпідів, поліамінів та аргініну порівняно з іншими органами, що було виявлено деякими авторами [614,615,616] і підтверджено нашими дослідженнями [236].

Поліаміни впливають на центральну нервову систему. У функціональній активності мозку і нервової системи ссавців в цілому поліаміни виконують

функції нейромодуляторів основних класів катіонних каналів і глутаматних рецепторів, а також регуляторів активності ключового мембранозв'язаного ензиму Na, K-АТФази [617, 276]. Саме нейромодуляторні властивості поліамінів визначають їх різноспрямований вплив на ЦНС. За умов введення поліамінів тваринам з експериментальною епілепсією спостерігалося блокування судомної активності мозку [618], а їх введення в організм тварин, що перенесли стресову дію, сприяло поліпшенню порушених процесів навчання [619].

Поліаміни беруть активну участь в молекулярних механізмах реалізації неспецифічної стрес-реакції — поліамінній стрес-відповіді (ПСВ) [620]. За стресової дії на організм (опік, травма та ін.) в мозку активується ОДК з наступним збільшенням вмісту поліамінів, які запускають активацію генів «ранньої» відповіді — c-fos, c-jus та c-myc [621,622]. У нервовій тканині виявлені метаболічні особливості ПСВ, які залежать від характеру стресової дії [623]. За умов емоційного стресу, ішемії/гіпоксії мозку відбувається інтенсивніша активація ензимів розпаду поліамінів, зі швидкістю, яка перевищує швидкість їх синтезу. При цьому одночасно різко збільшуються активність ОДК і вміст Put, що супроводжується зниженням вмісту спермідину і сперміну [624].

Нині встановлено, що поліаміни відіграють важливу роль у контролі природженої імунної відповіді на бактеріальну інфекцію. Системне введення ендотоксинів ліпополісахаридів збільшує кількість мРНК і активність ОДК в нейронах і мікроглії ЦНС, що блокується введенням інгібіторів ОДК. Зниження вмісту Put за цих умов може запобігати запуску синтезу фактора некрозу пухлини, викликаного ліпополісахаридами в мозку. На цій же моделі показано, що інгібування синтезу поліамінів сприяє зниженню нейродегенерації і збільшує виживаність експериментальних тварин [625]. Показано, що вміст поліамінів збільшується за багатьох аутоіммунних захворюваннях. W. Brooks [626] запропонував поліамінну гіпотезу механізмів розвитку аутоімунних захворювань. Збільшення активності ензимів обміну

поліамінів та їх кількісний вміст може призвести до порушення процесу клітинного метилування ДНК, гістонів та інших клітинних процесів, пов'язаних з метилуванням [276, 627,628].

Правильність вибору підтверджують проведені дослідження спленектомії, яка призводить до посилювання порушень з боку імунної системи: розвивається помірний дефіцит Т-клітин, ймовірно за рахунок пригнічення ланки Т-хелперів, що вказує на порушення регуляторної функції імунної системи. Високий рівень активованих імунокомпетентних клітин і лімфоцитів, які несуть Fas-антиген, що супроводжується низькою проліферативною активністю, вказує на порушення апоптозу імунокомпетентних клітин, процесів активації і проліферації клітин імунної системи.

Порушення зі сторони гуморального імунітету проявляються суттєвим підвищенням низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів — більш ніж на 50 % порівняно з нормою [629].

Таким чином, підтримка стабільності в обміні поліамінів в ЦНС має велике значення як для корекції нейродегенеративних процесів, так і для імунної системи. Тим паче, що екстракт селезінки і сама селезінка цікавила науковців ще з давніх часів. Від часів Гіппократа існує думка, що селезінка в організмі людини виконує ряд важливих функцій. Незважаючи на всебічне вивчення розвитку, будови і функції селезінки протягом багатьох сторіч деякі питання функції та морфології цього органу залишаються дискусійними до теперішнього часу. Стародавні писання Вавілону, Єгипту, Греції та Риму стверджують, що зменшені розміри селезінки покращують результати атлетів [630].

Вивченням селезінки в 50-х роках займався американський учений Г. Унгар. Ним були створені терапевтичні препарати — спленін А і спленін Б. Спленін А зменшує проникність капілярів і сприяє зростанню стійкості еритроцитів до дії антиеритроцитарної сироватки. Його секреція і вихід

у кровообіг регулюються гіпофізом і корою надниркових залоз. Секреція спленіну Б перебуває під впливом щитовидної залози.

У 40-і роки Харківський науково-дослідний інститут ендокринології і органотерапії виготовляв лізат селезінки, також названий ліеніном. Усі ці препарати в основному здійснювали вплив на систему кровотворення.

У 1932–1933 роках німецьким професором Э. Шлифаке був отриманий препарат з вираженою біологічною активністю і названий ним «спленотрат» (нині він відомий під назвою «просплен»). Випускають препарат у Федеративній Республіці Німеччини. Його рекомендують застосовувати при гастритах з порушеною кислотністю шлункового соку і при алергічних захворюваннях. Механізм дії просплена пов’язаний з нормалізуючим впливом на тонус вегетативної нервової системи. Цей препарат не піддається руйнівній дії ензимів шлункового соку. Він детально вивчений в експериментальних умовах і успішно застосовується у клініках.

Новим препаратом селезінки є солкосплен, отриманий швейцарськими ученими методом діалізу селезінкового препарату. Він діє на статеву систему експериментальних тварин. Як стимулятор статевої функції солкосплен застосовують під час лікування різних видів статевих розладів як у чоловіків, так і у жінок. Він нормалізує діяльність статевих залоз.

У практиці охорони здоров’я широке застосування знайшов спленін. Цей препарат селезінки був отриманий ще у 1945 році в Лабораторії експериментальної ендокринології (Інститут експериментальної біології і патології імені А. А. Богомольця) академіком АН УРСР В. П. Комісаренком. Хімічна природа спленіну вивчена досить детально. У препараті виявлена велика кількість вільних амінокислот, пептид, що містить 13 амінокислот, безліч жирних кислот, а також ліпіди, мікроелементи і вітаміни.

Випробування дії спленіну за токсикозу на ранніх термінах вагітності, проведене у різних установах нашої країни, показало, що він високоефективний під час лікування цієї патології [631].

Багато ефектів спленіну можна пояснити його мембранотропними властивостями — здатністю стабілізувати клітинну мембрану. Так, еритроцити, оброблені цим препаратом, менш чутливі до гіпотонічного шоку. Механізм багатьох ефектів спленіну вивчений ще недостатньо. Нез'ясована хімічна природа біологічно активних чинників, що входять до його складу. Вивчення препарату триває.

Нині з селезінки виділено тільки два пептиди, структура яких встановлена: 1. Тафцин, біосинтез якого відбувається у селезінці у вигляді лейкокиніну, а остаточна структура формується на поверхні мембран лейкоцитів. Сьогодні тафцин синтезований, а також отримані його біологічно активні аналоги. 2. Чинник, що нагадує за своєю структурою тимопоетин і названий спленіном. Він так само, як і тимопоетин, складається з 49 амінокислот, має активну ділянку з п'яти амінокислот, і названий спленопентином.

Вивченням гуморальних чинників селезінки займаються у Київському науково-дослідному інституті ендокринології і обміну речовин. Останніми роками тут отриманий ряд нових важливих даних, що дало можливість значно розширити наші уявлення про фізіологію і патологію функцій селезінки, про значення тих явищ, які виникають при її порушенні.

Запропоновано спосіб одержання біологічно активних речовин із екстракту селезінки [340]. Під час екстрагування ми використали ультразвукову установку, за допомогою якої вдалося не тільки збільшити вихід фосфоліпідів, аргініну та поліамінів, але й провести їх стерилізацію. У звуковому і низькоультразвуковому діапазоні, що охоплює межі від 10 до 50 кГц, проявляються такі фізико-хімічні явища, як акустична кавітація, інтенсивне перемішування, перемінний рух частин, інтенсифікація масообмінних процесів. При цьому утворюються суспензії та проходить селективне руйнування клітин і мікроорганізмів у суспензіях [341]. Такий діапазон не призводить до змін у структурі речовин, до дії на клітинному і субклітинному рівні, до електронного збудження та до магнітного і електроакустичного ефекту.

Проведено дослідження морфометричних характеристик підшлункової залози, наднирників та нирок, печінки та селезінки щурів за умов передзабійного стресу та використання біологічно активних речовин. Адаптаційні реакції виявляються на всіх рівнях, включаючи всі системи та органи, але провідне місце у розвитку стресорної відповіді належить симпато-адреналовій і гіпоталамо-адренокортикальній системам, основним структурним компонентом яких є надниркові залози. Проте, однозначної думки про морфологічні та ультраструктурні зміни, а також функціональну активність надниркових залоз не існує, що пов'язано, насамперед, із різним за тривалістю та моделями індукування стресу.

У наших дослідженнях у тварин контрольної групи, яким не додавали до корму ІМД й антистресори, виявлено ознаки гістологічних ушкоджень надниркової залози, характерні для гострого виснаження її функції. Про це можна стверджувати на основі значного потовщення капсули органа та зменшення ширини клубочкової речовини і дискомплексації клітинних структур, гіперхромії, дистрофії та пікнозу ядер, що спостерігали за умов стресу. Перебудови внаслідок дії стресу є характерними для «фази тривоги» стрес-реакції, яка розвивається у перші години дії стресового чинника, що збігається з дослідженнями [372, 378, 379]. Посилене виділення глюкокортикоїдних гормонів за умов стресу супроводжувалося деяким набряканням клітин пучкової зони, тому її ширина була збільшеною. Послаблення секреції глюкокортикоїдних гормонів за використання антистресових речовин проявлялося редукцією пучкової зони та розширенням сітчастої. У тварин, яким додатково згодовували препарат селезінки біля основи мембран кожного проксимального канальця чітко проглядалися групи клітини з великими гіперхромними ядрами. Все це може вказувати на позитивну як ІМД, так антистресорну дію, поліамінів з препарату селезінки: Put, Spd та Spm на морфологічний стан нирок та наднирників у підготовчий період — протягом п'яти діб у передзабійний час. Подібні результати отримали на лабораторнихтваринах [632] за хронічного стресу.

Актуальним є вивчення структурної організації центральних та периферійних органів імуногенезу за дії різних екзогенних чинників. До теперішнього часу було досягнуто значних успіхів у дослідженні морфології органів імунної системи [633,634].

Проведені дослідження показали, що поліаміни з препарату селезінки впливають на величину лімфоїдних вузликів та на формування лімфатичних вузлів з реактивними центрами. У червоній пульпі селезінки було виявлено значну кількість мегакаріоцитів, що, ймовірно, можна пов’язати з перебудовою імунної системи за активації її біологічно активними речовинами з препарату селезінки та ехінацеї. Периартеріальна зона тварин І дослідної групи була збагачена макрофагами.

Використання препарату селезінки на тлі стресу сприяло збільшенню площі лімфоїдних вузликів у щурів І групи (отримували екстракт селезінки) та площі білої пульпи селезінки і тим самим активізувало механізми адаптації організму тварин, порівняно з щурами контрольної групи. Подібні результати отримали автори [635], які показали, що імуномодулююча дія хронічного стресу на рівні периферичної ланки імунної системи — селезінки у ранньому постнатальному онтогенезі у щурів проявляється змінами на Т- і В-клітинному рівнях, вираження яких пов’язано з віком тварин і характером стресової дії. Також в літературі є дослідження, пов’язані з концентрацією та функцію поліамінів у селезінці [636, 616].

За умов передзабійного стресу не спостерігали істотних змін у морфоструктурі тканини підшлункової залози лабораторних тварин. Під час морфометричного дослідження діаметру острівців Лангерганса підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп виявляли деякі відмінності. Площа острівців Лангерганса була найбільшою у щурів, яким задавали препарат селезінки. У плазмі крові курчат-бройлерів, які з кормом отримували препарат селезінки, нами було встановлено вірогідно вищий рівень інсуліну порівняно з тваринами контрольної групи, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм.

У щурів контрольної групи виявлене незначне локальне заміщення жировою тканиною екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, що було в межах норми.

Печінка — багатофункціональний орган, який відіграє важливу роль в метаболізмі — біосинтезі, секреції, детоксикації і екскреції різних речовин в усіх процесах, які направлені на підтримку гомеостазу. При цьому печінка постійно зазнає навантаженням і впливу різноманітних чинників, пов'язаних не тільки з дією токсичних речовин, але й стресу. Все це може призвести до ушкодження печінки і порушення її функції. Є чимало досліджень щодо характеристики змін у печінці за дії різних стресових факторів [386,637,638,639,640,641].

Проте, однозначної думки про морфологічні та ультраструктурні зміни у печінці і, зокрема перед забоєм не існує, що пов'язано, насамперед, із різним за тривалістю та моделями індукуванням стресу. Введення тканинних препаратів викликає реакцію зі сторони гормональної системи організму: збільшується утворення АДКГ і стимулюється виділення кортикостероїдів та підвищується продуктивність тварин [178].

Щодо печінки, то її важливість проявляється у тому, що за умов стресу може відбуватися переключення імунної системи з тимусута інших органів імунної системи на печінку, яке, можливо, регулюється як вищою нервовою системою, так і цитокінами [642].

Проведеними дослідженнями встановлено, що найменш виражені зміни у печінці було зафіксовано у групі лабораторних тварин, яким додатково до корму вводили багатий на біологічно активні речовини препарат селезінки, що, на нашу думку, зумовлено позитивним впливом саме поліамінів.

Узагальнюючи показники морфометричних характеристик підшлункової залози, наднирників та нирок, печінки та селезінки щурів за умов підготовчого періоду та перед самим забоєм можна стверджувати про позитивну дію поліамінів: Put, Spd та Spm як ІМД так і антистресорів.

Оцінка морфологічного і функціонального стану внутрішніх органів значно полегшує комплексне вивчення різних біохімічних показників, і зокрема крові, що відображає метаболічні процеси в організмі, стан природної резистентності та його захисні функцій.

Отримані результати на лабораторних тваринах і літературні дані дали нам підґрунтя для проведення досліджень на домашніх тваринах та птиці.

Використання ІМД, антистресорів природного походження, що активують адаптивні властивості організму тварин та птиці підвищуючи його імунобіологічний статус та нівелюють стрес — одне із перспективних напрямів у біології та ветеринарній медицині.

Важко назвати систему організму, на яку б не впливали глюкокортикоїди. Біологічно активним глюкокортикоїдом є кортизол, на частку якого припадає 80 %, на інші — 20 % у порядку зменшення їх активності: кортизол, кортикостерон, 11-дезоксикортизол та 11-дезоксикортикостерон. Кортизол — основний кортикостероїд, який здійснює контроль секреції кортиколіберину та АКТГ. Рівень кортизолу має чітко виражені добові коливання, найвищий рівень спостерігається вранці. Дослідженням, в яких вивчали зміни концентрацій кортизолу протягом доби, присвячено багато робіт [643,644,645,646,647].

Вищенаведені приклади ніскільки не суперечать зробленому нами висновку про зростання концентрації АКТГ та кортизолу опівдні, навпаки, вказують на те, що тварини після транспортування та перед забоєм перебувають у стані стресу, відповідно концентрації кортизолу та АКТГ є досить високими в обідній час.

У той же час потрібно відміти, що концентрація АКТГ перед постановкою на дослід (підготовчий період) є вірогідно меншою від рівня гормону до транспортування на м’ясокомбінат і коливається від 6,71 до 9,01 пг/мл — що становить 26 % ($P<0,01$). Так як кров для досліджень брали в один і тойже час, то можна зробити припущення, що бугайці контрольної групи зазнавали більшого стресу перед транспортуваннням, ніж під час взяття крові

у підготовчий період. Дані експериментальних досліджень на бугайцях підтверджують наші висновки, зроблені на лабораторних тваринах [350]

Характеризуючи гормональні зміни за різних видів стресу у кроликів, можна зробити висновок про негативний вплив стресового чинника на їх організм. Зокрема під час транспортування тварин у кров виділяється надмірна кількість катехоламінів з порушенням мікроциркуляторного русла органів, загального метаболізму, діяльності органів кровотворення та імуногенезу з міграцією лімфоїдних клітин [166]. У наших дослідженнях аналіз біохімічних показників крові кроликів показав негативний вплив стресу перед забоєм на адаптивні механізми організму: у крові кроликів контрольної групи збільшилась концентрація кортизолу на 40 % ($P < 0,05$). Кроликам, які отримували препарат селезінки — як антистресор та ІМД, рівень кортизолу був нижчим на 40 % ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи.

Аналізуючи рівень деяких гормонів: кортизолу, інсуліну та АКТГ у плазмі крові кнурців до транспортування, вірогідної різниці між тваринами двох дослідних і контрольної груп нами не було встановлено. Р. Лінковський вказує на генетичні фактори у реакції на стресову дію [648].

Характеризуючи одержані результати по концентрації гормонів крові кнурців можна константувати, що рівень кортизолу та АКТГ не показав різниці між дослідними та контрольною групою тварин. Це збігається з дослідженнями Гібсона М. та ін.[649] в який рівень кортизолу в плазмі не відрізнявся після використання біологічно активних речовин. Хоча рівень кортизолу був вищий порівняно з нормою в цей період (12^{00}–13^{00}) — згідно добовими коливаннями ми як і Хессінг М та ін. [650] не встановили різниці плазмового кортизолу та АКТГ.

Таким чином, за результати наших дослідження та інших авторів [651] можна говорити, що рівень концентрації досліджуваних гормонів може визначатися індивідуальними особливостями організму у відповідь на неспецифічний стресовий вплив.

Характеризуючи концентрацію гормонів плазми крові бугайців у передзабійний період, які з кормом отримували препарат селезінки (дослідна група), рівень кортизолу був вірогідно нижчим на 31 % (P<0,05) порівняно з тваринами контрольної групи, що може вказувати на зменшення стресу перед забоєм. Спостерігали зменшення концентрації АКТГ майже вдвічі (з 7,4 до 13,6 пг/мл (P<0,05)) у плазмі крові бугайців дослідної групи після транспортування — перед забоєм.

У наших дослідженнях встановлено зменшення концентрації кортизолу у плазмі крові курчат-бройлерів дослідних груп за умов стресу, що збігається з дослідженнями [505]. Деякі автори не виявляли змін [506], а інші вказують, що такі зміни показників потребують годин, якщо не кілька днів дії стресового чинника [507,508,509]. 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 до корму вносили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, можливо, пов’язане зі збільшенням вмісту глобулінової фракції, що узгоджуються з дослідженнями на щурах під час стресу (вимушеного плавання). Автори повідомляють про надзвичайно динамічну роль глобулінів, які регулюють концентрацію глюкокортикоїдів за умов гострого стресу [401,402].

Також встановлено, що тип стресора може визначати кількісні відмінності у реакції центральної нервової системи й центрів гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі. Так, у пацюків лінії Август, що мають більш високий базальний і постстресорний рівень кортикостерону у крові порівняно з пацюками лінії Вістар, первинна імунна відповідь на введення еритроцитів барана після стресорного впливу була суттєво більшою. Це означає, що у пацюків лінії Август стійкість імунної системи до стресорного ушкодження вища [652].

За результати наших досліджень та інших авторів [651] можна говорити, що зміни у концентрації досліджуваних гормонів відбуваються як за загальноприйнятою схемою, так і можуть визначатися індивідуальними особливостями організму у відповідь на неспецифічний стресовий вплив.

У наших дослідженнях було встановлено, що біологічно активні речовини природного походження можуть нівелювати передзабійний стрес у тварин і таким чином поліпшувати якість їх м'яса. Споживання м'яса від цих тварин призводить до підвищення індексу стимуляції нейтрофілів у крові людей та підвищує резистентність організму в цілому.

В організмі є дві основні регуляторні (або комунікаційні) системи: нервова і ендокринна, які забезпечують «постійність внутрішнього середовища організму». Не менш важливим для організму є нормальне функціонування імунної системи, яка є однією з регуляторних систем і тісно пов'язана з нервовою й ендокринною системами. Нервова й імунна системи організму забезпечують його взаємозв'язок з навколишнім середовищем. Завдання для цих систем принципово подібні: підтримка постійності внутрішнього середовища організму, збереження його гомеостазу, властивих йому констант, забезпечення можливості виживання. У діяльності нервової та імунної систем використовуються спільні протеїни, які хімічно ідентифіковані. Багато регуляторних пептидів, функціонально значимих для обох систем, не лише працює у цих системах, значна їх кількість продукується клітинами обох систем [653]. Є дані про те, що лімфоцити здатні продукувати ряд регуляторних пептидів й деякі гормони [654]. Причому вміст їх у лімфоїдних органах може змінюватись у різних ситуаціях, викликаючи зсуви адаптивного і патологічного характеру. Лімфоїдні клітини продукують АКТГ, пролактин, ендорфін та інші біологічно активні речовини, властиві регуляторним системам організму. Разом із тим клітини мікроглії продукують низку цитокінів — регуляторів клітинних і гуморальних імунних реакцій. Прикладом впливу нервової системи на перебіг імунних реакцій є зміни імунологічної реактивності в умовах гострого і хронічного стресу. Гострий стрес може спричиняти нетривале посилення

імунних реакцій, у той час як хронічний стрес призводить до виснаження імунітету і зниження імунологічної реактивності. Основний шлях реалізації нейрогенних впливів на функції імунної системи відбувається нейрогормональним механізмом, який зумовлений функціями гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової (наднирникової) системи [655,656].

Носіями інформації від імунної до нервової системи є цитокіни, які функціонують як у нервовій, так і в імунній системах. Антиген, діючи на антигенпрезентуючі клітини (макрофаги, клітини Лангерганса), ініціює продукцію і виділення цими клітинами комплексу цитокінів та інших біологічно активних речовин. У безпосередній близькості від цих клітин знаходяться аферентні закінчення вагуса (блукаючого нерва). Чутливі нервові закінчення практично підходять до клітин Лангерганса. Аферентні закінчення вагуса сприймають цитокінові сигнали і передають їх далі нейронам стовбурової частини мозку, стимулюючи продукцію ними норепінефринів (стрес-медіаторів). Норепінефрини у свою чергу активують гіпоталамус до продукції (КРГ). Таким чином, передавання інформації щодо потрапляння антигену в мозок відбувається через нервові шляхи — аферентні нервові волокна. Результатом активації стрес-системи є збільшений «викид» глюкокортикоїдів і катехоламінів — основних стрес-гормонів, які сприяють мобілізації функції органів і тканин, відповідальних за адаптацію і збільшенню їх енергозабезпечення [657].

Як з’ясовано ще у 90-ті роки, крім прямих продуктів стрес-системи, у стрес-реакцію залучені також речовини, що потенціюють або опосередковують ефекти стрес-системи, механізм дії яких поки що мало вивчений: ангіотензин II [658], цитокіни, наприклад інтерлейкіни [659], а також тахікіни — нейропептид Y, субстанція Р [660] та ін. Зокрема, цитокіни опосередковують вплив стрес-системи на систему імунітету, індукують активацію, проліферацію й диференціювання Т- і В-лімфоцитів. Нейропептид Y, що синтезується в ядрах гіпоталамуса, міститься також поряд з катехоламінами симпатичних нервових волокон і надниркoвій залозі, підсилює

судинозвужувальну дію катехоламінів. Разом із тим нейропептид Y має пригнічувальну дію на НА-нейрони та потенціює дію КРГ-нейронів.

Викладений у першому розділі власних досліджень матеріал вказує на те, що проведений нами модельний дослід підтверджує тісний взаємозв'язок між нервовою, ендокринною та імунною системами [350]. Нашими дослідженнями на лабораторних тваринах встановлено підвищення концентрації кортизолу на 29 % між щурами, яких брали з кліток почергово перед забоєм паралейно виявлено зміни у відсоткових співвідношеннях відносний вміст протеїнових фракцій: у плазмі крові щурів вірогідно знизилась концентрація α-глобулінів на 38 % (P<0,05), β- і γ-глобулінів — на 54 % (P<0,05).

Розділ з імунітету є дуже важливий не лише в інфекційній патології, але й за будь-якої патології і зв'язаний з обмінними процесами в організмі. У світовій літературі загально признано, що за різних захворювань, дослідження організму людини чи тварини обов'язково проводиться під контролем імунної системи. Оцінка клітинної ланки імунітету та її корекція є вирішальними в очікуванні позитивного ефекту.

Те, що стрес неодмінно впливає на імунну систему організму, вже давно не викликає сумнівів, на що вказує великий експериментальний і клінічний матеріал, про який ми повідомляли в огляді літератури та в експериментальних дослідженнях. Проте, основне питання полягає у тому, як і в який напрям стрес змінює імунологічні показники, про що й досі немає визначеності. На нашу та думку деяких авторів [661] пропонується враховувати характер самого стресора, частоти і часу його дії, видових, генетичних і фенотипічних особливостей організму. Якщо гострий стрес швидше активує імунну систему, то хронічний, на думку більшості авторів, частіше призводить до імунної виснаження і, що найбільше впливає на організм тварин і птиці стрес перед забоєм.

Тісний функціональний взаємозв’язок між нервовою та імунною системами, на наш погляд, спонукають звернути увага на подальше вивчення ролі препарату селезінки і, поліамінів зокрема, як антистресорів та ІМС.

Основою захисних функцій організму є властивість відповідати на різні чинники довкілля, що обумовлено цілим комплексом неспецифічних і специфічних реакцій [662,663,664]. Первинний захист організму від сторонніх чинників, здатних порушити гомеостаз, здійснюється механізмами неспецифічного захисту, які можуть бути клітинними і гуморальними. Серед клітинних чинників захисту організму велике значення мають мікро- і макрофаги.

Висока активність макрофагів призводить до виділення факторів, які спричиняють мітогенну дію на лімфоцити і посилюють бласттранформацію, підвищуючи тим самим хелперну функцію Т-лімфоцитів, прискорюючи диференціювання В-лімфоцитів в бік антитілутворвальних клітин. У наших дослідженнях на щурах рівень Т-лімфоцитів хелперів «нульових» недиференційованих у крові щурів дослідної групи, яким як біологічно активні речовини (за п’ять днів до забою) додавали препарат селезінки, зріс на 6,25 % ($P<0,01$) порівняно з тваринами контрольної групи. Відповідно у цій групі тварин зросла на 11,5 % ($P<0,05$) й кількість В-лімфоцитів за рахунок «нульових» недиференційованих у функціональному відношенні клітин порівняно зі щурами контрольної групи. Підвищення рівня у крові «нульових» клітин можна розглядати як доказ активного виходу незрілих лімфоїдних клітин. Це важливий факт, оскільки в гетерогенній популяції «нульових» лімфоцитів знаходяться попередники Т-лімфоцитів.

За умов гострого стресу імунні реакції активуються на основі стійких філогенетичних зв’язків, а за умов хронічного стресу (передзабійний період) система імунітету переходить на новий рівень гомеостазу. Тут присутня перебудова внутрісистемних взаємозв’язків, так, що гострий стрес на тлі хронічного набуває іншу якісну характеристику.

Подібні результати ми отримали при дослідженні специфічного імунітету в крові кнурців до транспортування у тварин збільшувалась відносна кількість Т- і В-лімфоцитів низькоавідних (малодиференційованих, тобто з низькою щільністю рецепторів (3–5)): Т-лімфоцитів — на 28 % (P < 0,01), В-лімфоцитів — на 20 %(P < 0,01), відповідно. Після транспортування кнурців (перед забоєм) було відмічено збільшення кількості низькоавідних (малодиференційованих, тобто Т-лімфоцитів з низькою (3–5) щільністю рецепторів) Т-хелперів на 25 % (P < 0,05) та середньоавідних (6–10) Т-хелперів — у три рази (P < 0,05) у крові кнурців дослідної групи, що може вказувати на стимулювальний вплив біологічно активних речовин, які містить поліаміни з препарату селезінки, на кількість та функціональну активність цих клітин і тим самим зміцнює рецепторний апарат клітин.

Як до так і після транспортування бугайців у крові було встановлено вірогідно більшу кількість Т-хелперів з низькою щільністю рецепторів, тобто низькоавідних (3–5) Т-хелперних лімфоцитів на 18 % (P < 0,05) і на 11 % (P < 0,05) відповідно — відносно загальної кількості Т-лімфоцитів у бугайців дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи. Що може вказувати на підвищення всіх ланок клітинного імунітету і тим самим можна стверджувати про позитивний вплив препарату селезінки на специфічний імунітет бугайців дослідної групи, хоча змін в кількісті В-лімфоцитів ми не спостерігали.

У птахів фагоцитарну активність мають псевдоеозинофіли, еозинофіли, моноцити і тромбоцити. Істотна роль в імунних реакціях належить лізоциму, комплементу, інтерферону, лейкінам та ін., які в цілому забезпечують сумарну бактерицидну активність крові [665,666,667,668].

При дослідженні специфічної резистентності у крові курчат-бройлерів відмічено зростання відносної кількості Т-хелперних клітин (Th) за рахунок середньоавідних (6–10) на — 18 % (P<0,05) та високоавідних (М) — на 35 % (P<0,05) і лише тенденцію до збільшення кількісті В-лімфоцитів за рахунок низькоавідних та середньоавідних клітин. Тому додаткове внесення до корму

курчатам-бройлерам препарату селезінки позитивно вплинуло на функціональні властивості Т-лімфоцитів крові, зокрема на рецепторний апарат клітин, що збігається з дослідженнями [485,486], котрі при ін'єкції АКТГ спостерігали істотне зменшення CD3, CD4 та CD8 лімфоцитів у крові.

Необхідно відмітити, що ми отримали протилежні результати під час проведення досліджень на кроликах. У крові дослідної групи було встановлено зменшення Т-лімфоцитів-хелперів (з низькою щільністю рецепторів) на 5,5 % (P<0,01) порівняно з кроликами контрольної групи. Їх відсоткова кількість теж зменшилась — на 6,6 % (P<0,01). І відповідно була вірогідно менша кількість В-лімфоцитів — на 12,5 % (P<0,01) у крові тварин дослідної групи за рахунок малодиференційованих (низькоавідних лімфоцитів або клітин з малою щільністю поверхневих рецепторів) — лімфоцитів, які приєднали 3–5 еритроцитів. Відповідно і їх відсоткова кількість теж була менша — на 11,8 % (P<0,01).

Таким чином, результати дослідження показали, що інтенсивність досліджуваних показників клітинної ланки імунітету визначається індивідуальними особливостями організму, зокрема і початковою реактивністю імунної системи у відповідь на неспецифічний стресовий вплив.

Як було зазначено в огляді літератури, що поліаміни: Spd, Spm, а особливо Put, відіграють важливу роль у контролі вродженої імунної відповіді у вищих хребетних. Цей ефект поліамінів на клітинні імунні реакції, насамперед, пов'язаний з експресією генів, які були кількісно визначені за допомогою ПЛР у реальному часі і деякі з них можна регулювати змінюючи концентрацію поліамінів. Ці результати показують, що поліаміни можуть сприяти розвитку відповідної адаптивної імунної реакції [109, 111]. Поліаміни присутні у фагоцитах і беруть участь в активації цих клітин [133].

У зв'язку з цим, співставляючи літературні дані та наші дослідження, все ж можна стверджувати, що поліаміни, які ми використовували методом екстрагування з селезінки посилюють у тій чи іншій мірі вроджений та специфічний імунітет тварин і птиці в умовах стресу перед забоєм.

Виходячи з позиції про провідну роль ЦНС у регуляції адаптації і враховуючи специфічні фармакологічні властивості поліамінів, можна припустити, що їх застосування здатне проявляти не просто стресопротекторний, а саме адаптогенний ефект, але й імуностимулюючий вплив, що збігається з дослідженнями [669].

Дослідження останніх років вказують на те, що реакція організму на дію стресора, якого не можна уникнути, схильна до вираження індивідуальних коливань метаболічного обміну у крові та тканинах тварин, як відносно поведінкової, так і гормональної ланок [670,671]. Експериментальні роботи показали, що тварини холеричного типу нервової системи у ранньому постстресовому періоді відповідають на стрес швидше і з вираженим позитивним зв'язком з гіпоталамо-гіпофізарно-надниркoвою залозистою системою [672, 162]. Деякі дослідники відмічають значне підвищення у крові кортиколіберину і кортикостероїдів в активних особин, що викликає апоптоз імуноцитів в органах імунного захисту у ранні терміни [673]. Є роботи, в яких показано, що тварини меланхолічного типу нервової системи за умов повторного стресу мають ознаки зниження функціональної активності гіпофізарно-адренокортикальної системи і імуносупресія виникає пізніше, є більш стійкою, що відбивається на морфології органів [673].

Виходячи з отриманих даних, можна зробити висновок, що в щурів холеричного та меланхолічного типів нервової системи розвиток постстресових поведінкових реакцій йде за різними сценаріями. Ймовірно, активізація гіпоталамо-гіпозарно-надниркової залозистої системи в активних тварин відбувається швидше і короткотерміново, що проявляється вираженішою і короткочасною імуносупресією порівняно з пасивними тваринами. Імуносупресія в експериментальних тварин меланхолічного типу нервової системи настає пізніше. Це підтверджує висновки деяких авторів, що кортиколіберин є гормоном, який відповідає за поведінкову активність, і у той же час, відповідальним за розгортання гормональних змін, що призводять до імуносупресії у периферичних органах імунної системи [674].

Зупинимося детальніше на характеристиці вродженого, природного імунітету за дією поліамінів за умов стресу.

Структури центрального апарату регуляції імунної системи локалізовані в гіпоталамусі, гіпокампі, і зв'язані з холінергічними нейронами базального ядра Мейнерта, з НА-нейронами, ДА-нейронами мезолімбічної і нігростіальної системи, з ГАМК-нейронами хвостового ядра, серотонінергічними нейронами і співпадають з центральними структурами стрес-системи [675]. Стрес-система та імунна система взаємопов'язані між собою впливом нейрональних структур на імунокомпетентні клітини і органи, впливом імунної системи на стрес-систему, тому гіпоталамус швидко реагує на порушення імунного гомеостазу і дає початок складному еферентному шляху передачі регуляторних впливів на імунокомпетентні клітини і органи. В основу механізмів цього впливу покладена дія цитокінів — інтерлейкінів (IL-1, IL-2, IL-6), які утворюючись у відповідь на стрес, активують гіпоталамус → гіпофіз → надниркові залози, пришвидшуючи секрецію гіпоталамічних КРГ і аргінін-вазопресину, гіпофізарного АКТГ та глюкокортикоїдів [676]. Внаслідок цього за принципом зворотного зв'язку відбувається саморегуляція активності імунної системи.

Збільшення секреції глюкокортикоїдів у свою чергу інгібує стимуляторний ефект цитокінів на гіпоталамо-гіпофізарну-адреналінову вісь та активність імунокомпетентних клітин та імунну реакцію. Взаємозв'язок імунної системи та стрес-системи обумовлює безпосередню участь імунної системи у стрес-реакціях і визначає вплив стресу на імунореактивність організму [677]

Збільшення концентрації КРГ в гіпоталамусі за підвищення його секреції за дії стресу призводить до активації симпатичної нервової системи і викликає дозозалежне зниження активності нормальних кіллерів і пригнічення проліферації лімфоцитів у селезінці [678]. Норадреналін впливає на імунокомпетентні органи і клітини, внаслідок чого відбувається пригнічення процесу утворення антитіл у відповідь на антигени, та активності нормальних

кіллерів і зменшення мітогеніндукованої проліферації макрофагів, а адреналін з надниркових залоз пригнічує імунну відповідь.

У той же час в літературі є ряд суперечливих відомостей щодо реакції вродженого імунітету на стрес. Гострий стрес може стимулювати природну імунну відповідь, впливаючи безпосередньо на активність макрофагів, нейтрофілів і натуральних кіллерів, а хронічний стрес — диференційовано впливати на різні ланки імунітету [679]. За даними [680] активність і чисельність нейтрофілів під час стресу знижується, а натуральних кіллерів — зростає, а інші автори [681] встановили, що кількість цих клітин не змінюється.

Проведено ряд досліджень відносно впливу ольфакторних стресорів, хемосигналів, що виділяються тваринами в довкілля (феромони «страху» і «тривоги»). Ці речовини можуть дистанційно поширюватися в групах інтактних тварин, подібно до «ефекту сусідства» — регулювати і контролювати активність імунної системи, продукцію інтерлейкінів, активність лімфоцитів периферичної крові, стабільність хромосомного апарату [682,683,684].

Поряд з цим необхідно нагадати, що центральні та периферичні органи імунітету, у тому числі й селезінка тварин, можуть бути джерелами регуляторних пептидів, які беруть участь у підтримці гомеостазу організму, і функціонуванні регуляторних — нервової, імунної та ендокринної систем, що і лежить в основі імуномодулюючих властивостей цих систем та органів, і безпосередньо селезінки [685,686].

У результаті наших досліджень у препараті селезінки свині було виявлено багато біологічно активних речовин: нейтральні ліпіди, підкласи фосфоліпідів, аргінін та незначну кількість поліамінів. Серед підкласів фосфоліпідів найбільша концентрація була фосфатидилхоліну. У зв’язку з вищевикладеним можна зробити висновок про правильність вибору препарату селезінки як імуностимулятора та антистресора для тварин та птиці в передзабійний період.

В наших дослідження серед біологічно активних речовин з препарату селезінки ми виділили поліаміни, які беруть участь як у диференціації клітин

імунної системи, так і в регуляції запальних реакцій. Ferioli та ін [687] показали, що крім регулюючого впливу на Т-клітинні функції, поліаміни можуть служити як проміжні сполуки (інтермедіатори) у тимустрофічному впливі медіаторів, таких як пролактин. Тимоцити є в основному у корковому шарі, де вони оточені епітеліальними клітинами, що переважно є у мозковому шарі, де й тільця Гасселя, які здатні захоплювати антигени [688].

Також, за перебігу місцевого запалення, Spm через пошкодження або руйнування клітин сприяє міграції і росту клітин. Тут поліаміни чинять негативний регулювальний вплив на активацію макрофагів з складними взаєминами між метаболізмом NO та поліамінами.

Отже, Shearer та ін.[689] показали пов’язані з часом модифікації, в експресії NO-синтази (NOS) і синтезу поліамінів в ділянках запалення. Спершу активація NOS може сприяти локальному накопиченню фагоцитуючих клітин.

Активація та подальша смерть макрофагів може відповідати аргіназа, що веде на місцевому рівні до використання позаклітинного аргініну та орнітину; вторинне накопичення орнітину може бути забезпечене, коли ця амінокислота є доступна для лімфоцитів і фібробластів, так що це дозволяє здійснювати проліферацію клітин за допомогою синтезу поліамінів і синтезу колагену через синтез проліну.

Це, можливо, спричинене інгібуючим ефектом NO на синтез поліамінів, та інгібуючою дією Spd на експресію індукованої NOS і пов’язано з аргінін транспортером CAT-2B [690,691,692].

Нарешті, поліаміни мають супресорний ефект на легеневу імунологічну та кишкову імуноалергічну відповідь [693].

Виходячи з важливого значення ліпідів та високомолекулярних жирних кислот ми провели дослідження впливу стресу перед забоєм тварин і птиці на відносний вміс нейтральних ліпідів, підкласів фосфоліпідів у плазмі крові та ВЖК — у тканинах.

В адаптації організму до дії стресорів і виникненні стресорних пошкоджень виділяють кілька основних взаємозалежних ефектів стрес-реакції,

в яких беруть участь ліпіди і ВЖК. Перший адаптивний ефект стрес-реакції полягає в мобілізації функції органів і тканин через активацію сигнального механізму стимуляції клітини, а саме збільшення вмісту в цитоплазмі Кальцію [694]. Збільшення концентрації Ca^{2+} у клітині й активація внутрішньоклітинних процесів здійснюються і завдяки зростанню рівнів катехоламінів та інших гормонів. Кора надниркових залоз інтенсивно продукує кортикостероїди і катехоламіни, а мозковий шар зокрема — дофамін, норадреналін і адреналін. Нами встановлено високий рівень адреналіну та норадреналіну, де мозкова речовина наднирників контрольної групи забарвлена інтенсивніше в порівнянні з дослідними групами (Рисунок 16). А, характеризуючи зміни в дослідних групах тварин, слід відмітити найменшу інтенсивність забарвлення в першій дослідній групі, де як антистресори та ІМД використовували препарат селезінки. Наші дослідження співпадають з даними [349], де показано активацію гіпоталамуса з виділенням адреналіну та норадреналіну перед забоєм корів.

У дослідженнях на кроликах, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, вміст холестеролу становив 7,23±0,50 %, що є вірогідно меншим порівняно з контролем 9,66±1,07 % ($P<0,05$). Невисокий вміст вільного холестеролу, можливо, пояснюється більшим використанням його у синтезі стероїдних гормонів у кроликів контрольної групи. З літературних джерел відомо, що підвищення секреції кортизолу може бути викликане надмірною кількістю холестеролу в крові тварин, який є основним субстратом для синтезу кортикостероїдів, у тому числі і кортизолу. Дієта збагачена високим вмістом холестерину протягом шести місяців призводила до гіперплазії та ожиріння клітин, а також до дистрофічних змін паренхіми наднирників і склерозу судин мозкової речовини, що може свідчити про зниження функціональної активності надниркових залоз та супроводжується зі зниженням рівня кортизолу в крові тварин.

Відносний вміст фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитолу та фосфатидилетаноламіну знизивався у плазмі крові кроликів дослідної групи порівняно з контролем.

Досліджуючи показники ліпідного обміну у плазмі крові кнурців встановлено, що рівень загальних ліпідів, моно- і диацилгліцеролів та НЕЖК дослідної групи був вірогідно нижчим порівняно з тваринами контрольної групи до транспортування на м'ясокомбінат. Рівень триацилгліцеролів у плазмі крові кнурців контрольної групи зріс на 35 % (P<0,05). До транспортування рівень кардіоліпіну у плазмі крові кнурців дослідних груп знизився майже у два рази, тоді як після транспортування та перед забоєм — підвищився майже у чотири рази порівняно з контролем.

Кількість фосфоліпідів у плазмі крові бугайців контрольної групи до транспортування вірогідно зросла на 10 % (P<0,01), натомість, рівень моно- і диацилгліцеролів порівняно з тваринами контрольної групи значно підвищився (P<0,05) у плазмі крові бугайців дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки.

Аналізуючи отримані дані після транспортування на м'ясокомбінат можна говорити, що рівень кардіоліпіну у плазмі крові бугайців дослідної групи знизився майже у чотири рази, а фосфатидилсерину — на 13 % порівняно з контролем, тоді як сфінгоміеліну — підвищився майже на 30 % (P<0,01) порівняно з бугайцями контрольної групи.

Досліджуючи показники ліпідного обміну у плазмі крові курчат-бройлерів перед за умов стресу перед забоєм та при використанні препарату селезінки виявлено вірогідне зниження вмісту фосфатидилхоліну, що вказує на активацію фосфоліпази Д — ензиму, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти [525,526]. Встановлене нами зменшення вмісту фосфатидилхоліну може бути зумовлено також пригніченням його реацилювання.

На відміну від описаних вище фракцій фосфоліпідів, рівень фосфатидилінозитолу знижувався майже вдвічі у плазмі крові курчат-бройлерів

як першої (5,73±2,17; P < 0,01), так і другої дослідної (5,44±2,56; P < 0,01) груп порівняно з курчатами-бройлерами контрольної групи (10,19±3,68). Відомо, що фосфоінозитоли є залученими у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих месенджерів, як диацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота [416]. Виходячи з вищезазначеного, виявлені нами зміни вмісту фосфатидилінозитолу можна пояснити інгібуванням активності фосфоліпази С. Спостерігалася тенденція до зменшення вмісту сфінгоміеліну у плазмі крові курчат-бройлерів контрольної групи, що може бути пов'язане з використанням сфінголіпідів, як сигнальних посередників у біосинтезі кортизолу, що узгоджується з дослідженнями деяких авторів [519].

Гормони й медіатори, впливаючи на відповідні рецептори на мембрані, спричиняють активацію цих процесів за посередництвом вторинних месенджерів, які утворюються в клітині за дії відповідних ензимів, сполучених з рецепторами. Вплив на α1-адренорецептори активує пов'язаний з ними ензим фосфоліпази С, за допомогою якої із фосфоліпіду мембрани фосфатидилінозитолу утворюються вторинні месенджери: діацилгліцерол (ДАГ) і інозитолтрифосфат ($IФ_3$). Глюкокортикоїди, проникаючи у клітину, взаємодіють із внутрішньоклітинними рецепторами стероїдних гормонів і активують генетичний апарат [695].

Наступний адаптивний ефект стрес-реакції полягає у тому, що «стресорні» гормони — катехоламіни, глюкокортикоїди та інші — прямо або опосередковано через відповідні рецептори активують ліпази, фосфоліпази й збільшують інтенсивність вільнорадикального окиснення (ВРО). Це реалізується шляхом підвищення вмісту в клітині Кальцію й активації залежних від нього протеїнкіназ, а також завдяки підвищенню активності залежних від ДАГ і цАМФ протеїнкіназ ПК-С і цАМФ-ПК. У результаті в клітині підвищується вміст вільних жирних кислот, продуктів ВРО, фосфоліпідів. Цей ліпотропний ефект стрес-реакції змінює структурну організацію, фосфоліпідний і жирнокислотний склад ліпідного бішару мембран і тим самим змінює ліпідне оточення мембранозв'язаних функціональних ензимів,

рецепторів, каналів іонного транспорту, іонних помп, локалізованих у мембрані. У результаті міграції фосфоліпідів й утворення лізофосфоліпідів знижується в'язкість і підвищується «плинність» мембрани. Такі зміни збільшують «рухливість» поліпептидних ланцюгів функціональних мембранозв'язаних білків і підвищують їхню активність [699,696,697].

Важливим фактором, що модифікує ліпідний бішар мембран, є процес ВРО ліпідів, який за фізіологічних умов протікає в мембранах клітин усіх без винятку органів. За умов стрес-реакції або введенні катехоламінів доведена активація ВРО у серцевому м'язі, печінці, кісткових м'язах та інших органах. Зокрема, на моделі емоційно-больового стресу показано, що залежно від тривалості стресу активація ВРО може досягати значного рівня, який проявляється збільшенням в два–три рази вмісту гідроперекисів фосфоліпідів, шифових основ та інших продуктів ВРО в міокарді. Важливо підкреслити, що активація ВРО виявлена також у людини за емоційного стресу [25, 26]. В основі модифікаційного впливу ВРО на ліпідний бішар мембран лежать реакція радикалів Оксигену з ненасиченими жирними кислотами фосфоліпідів і утворення у такий спосіб у мембранах полярних гідроперекисів фосфоліпідів [695].

Необхідно зазначити, що підвищення вмісту Ca^{2+}, вільних жирних кислот і активація ВРО стимулюють ензим синтезу оксиду нітрогену NO — NO-синтазу й, таким чином, це супроводжується збільшенням продукції NO. Без сумніву, це має адаптивне значення, тому що сприяє формуванню гіперемії, яка забезпечує збільшення кровотоку в органах, відповідальних за адаптацію. Адаптивне значення ліпотропного ефекту за дії стрес-реакції, мабуть, прявляється тому що цей ефект може швидко оптимізувати активність усіх мембранозв'язаних білків, а отже, функцію клітин і органа в цілому й сприяти таким чином терміновій адаптації організму до дії факторів середовища. Однак, за надмірно тривалої та інтенсивної стрес-реакції посилення саме цього ефекту, тобто надлишкова активація фосфоліпаз, ліпаз і ВРО, може призвести до

пошкодження мембран і набуває ключову роль у перетворенні адаптивного ефекту стрес-реакції в ушкоджуючий [695].

Негативними чинниками за цих умов стають вільні жирні кислоти, що накопичуються у результаті надлишкового гідролізу тригліцеролів ліпазами й під час гідролізу фосфоліпідів фосфоліпазами, а також лізофосфоліпіди, що утворюються у результаті гідролізу фосфоліпідів. Високий рівень жирних кислот підвищує вміст довголанцюгових похідних; ці похідні й лізофосфоліпіди мають як гідрофільну (полярну), так і гідрофобну (неполярну) групи, що дозволяє їм взаємодіяти з фосфоліпідами бішару і з'єднюватися з їхніми молекулами. У результаті змінюється структура бішару мембран. За високих концентрацій з'єднання утворюють міцели, які руйнують мембрану й порушують її цілісність. У підсумку підвищується проникність клітинних мембран для іонів і особливо для Ca^{2+}. Зокрема, показано, що активація фосфоліпази А2 і утворення лізофосфоліпідів за дії катехоламінів на серцевий м'яз викликають підвищення проникності мембран саркоплазматичного ретикулуму кардіоцитів і вихід з нього Ca^{2+}, що призводить до перевантаження цим катіоном саркоплазми й ушкодження клітин. За умов прогресування ВРО все більша кількість ненасичених фосфоліпідів окиснюється й у мембранах збільшується частка насичених фосфоліпідів у мікрооточенні функціональних білків. Подальше накопичення окиснених ненасичених фосфоліпідів призводить до утворення так званих перекисних кластерів, тобто впорядкованих груп фосфоліпідів, між якими утворюються канали іонної провідності, що веде до підвищення проникності, а також руйнування мембран. Фактором, котрий пошкоджує мембрани, також стає надлишок NO, який має токсичну дію [698,699,700], та певним впливом поліамінів на ці процеси [701].

Таким чином, надмірне посилення ліпотропного ефекту стрес-реакції, тобто її «ліпідної тріади» (активації ліпаз і фосфоліпаз, активації ВРО й збільшення кількості вільних жирних кислот) може призводити до пошкодження біомембран, що відіграє ключову роль у порушенні роботи іонних каналів, рецепторів та іонних помп. У результаті адаптивний

ліпотропний ефект за умов стрес-реакції може перетворитися у пошкоджуваний ефект, ліпідна тріада адаптивного ефекту — у ліпідну тріаду пошкодження клітин.

Підсумовуючи характерні зміни ліпідного обміну в тварин та птиці за умов стресу перед забоєм можна зробити висновок, що поліаміни з препарату селезінки, правдоподібно, можуть стабілізувати клітинні мембрани через взаємодію з фосфоліпідами. З іншого боку система розподілу ВЖК в організмі дуже складна і відсутній однозначний механізм підтримки їх стаціонарного рівня у крові. Стрес-реакція чинить на отримані показники незначну дію. Зважаючи на це, можна зробити висновок, що рівень ВЖК не може бути основним доказом, який може характеризує стан тварин за умов дії стресів, що збігається з дослідженнями [702].

Кров є дзеркалом адаптивних процесів, які розвиваються в організмі птиці. Тому ми проводили оцінку співвідношення протеїнових фракцій плазми крові курчат-бройлерів, яким додатково до корму згодовували біологічно активні речовини природного походження.

За багатьох стресових ситуацій у сироватці крові може змінюватися співвідношення протеїнових фракцій, хоча загальний вміст протеїну залишається стабільним. Основна маса білків плазми крові синтезується у печінці — це альбуміни (10–16 г / добу), α-глобуліни, частина β-глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори). У клітинах імунної системи синтезується більша частина β- та γ-глобулінів. Визначення вмісту протеїнових 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) [312]. 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 протеїн-синтезувальної функції печінки [313].

Фракція гамма-глобулінів головним чином складається з імуноглобулінів [703,154, 156]. 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 відмічається за пригнічення 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 [158].

При дослідженнях фракцій крові у курей-несучок [704] та японської перепілки виявлено зниження концентрації глобулінів вже через 30–60 хв. після дії гострого стресового чинника [705,706]. Найбільш детальне вивчення було проведено на горобцях, де показано, що ніяких змін концентрації глобулінів у відповідь на позбавлення їжі не було ні через 1, 2 або 6 годин; лише після 18 годин були помічені відмінності [507].

Особливо багато поліамінів синтезується клітинами передміхурової залози і виділяється з сім’яною рідиною. Нині вважається, що поліаміни сприяють проліферації і диференціюванню та інгібують апоптоз клітин, що, можливо, пов’язано зі здатністю цих сполук взаємодіяти з гуанілатциклазою і підвищувати рівень цГМФ. Але з одного боку поліаміни проявляють антиоксидантну активність, перехоплюючи радикали і сприяючи експресії відповідних протекторних білків за рахунок взаємодії з ДНК, а з іншої — окиснення поліамінів веде до утворення надлишку гідрогену пероксиду, який призводить до розвитку оксидаційного стресу [707].

У процесі декарбоксилювання аргініну утворюється агматин. Недавні дослідження показали, що агматин може бути нейромедіатором: він синтезується в мозку, зберігається у синаптичних везикулах певних нейронів,

вивільняється під час деполяризації, зв'язується α-2-адренорецепторами, блокує NMDA, та інактивується агматиназою. Ще до 1994 р. вважалося, що агматин не може синтезуватися у ссавців, але [708] виявили його в мозку, а [709,710, 711,712] в аорті, селезінці, надниркових залозах, тонкому кишечнику, скелетних м'язах, печінці та нирках, що може вказували на важливу роль цього посередника в метаболізмі поліамінів в різних тканинах.

Використання аргініну призвело до підвищення концентрації поліамінів та довело протизапальні їх властивості на печінку та імуномоделюючу дію на організм атлантичного лосося в цілому [713,714,715] та чорного морського ляща [716], використовуючи додавання додатково протягом п'яти днів амінокислот: аргінін та лізин, які теж є попередниками поліамінів.

Все це говорить про доцільність використання у наших дослідженнях препарату селезінки, яка містить аргінін та поліаміни — Put, Spd та Spm. За умов стресових станів, що супроводжуються дефіцитом ензимів синтезу аргініну, аргінін стає незамінним і обов'язково повинен в необхідних кількостях потрапляти в організм з їжею. Тому ми рекомендували використовувати препарат селезінки, який містить аргіні та поліаміни, які вільно з кров'ю проходять гематоенцефалічний бар'єр.

Як було виявлено в наших дослідженнях, вміст аргініну в грудному м'язі курчат-бройлерів, яким додатково до корму додавали препарат селезінки був більший на 25 % ($P<0,05$), що може вказувати на надмірне використання цієї АК за умов стресу перед забоєм у птиці контрольної групи. Що збігається з дослідженнями, в яких було виявлено, що годівля курчат раціоном з дефіцитом амінокислот, в якому були збільшені концентрації Put, показала, що прирости маси тіла були більші за концентрації Put у раціоні — 0,2 %. Вищі концентрації були токсичними та спричиняли втрату маси тіла курчат [717].

Суміші амінокислот, які містять лейцин використовують у клінічній практиці (для парентерального введення) за стресових станів, оскільки один із метаболітів лейцину пригнічує активність кортизолу [718]. Валін і лейцин мають розгалужений вуглецевий скелет і тому можуть бути використані

м’язовими і нервовими клітинами як джерела енергії, сприяти регенерації м’язових білків, особливо у стані посилееня катаболічних процесів. Особливістю цих амінокислот є їх здатність, не змінюючись, проходити через гематоенцефалічний бар’єр, через те їх використовують у клініці як протишоковий засіб. Показано, що валін і лейцин посилюють проникнення в мозок інших амінокислот, необхідних для синтезу нейромедіаторів, що призводить до поліпшення пам’яті і концентрації уваги [719]. Деякі дослідники вважають, що гальмівна дія похідних валіну і лейцину, ймовірно, пов’язано з їх здатністю активувати процеси захисного гальмування у ЦНС, в результаті чого зменшується психоемоційна напруга щурів у тесті «відкрите поле» і, отже, ці з’єднання мають стрес протекторну дію [720].

Співставляючи концентрацію лейцину у наших дослідженнях можна стверджувати, що в грудному м’язі курчат-бройлерів контрольної групи вона була у півтора рази менша, ніж у курчат-бройлерів дослідної групи (птиця, яка в передзабійний період додатково до раціону отримувала біологічно активні речовини з препарату селезінки).

Однією з амінокислот, яка відіграє важливу роль у діяльності ЦНС, в останні роки набуває таурин. Концентрація таурину в головному мозгу у дітей в чотири рази більша, ніж у дорослих. Таурин розглядать як умовно незамінну амінокислоту, оскільки в деяких періодах онтогенезу в стресових ситуаціях (важкі фізичні і емоційні навантаження, травми, хвороби, період реконвалесценції) потреба у таурині зростає, і виникає, так званий, функціональний дефіцит цієї сполуки [721,722,723]. Вважається, що механізм дії таурину у нейрогіпофізі включає зв’язування ГАМК з гліциновими рецепторами, що стимулює, зокрема вивільнення вазопресину і окситоцину [724]. Відмічена здатність таурину змінювати рівень емоційної збудливості, збільшенням концентрації дофаміну в емоціогенних центрах, зокрема у *nucleus acumbens*, в головному центрі задоволення [725]. Парентеральне введення міченого таурину підтвердило високу проникність цієї АК через гематоенцефалічний бар’єр [726]

Виходячи з того, що для синтезу таурину необхідний метіонін, концентрація якого в грудному м’язі курчат-бройлерів контрольної групи знизилась на 22 % (P<0,05), можна стверджувати про стрес птиці перед забоєм і про можливість його нівелювання поліамінами з препарату селезінки, що ми спостерігали в дослідній групі. Метіонін бере ще й участь у синтезі норадреналіну.

Амінокислота фенілаланін окиснюється до тирозину. Ці дві АК є субстратами для синтезу гормонів: тироксину, адреналіну, норадреналіну. Вміст цих амінокислот в грудному м’язі курчат-бройлерів дослідної групи був більший порівняно з контрольною групою і, зокрема: фенілаланіну — на 17 %, тирозину — на 20 % (P<0,05).

Швидкість синтезу гліцину недостатня у періоди росту і перманентної линьки, тому ця амінокислота для птахів є у числі лімітуючих. У наших дослідженнях встановлено зменшення концентрації гліцину на 18 % (P<0,05) і за умов стресу перед забоєм.

Лізин бере участь у синтезі кадаверину, і в грудному м’язі курчат-бройлерів контрольної групи його вмістбув на 19 % нижчим, що може вказувати на використання цієї АК у синтезі поліамінів за умов стресу. Амінокислота гістидин, правдоподібно, була використана для синтезу гістаміну медіаторами головного мозку, тирозин — для синтезу тираміну, триптофан — триптаміну, лізин — кадаверину, орнітин — путресцину. Наші припущення збігаються з дослідженнями (727).

Оскільки ступінь катаболізму залежить від рівня стресу [728,729], то деякі автори спостерігали збільшення використання АК за умов стресу [730,731], а адаптивний ефект стрес-реакції полягає в мобілізації енергетичних і структурних ресурсів організму, що виражається збільшенням у крові концентрації глюкози, жирних кислот, АК. За умов стрес-реакції, пов’язаної з гострим фізичним навантаженням, особливе значення набуває активація глюкозо-аденілового циклу, яка виникає під впливом

глюкокортикоїдів у м’язах. Цей цикл забезпечує утворення глюкози з амінокислот безпосередньо в м’язовій тканині [732,657].

Розглядаючи можливі механізми психотропної дії поліамінів можна припустити, що ці сполуки, проникаючи через гематоенцефалічний бар’єр, змінюють функціональний стан нейронів, що у свою чергу зрушує баланс збудження-гальмування нервової системи.

Необхідно відмітити, що патогенез тривоги є результатом дисфункції не будь-якої однієї нейромедіаторної системи, а відображає виникнення системного регуляторного дисбалансу різних нейромедіаторів на найрізноманітніших рівнях структурно-функціональної організації: від молекулярного рівня до рівня цілісного мозку [733,734].

У наших дослідженнях в грудному м’язі курчат-бройлерів встановлено більший вміст таких амінокислот: аргініну — на 25 %, лізину — на 19 %, тирозину — на 20 %, фенілаланіну — на 17 %, валіну — на 17 %, проліну — на 17 %, треоніну — на 21 %, аланіну — на 20 %, гліцину — на 18 % , лейцину, ізолейцину — на 18 % та метіоніну — на 22 % порівняно з контрольною групою (Таблиця 3.49). Поряд з тим у курчат-бройлерів, яким додатково до основного раціону вводили препарат селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, встановлено більшу загальну кількість поліамінів у грудному м’язі на 45 % ($P < 0,05$), порівняно з курчатами контрольної групи (Рис. 3.52). Вміст Put становив 1,12±0,42 нмоль/мг тканини ($P < 0,01$), що є вірогідно більшим порівняно з аналогічним показником у курчат-бройлерів контрольної групи (0,39±0,45). Також встановлена вірогідно більша кількість у грудному м’язі сперміну на 45 % ($P < 0,01$) та спермідину порівняно з контролем. Отже, узагальнюючи отримані дані, можна зробити висновок про те, що передзабійни стан птиці відображається на окремих показниках в тканинах курчат-бройлерів і зокрема в грудному м’язі. Відповідно — зменшення концентрації поліамінів та амінокислот в м’язі грудинки курчат-бройлерів можуть впливати на показники імунітету у людей, що встановлено нашими дослідженнями та узгоджується з дослідженнями багатьох авторів [565,566, 111].

На сьогоднішній день є багато критеріїв, за якими визначаються повноцінні та якісні характеристики їжі. Перше місце займає калорійність, вміст макро- і мікронутрієнтів, смакові характеристики і найновіші ознаки — вміст неаліментарних сполук. Поряд з тим увага звертається на присутність у продуктах харчування ГМО, консервантів, барвників тощо. Існує безліч «прогресивних», «правильних» систем харчування, за допомогою яких продукти поділяють на корисні та шкідливі і люди стають вегетаріанцями, сироїдами і т.п. Проте, проблеми здорового способу харчування так і не вирішена.

Якщо повернутися в глибину віків і процитувати відомий вислів Соломона: «Що було, те і буде, і що творилось, те і твориться, і немає нічого нового під Сонцем»[735], то варто звернутися до першоджерел, де вперше згадується про принципи харчування, які турбували людей уже багато століть. Про це розповідають знахідки останніх десятиліть, коли були зроблені перші переклади давніх індійських рукописів, вік яких оцінюється в п’ять тисяч років. Аюрведа — стародавня індійська наука про здоров’я, в якій зосереджені знання з біології, гігієни, медицини та харчування. Правила харчування вперше згадуються у Торі та Біблії: «Но старайся не їсти крові, бо кров є душа; не їж душу разом з м’ясом. Не їж її, щоб було добре тобі і дітям твоїм після тебе…» [736]. «Не вживайте в їжу кров з ніякого тіла, бо душа кожного тіла — це його кров. Кожний, хто її споживає, буде вигублений» [737]. Ніде більше у тексті Тори так наполегливо, з невеликими варіаціями, не повторюється одна і та ж думка. Знову і знову Бог нагадує про те, що душа кожної плоті у крові її, що не тільки євреям категорично заборонено використовувати кров в їжу, і що за цей злочин буде найстрашніше з усіх можливих покарань — знищення душі, «карет».

Слово «кара», правдоподібно, увійшло до нашої мови з івриту при перекладі тексту «Старого Завіту» і походить від слова «карет». Одне лише вимовлення цього слова наводить страх на віруючого єврея, оскільки навряд чи можна уявити собі щось страшніше, ніж знищення Творцем створеної ж Ним

безсмертної за своєю природою людської душі. Від дотримання євреєм цієї заборони залежить не лише його особисте благополуччя, але й майбутнє життя його нащадків. Причиною заборони споживання крові є те, що вона є носієм життєвих сил. У Торі сказано: «Бо в крові — душа». Не викликає сумніву, що духовне і матеріальне пов'язані між собою і їжа, яку споживає людина, впливає на її розумову діяльність та сприйняття світу. Відразу після заборони споживання крові йде заборона інтимних стосунків між найближчими родичами. Це заборони одного і того ж характеру, що стосуються фундаментальних основ нашого всесвіту, підривання якого може призвести до катастрофічних наслідків як для окремої людини, його сім'ї, так і для суспільства в цілому [738].

Надзвичайно строгі вимоги іудаїзм пред'являє до процесу «шхіти» (способу забою тварин у євреїв), яка повинна бути максимально швидкою і повністю безболісною; такою, щоб тварина не зуміла усвідомити, що з нею відбувається, щоб не встигла настрашитись. Талмуд приводить п'ять характерних помилок різника, що можуть зробити «шхіту» некошерною, тобто призвести до того, що прийдеться поховати тушу забитої тварини: 1) шгія — призупинка руху ножа навіть на долю секунди під час процесу «шхіти»; 2) дераса — натиск на ніж вперед і назад замість миттєвого і плавного горизонтального руху; 3) халада — прорізання ножем простору між трахеєю та стравоходом, замість того, щоб плавно перерізати їх; 4) ха-грамма — розтин тканини вище або нижче визначеного для «шхіти» місця розрізу на шиї тварини у ділянці сонної артерії; 5) ікур — наявність зазубрини на лезі ножа, через що ніж не розрізає, а рве тканину і спричиняє страждання тварини [738].

Великий знавець Тори Галахи рабин Моше бен Маймон (Рамбам), що був також одним з найбільш видатних лікарів свого покоління, спробував дати логічне пояснення законам кашрута на медичній основі. Він виходить з принципу, що усе, що Тора забороняє євреям їсти, шкодить здоров'ю, а усе, що Тора дозволяє, не може пошкодити. При цьому повинна дотримуватися умова, що кількість їжі і час її прийому строго визначені. Рамбам доводить, що ознаки

чистоти або нечистоти усіх тварин — зовнішні ознаки, створені для нас, що не знають істинних властивостей різних видів їжі. Слід зазначити, що сучасна медицина признає, що в основах системи Рамбама є дуже багато вірного з медичної точки зору, і використовує його підхід.

Рамбан вважає, що їжа, заборонена Торою, завдає шкоду зовсім не здоров'ю нашого тіла, але здоров'ю душі. Він звертає увагу на те, що більшість птахів, заборонених нам в їжу, — хижі птахи (орел, сокіл, яструб), а ті птахи, які нам дозволені (кури, голуби, гуси, лебеді), навпаки, мають мирний, спокійний характер і не харчуються м'ясом. На думку Рамбана, м'ясо хижих птахів впливає на характер людини, яка її споживає [739].

Правила, аналогічні кашруту, є і в ісламі [740]. *Т*варина, призначена для жертвопринесення або просто в їжу «халяль» (дозволене), повинна утримуватися в гуманних умовах, наближених до природного способу існування, має бути вигодувана природним кормом, не кастрована і не мати істотних дефектів. Сенс заколювання полягає в тому, щоб убити тварину швидким і найлегшим способом.

У науковій літературі є дослідження, в яких звертається увага на методи забою у шхіті та халяль [741] і як це впливає на якісні показники м'яса у худоби, свиней і курчат-бройлерів, а на нашу думку завдяки проведеним дослідженням ми здійснити комплексне підтвердження на біохімічній основі важливості нівелювання стану тварин перед забоєм.

У результаті наших досліджень (табл. 4.54) з'ясовано, що в передзабійний період у крові й тканинах тварин зростає рівень гормонів (кортизолу, адренокортикотропного 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 показників неспецифічного імунітету, зокрема, фагоцитарної активності нейтрофілів крові.

Таблиця 4.54

Узагальнення результатів досліджень

Показники	Щури				Кролики		Кнурці		Бугайці		Курчата-бройлери	
	самки		самці									
	к	п	к	п	к	п	к	п	к	п	к	п
	Гормони											
Кортизол	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑↓	↑↓	↑	↓	↑	↓
Адренокортикотропний гор-н							↑↓	↑↓	↑	↓	↓	↑
Інсулін							↑↓	↑↓			↓	↑
Альдостерон									↑	↓		
Естріол											↑	↓
Естрадіол											↑	↓
Адреналін	↑	↓										
Норадреналін	↑	↓										
	Ензими											
Супероксиддисмутаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Каталаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Аланінамінотрансфераза	↑↓	↑↓			↓	↑					↑	↓
Аспартатамінотрансфераза	↑	↓			↓	↑					↑	↓
Лактатдегідрогеназа	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Лужна фосфатаза	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓								
Клітинна і гуморальна ланка	**Імунітет**											
природної резистентності	↓	↑			↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Функціональна активність Т- і В-лімфоцитів	↑↓	↑↓			↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
Протеїнові фракції	↑↓	↑↓			↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Апоптоз спленоцитів	↑	↓	↑	↑								
	Субстрати											
Фракції ліпідів					↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
ВЖК											↓	↑
Поліаміни											↓	↑
Амінокислоти											↓	↑
Глутатіон											↑	↓

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

Використання розробленого нами препарату селезінки «Сплінактив», який містить біологічно активні речовини природного походження, нівелює передзабійний стрес, знижує рівень апоптозу спленоцитів, підвищує рівень неспецифічного імунітету 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 (Р < 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) (Р < 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 (Р < 0,05). Рівень кортизолу в плазмі крові кроликів дослідної групи, які отримували препарат із селезінки, нижчий на 40 % (Р < 0,05) порівняно з тваринами контрольної групи. Перед забоєм у тварин дослідної групи на 16 % (Р<0,01) зростає фагоцитарна активність клітин крові і на 27 % (Р < 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 адренокортикотропного гормону. Унаслідок застосування препарату селезінки вміст адренокортикотропного 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 фосфатидилінозитолу 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 НТС 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 (енантіостазу) 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:20РР. Загальні технічні умови» у розділі «5.1. Основні показники і характеристики» додатково внести пункт «Визначення складу амінокислот і рівня поліамінів».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1 Briskey E. J. Influence of ante mortem factors of meat quality / E. J. Briskey, J. C. Forrest, M. D. Judge // Z. Tierzuchtung und Zuchtungsbiologie. — 1966. — V. 82, N 3. — P. 298–307

2 Adzitey F. Pale Soft Exudative (PSE) and Dark Firm Dry (DFD) Meats: Causes and measures to reduce these incidences / F. Adzitey, H. Nurul // International Food Research Journal. — 2010. — P. 12–18.

3 Adzitey F. Mini Review : Effect of pre-slaughter animal handling on carcass and meat quality / F. Adzitey // International Food Research Journal. — 2011. — V. 18. — P. 485–491.

4 Effect of Transport on Meat Quality and Animal Welfare of Cattle, Pigs, Sheep, Horses, Deer, and Poultry // Compiled By: Gary C. Smith, Temple Grandin, Ted H. Friend [et all.] — 2004. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.grandin.com/behaviour/effect.of.transport.html

5 Węglarz A. Effect of pre-slaughter housing of different cattle categories on beef quality / A. Węglarz // Animal Science.— 2011.— V. 29, N. 1.— P. 43–52.

6 Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef / N. Mach, A. Bach, A. Velarde, M. Devant // Meat Science. — 2008. — V. 78. — P. 232–238.

7 Лаломова Е. В. Полиморфизм свиней по генам эстрогенового, пролактинового и рианодинового рецепторов : автореф. дисс. … канд. биол. наук: 06.02.01 «разведение, селекция, генетика и воспроизводство с.-х. животных» / Елена Владимировна Лаломова. — п. Лесные Поляны Московской обл., 2007. — 23 с. // Научная библиотека дисс. и автореф. disserCat http://www.dissercat.com/content/polimorfizm-svinei-po-genam-estrogenovogo-prolaktinovogo-i-rianodinovogo-retseptorov#ixzz41xQrU7Qd

8 Кокс Т. Стресс : Пер. с англ. проф. Л. А. Милютиной. — Под. ред. членкора АМН СССР проф. Г. И. Косицкого. — М. : Медицина, 1981. — 216 с.

9 Selye H. A. Syndrome produced by diverse nocuous agents / H. A. Selye. — Nature. — 1936. — Vol. 138, N 32. — P. 34–79.

10 Селье Ганс. Стресс без дистресса / Ганс Селье. — М. : Прогресс, 1982. — 62 с.

11 Каменецкий Д. А. Неврозология и психотерапия / Д. А. Каменецкий // Учебное пособие. — 2000. — С. 215–224.

12 Cox T. Stress / T. Cox // The Macmillan Press LTD. — 1978. — 216 с.

13 Аршавский И. А. Особенности стресса и адаптации в разные возрастные периоды в свете данных негэнтропийной теории онтогенеза / И. А. Аршавский // Нервные и эндокринные механизмы стресса: Сб. науч. тр. — Кишинев : Штиинца, 1980. — С. 3–24.

14 Горизонтов П. Д. Стресс как проблема общей патологи / П. Д. Горизонтов // Весник АМН СССР. — 1979. — №11. — С. 15–21.

15 Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса / Л. Е. Панин. — Новосибирск : Наука, 1983. — 241 с.

16 Меорсон Ф. 3. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. 3. Меорсон, М. Г. Пшенникова. — М.: Медицина, 1988. — 256 с.

17 Ковальчикова М. Адаптация и стресс при содержании и разведении сельскохозяйственных животных / М. Ковальчикова, К. Ковальчик ; под ред. Е. Н. Панова : [пер. со словац.] / Г. Н. Мирошниченко. — М. : Колос, 1978. — 271 с.

18 Кашин А. С. Стресс животных и его фармакологическая регуляція : учебное пособие / А. С. Кашин. — Барнаул, Алт. с.-х. ин-т, 1986. — 88 с.

19 Плященко С. И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С. И. Плященко, В. Т. Сидоров. — М. : Агропромиздат, 1987. — 192 с.

20 Стреси сільськогосподарських тварин і птиці / [В. М. Головач, В. В. Снітинський, Г. В. Аксьонова та ін.]. — К. : «Урожай», 1990. — 143 с.

21 Голиков А. Н. Адаптация сельскохозяйственных животных / А. Н. Голиков. — М. : Агропромиздат, 1985. — 216 с.

22 Ковальчикова М. Адаптация и стресс при содержании и разведении сельскохозяйственных животных / М. Ковальчикова. — М. : Колос, 1986. — 270 с.

23 Никитченко И. Н. Адаптация, стресс и продуктивность сельскохозяйственных животных / И. Н. Никитченко, С. И. Плященко, А. С. Зеньков. — М. : Урожай, 1988. — 107 с.

24 Преображенский Д. И. Стресс и патология размножения сельскохозяйственных животных / Д. И. Преображенский. — М. : Наука, 1993. — С. 22–25.

25 A stress response pathway regulates DNA damage through β2-adrenoreceptors and β-arrestin-1 / R. H. Makoto, J. J. Kovacs, E. J. Whalen [et al.] // Nature. — 2011. — V. 477, N 7364. — P. 349–353. doi:10.1038/nature10368.

26 Балацкий В. Генная диагностика гипертермического синдрома в популяциях свиней разных генотипов / В. Балацкий, Е. Метлицкая, А. Биндюг // Свиноводство. — 2000. — № 6. — С. 8–10.

27 Біндюг О. А. Фізіологічний стан та продуктивність свиней різного рівня стрессхильності : автореф. дис. ... на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» / Олександр Андрійович Біндюг. — Полтавська державна аграрна академія. — Полтава, 2004. — 23 с.

28 Журина Н. В. Разработка ДНК-технологии повышения устойчивости сельскохозяйственных животных к стрессу // Междунар. науч. конференция «Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты», 3–6 декабря 2008 г.: [материалы] / Н. В. Журина, Т. И. Епишко, Л. А. Баранова. — Минск : Центр БГУ, 2008. — С. 185–187.

29 Коваленко В. Ф. Метод визначення схильності свиней до стресів / В. Ф. Коваленко, О. А. Біндюг // Наук.-інф. бюллетень завершених наукових розробок. — 2002. — № 3. — С. 19.

30 Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс, и профилактика / Ф. З. Меерсон. — М. : Наука, 1981. — 82 с.

31 Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations / A. L. Schaefer, P. L. Dubeski, J. L. Aalhus, A. K. W. Tong // J. Anim. Sci. — 2001. — V. 79. — E91–E101.

32 Effect of transport and handling stress on vascular ions in cattle: Response to electrolyte therapy. In: Proc. Soc. Nutr. Physiol. / A. L. Schaefer, R. W. Stanley, A. K. W. Tong, S. D. M. Jones. — Willigen, Germany, 1994. — P. 229.

33 Apple J. K. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism and incidence of dark cutting longissimus muscle of sheep / J. K. Apple, M. E. Dikeman, J. E. Minton [et al.] // J. Anim. Sci. — 1995. — V. 73. — P. 2295–2307.

34 Schaefer A. L. The use of electrolyte solutions for reducing transport stress / A. L. Schaefer, S. D. M. Jones, R. W. Stanley // J. Anim. Sci. — 1997. — V. 75. — P. 258–265.

35 Effect of muscle type and food deprivation for 24h on the composition of the lipid fraction in muscles of large white pigs / X. Fernandez, J. Mourot, A. Mounier, P. Ecolan // Meat Sci. — 1995. — Vol. 41. — P. 335–343.

36 Agmatine: clinical applications after 100 years in translation / J. E. Piletz, F. Aricioglu, J. T. Cheng [et al.] // Drug Discov Today. — 2013. — V. 18, N 17–18. — P. 880–93.

37 Гришин Е. В. Антагонисты глутаматных рецепторов из яда паука Argiope lobata / Е. В. Гришин, Т. М. Волкова, А. С. Арсеньев // Биоорган. Химия. — 1988. — Т. 14, №7. — С. 883–92.

38 Argiopin blocks the glutamate responses and sensorimotor transmission in motoneurones of isolated frog spinal cord / S. M. Antonov, E. V. Grishin, L. G. Magazanik [et al.] // Neurosci Lett. — 1987. — V. 83, N 1–2. — P. 179–84.

39 Complex rectification of Muller cell Kir currents / Y. V. Kucheryavykh, Y. M. Shuba, Antonov S. M. [et al.] // Glia. — 2008. — V. 56. — P. 775–90.

40 Williams K. Modulation and block of ion channels: a new biology of polyamines / K. Williams // Cell Signal. — 1997. — V. 9. — P. 1–13.

41 Ahern G. P. Polyamines are potent ligands for the capsaicin receptor TRPV1 / G. P. Ahern, X. Wang, R. L. Miyares // J Biol Chem. — 2006. — V. 281. — P. 8991–5.

42 Gilad G. M. The course of putrescine immunocytochemical appearance in neurons, astroglia and microglia in rat brain cultures / G. M. Gilad, K. Balakrishnan, V. H. Gilad // Neurosci Lett. — 1999. — V. 268. — P. 33–36.

43 Spermine/spermidine is expressed by retinal glial (Muller) cells, and controls distinct K1 channels of their membrane / B. Biedermann, S. N. Skatchkov, A. Bringmann [et al.] // Glia. — 1998. — V. 23.— P. 209–220.

44 Blockade of calcium-permeable AMPA receptors protects hippocampal neurons against global ischemia-induced death / K. M. Noh, H. Yokota, T. Mashiko [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2005. — V. 102.— P.12230–5.

45 Burnashev N. Dynamic modulation of AMPA receptor mediated synaptic transmission by polyamines in principal neurons. Focus on polyamines modulate AMPA receptor-dependent synaptic response in immature layer V pyramidal neurons / N. Burnashev // J Neurophysiol. — 2005. — V. 93. — P. 2371–86.

46 Polyamine-rich food decreases ageassociated pathology and mortality in aged mice / K. Soda, Y. Dobashi, Y. Kano [et al.] // Exp Gerontol. — 2009. — V. 44, N 11. — P. 727–732.

47 Increased polyamine intake inhibits ageassociated alteration in global DNA methylation and 1,2-dimethylhydrazineinduced tumorigenesis / K. Soda, Y. Kano, F. Chiba [et al.] // PLoS One. — 2013. — V. 8, № 5. — P. e64357. DOI: 10.1371/journal.pone.0064357.

48 Altered arginine metabolism in Alzheimer’s disease brains / P. Liu, M. S. Fleete, Y. Jing [et al.] // Neurobiol Aging. — 2014. — V. 35, N 9. — P. 1992–2003.

49 Skatchkov S. N. The role of glia in stress: polyamines and brain disorders / S. N. Skatchkov, M. A. Woodbury-Fariña, M. Eaton // Psychiatric Clinics of North America. — 2014. — V. 37, N 4. — P. 653–678.

50 Wallace H. M. The polyamines: past, present and future / H. M. Wallace // Essays Biochem. — 2009. — V. 46. — P. 1–9.

51 Spermidine synthase is prominently expressed in the striatal patch compartment and in putative interneurons of matrix compartments // M. Krauss, K. Langnaese, K. Richter [et al.] // J Neurochem. — 2006. — V. 1. — P. 174–189.

52 Parkinson's disease-associated human P5B-ATPase ATP13A2 increases spermidine uptake / D. P. De La Hera, G. R. Corradi, H. P. Adamo [et al.] // Biochem J. — 2013. — V. 450, N 1. — P. 47–53.

53 Polyamine uptake is necessary for a normal biochemical maturation of astrocytes in culture / J. Dot, N. Danchev, I. Blanco [et al.] // Neuroreport. — 2002. — V. 13. — P. 1083–7.

54 Characteristics of putrescine uptake and subsequent GABA formation in primary cultured astrocytes from normal C57BL/6J and epileptic DBA/2J mouse brain cortices / J. Laschet, T. Grisar, M. Bureau [et al.] // Neuroscience. — 1992. — V. 48. — P. 151–7.

55 Valentino T. L. Immunocytochemical localization of polyamines in tiger salamander retina / T. L. Valentino, P. D. Lukasiewicz, C. Romano // Brain Res. — 1996. — V. 713. — P. 278–285.

56 Poulin R. Recent advances in the molecular biology of metazoan polyamine transport / R. Poulin, R. A. Casero, D. Soulet // Amino Acids. — 2012. — V. 42, N 2–3. — P. 711–23.

57 The glial perspective of autism spectrum disorders / F. Zeidán-Chuliá, A. B. Salmina, N. A. Malinovskaya [et al.] // Neurosci Biobehav Rev. — 2014. — V. 38. — P. 160–72.

58 Seitz R. The role of Muller glia and microglia in glaucoma / R. Seitz, A. Ohlmann, E. R. Tamm // Cell Tissue Res. — 2013. — V. 353, N 2. — P. 339–345.

59 Verkhratsky A. Astroglia in neurological diseases / A. Verkhratsky, J. J. Rodríguez, V. Parpura // Future Neurol. — 2013. — V. 8, N 2. — P. 149–158.

60 Effect of polyamine depletion on cone photoreceptors of the developing rabbit retina / C. Withrow, S. Ashraf, T. O'Leary [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2002. — V. 43. — P. 3081–90.

61 Animal disease models generated by genetic engineering of polyamine metabolism / J. Janne, L. Alhonen, T. A. Keinanen [et al.] // J Cell Mol Med. — 2005. — V. 9. — P. 865–882.

62 Polyamine transport by the polyspecific organic cation transporters OCT1, OCT2 and OCT3 / M. Sala-Rabanal, D. C. Li, M. Inyushin [et al.] //Mol Pharm. — 2013. — V. 10, N 4.— P. 1450–8.

63 Perea G. Astrocytes potentiate transmitter release at single hippocampal synapses / G. Perea, A. Araque // Science. — 2007. — V. 317, P. 1083–6.

64 Sexual dimorphism of ornithine decarboxylase in the mouse adrenal: influence of polyamine deprivation on catecholamine and corticoid levels / C. M. Bastida, A. Cremades, M. T. Castells [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2007. — V. 292. — E1010–E1017. DOI: 10.1152/ajpendo.00316.2006

65 Spermine and philanthotoxin potentiate excitatory amino acid responses of *Xenopus* oocytes injected with rat and chick brain RNA / P. Brackley, R. Jr. Goodnow, K. Nakanishi [et al.] // Neurosci. Lett. — 1990. — V. 114. — P. 51–56.

66 Reis D. J. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? / D. J. Reis, S. Regunathan // Trends Pharmacol. Sci. — 2000. — V. 21. — P. 187–193.

67 Gupta N. Behavioral and neurochemical effects of acute putrescine depletion by difluoromethylornithine in rats / N. Gupta, H. Zhang, P. Liu // Neuroscience. — 2009. — V. 161. — P. 691–706.

68 Shopsin B. The clinical antidepressant effect of exogenous agmatine is not reversed by parachlorophenylalanine: a pilot study / B. Shopsin // Acta Neuropsychiatr. — 2013. — V. 25. — P. 113–118.

69 Ластухін Ю. О. Хімія природних органічних сполук: Навч. Посібник / Ю. О. Ластухін. — Львів: Національний університет «Львівська політехніка», «Інтелект-Захід», 2005. — 560 с.

70 Горшкова Т. В. Аденилат и гуанилатциклазная система надпочечников в норме и при патологии: автореф. дис.... канд. биол. наук: спец. 03.00.04: «биохимия» / Татьяна Викторовна Горшкова. — М., 1988. — 24 с.

71 Безверхая Т. П. Содержание и соотношение кортизола и кортикостерона в крови больных сахарным диабетом / Т. П. Безверхая // Проблемы эндокринологии. — 1972. — № 1. — С. 46–48.

72 Kingston M. E. Diabetes mellitus in chronic active hepatitis and cirrhosis / M. E. Kingston, A. M. Ashaf, R. I. Donneli // Gastroenterology. — 1984. — № 87. — P. 688–694.

73 Акмаев И. Г. Современные представления и взаимодействия регулирующих систем: нервной, эндокринной и имунной / И. Г. Акмаев // Успехи физиол. наук. — 1996. — Т. 26, № 1. — С. 3–20.

74 Палюк П. М. Сахарный диабет / П. М. Палюк // Физиологический журнал. — 1990. — Т. 36, № 1. — С. 113–121.

75 Джериева И. С. Надпочечниковая недостаточность (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение) : методическое пособие для врачей / И. С. Джериева. — М., 2000. — 24 с.

76 Фреймане Т. Х. Биохимические исследования функционального состояния коры надпочечников при диабете: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.04 — «биохимия» / Т. Х. Фреймане — Рига, 1968. — 22 с.

77 Nerup I. On the pathogenesis of IDDM / I. Nerup, T. Mandrup-Poulsen // Diabetologia. — 1994. — № 37. — P. 82–89.

78 Нассонов Е. Л. Остеопороз при ревматических заболеваниях. Роль глюкокортикоидов / Е. Л. Нассонов, И. А. Скрипникова // Клиническая медицина. — 1997. — № 5. — С. 10–11.

79 Сміян С. І. Клініко-фармакологічні аспекти впливу лікувальних програм на стан кісткової тканини у хворих з ревматичними захворюваннями суглобів // Укр. науково-практична конференція «Сучасні проблеми кардіології та ревматології — від гіпотез до фактів»: [матеріали] / С. І. Сміян — Київ, 2001. — С. 166–167.

80 Рябухин И. Я. Глюкокортикоиды в комплексном лечении гнойных хирургических заболеваний / И. Я. Рябухин, Ю. И. Калиш, Б. А. Угаров, А. Х. Янгиев ; под ред. В. В. Вахидова. — Т. : Медицина, 1979. — 168 с.

81 Абрамчик Г. В. К вопросу о глюкокортикоидной функции коры надпочечников у больных рассеяным склерозом / Г. В. Абрамчик // Доклады Академии наук БССР. — 1965. — Т. 9, № 3. — С. 205–207.

82 Функциональное состояние коры надпочечников у больных рассеяным склерозом / А. Н. Иваноков, Е. Б. Боголюбова, Ф. Г. Дукарский [и др.] // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 1983. — Т. 83, № 4. — С. 543–548.

83 Batterworth F. M. Fluctuation of plasma cortisol levels in multiple sclerosis / F. M. Batterworth, G. E. Pistow, E. Collarini // Canadian Journal of Neurological Sciences. — 1979. — V. 6, № 1. — P. 59–63.

84 Multiple sclerosis is associated with alterations in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function / D. Michelson, L. Stone, E. Galliven [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. — 1994. — V. 79, N 3. — P. 848–853.

85 Давыдов В. Б. Ветеринарная медицина. Остеоартрозы у собак: аспекты этиологии, патогенеза, диф. диагноза и лечения // Давыдов В. Б. — Ветеринарный центр при МГАВМ и Б им. К. И. Скрябина. — 2006. — 13 с.

86 Гараева О. Характер изменения содержания свободных аминокислот в крови и моче у спортсменов-плавцов при стрессе : дисс. … канд. биол. наук : 03.00.13 «физиология человека и животных» / Гараева Ольга. — Кишинэу. — 2008. — 24 с.

87 Невоя А. Модифікації вільних амінокислот у щурів різного віку під дією різних стресогенних факторів : дис. … д-ра біол. наук: 03.00.13 «фізіологія людини і тварин» / Невоя Анжела. — Кишинів, 2007. — 326 с.

88 Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age / A. A. Mendes, S. E. Watkins, J. A. England [et al.] // Poultry Science. — 1997. — V. 76. — P. 472–481.

89 Effects of ambient temperature, arginine-to-lysine ratio, and electrolyte balance on performance, carcass, and blood parameters in commercial male turkeys / T. Veldkamp, R. P. Kwakkel, P. R. Ferket [et al.] // Poultry Science. — 2000b. — V. 79. — P. 1608–1616.

90 Аргинин в медицинской практике (Обзор литературы) / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина, А. Ю. Филиппова // Журн. АМН України. — 2004. — Т. 10, № 2. — С. 339–351.

91 Sidney M. M. Jr. Enzymes of Arginine Metabolism // J. Nutr. — 2004. — V. 134, N 10. — P. 2743S–2747S.

92 Воронина Н.П. Функциональная активность разных классов макрофагов при стрессе / Н. П. Воронина // Сб. научн. тр.: Моделирование и клиническая характеристика фагоцитарных реакций. — Горький, 1989. — С. 15–21.

93 Прояв індивідуальної реактивності щурів у пострадіаційній депресії лейкопоезу / І. П. Москаленко, Н. А. Никифорова, І. М. Лозінська [та ін.] // Український радіологічний журнал. — 1995. — № 3. — С. 256–260.

94 Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations / J. P. Edwards, X. Zhang, K. A. Frauwirth, D. M. Mosser // J. Leukoc. Biol. — 2006. — V. 80, № 6. — P. 1298–1307.

95 Васильева Г. И. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами / Г. И. Васильева, И. А. Иванова // Иммунология. — 2000. — № 5. — С. 11–17.

96 Vitko-Sarsat V. Neutrophils: molecules, functions and pathophisiological aspects / V. Vitko-Sarsat, P. Rieu // Labor. Investig. — 2000. — V. 80. — P. 617–653.

97 Плехова Н. Г. Бактерицидная активность фагоцитов / Н. Г. Плехова // ЖМЭИ.— 2006. — № 6. — С. 89–96.

98 Герасимов И. Г. Функциональная неоднородность нейтрофилов / И. Г. Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 2. — С. 34–36.

99 Labro M. T. Interference of antibacterial agents with phagocyte functions. Immunomodulation or «Immunofairy» tales / M. T. Labro // Clin. Microbiol. Rev. — 2000. — V. 13. — P. 615–650.

100 Маянский А. Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А. Н. Маянский // Казань : Магариф. — 1993. — 122 с.

101 Swanson J. A. A contractile activity that closes phagosomes in macrophages / J. A. Swanson // J. Cell Sci. — 1999. — V. 112. — P. 307–316.

102 Werner E. GT Pases and reactive oxygen species: switches for killing and signaling / E. Werner // J. Cell Sci. — 2004. — V. 117. — P. 143–153.

103 Маслянко Р. П. Функціональна активність нейтрофільних гранулоцитів у протиінфекційному захисті тварин / Р. П. Маслянко, Ю. Р. Кравців // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ. — 2007. — Т. 9, № 33. — С. 185–193.

104 Хаитов Р. М. Современные представления о защите организма против инфекции / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2005. — № 1. — С. 61–64.

105 Долгушин И. И. Регуляторные пептиды нейтрофилов (нейтрофилотоксины) / И. И. Долгушин, А. В. Зурочка, А. В. Чукичева // Иммунология. — 1995. — № 4. — С. 40–45.

106 Маянский А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. И. Моянский. — Новосибирск: Наука, 1989. — 254 с.

107 Блиндар В. М. Функциональная характеристика зрелых нейтрофилов крови болных хроническим миеолейкозом / В. М. Блиндар, Г. Н. Зубрахина,

И. Н. Михайлова // Гематология и трансфузиология. — 2002. — №2. — С. 13–16.

108 Васильева Г. И. Влияние нейтрофилотоксинов на фагоцитарную активность нейтрофилов при первичном и вторичном иммунном ответе / Г. И. Васильева, А. К. Кисельова, Л. М. Веркина // Биотехнология. — 1998. — № 3. — С. 3–9.

109 Minois N. Polyamines in aging and disease / N. Minois, D. Carmona-Gutierrez, F. Madeo // Aging (Albany NY). — 2011. — Vol. 3, N 8. — С. 1–16.

110 Zhao A. Cathcari protein-kinase C regulates p 67-phox phosphorylation in human monocytes / A. Zhao, B. Hu // Leukocyte Biology. — 2005. — V. 77. — P. 414–420.

111 Effects of polyamines on cellular innate immune response and the expression of immune-relevant genes in gilthead seabream leucocytes / M. Reyes-Becerril, F. Ascencio-Valle, D. Tovar-Ramнrez [et al.] // Fish Shellfish Immunol. — 2010. — V. 30. — P. 248–254.

112 Хаитов Р. М. Оценка основных этапов фагоцитарного процесса. Современные подходы и перспективы развития исследований / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1995. — № 9. — С. 1–10.

113 Дорошенко Б. П. Влияние нейтрофилокининов на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов и их функциональную активность в процессе формирования иммунитета против чумы / Б. П. Дорошенко, Г. И. Васильева // ЖМЭИ. — 2009. — № 1. — С. 52–55.

114 Долгушин И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин. — Екатеринбург : УрОРАН, 2001. — 290 с.

115 Олиферун С. Н. Очерки фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов и незрелых дентритных клеток / С. Н. Олиферун, А. Н. Илинская // Иммунология. — 2005. — № 1. — С. 10–12.

116 Bey E. A. Protein kinase C is required for p 47 phosphorylation and translocation in activated human monocytes / E. A. Bey, B. Xu // J. Immunol. —2004. — V. 173. — P. 5730–5738.

117 Маслянко Р. П. Сучасний стан вчення про фагоцитоз / Р. П. Маслянко // Науковий вісник ЛНАВМ. — 2005. — Т. 7, № 2. — С. 71–77.

118 Flotillin-dependent endocytosis and a phagocytosis-like mechanism for cellular internalization of disulfide-based poly(amido amine)/DNA polyplexes / D. Vercauteren, M. Piest, L. J. van der Aa [et al.] // Biomaterials. — 2011. — V. 32, N 11. — P. 3072–84. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010. 12.045.

119 Швыдченко И. Н. Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов / И. Н. Швыдченко, И. В. Нестерова, Е. Ю. Синельникова // Иммунология. — 2005. — № 1. — С. 31–39.

120 Batandier C. Determination of mitochondrial reactive oxygen species: methodological aspects / C. Batandier, E. Fontaine // J. Cell Mol. Med. — 2002. — V. 6. — P. 175–187.

121 Klebanoff S. J. Myeloperoxidase friend and foc / S. J. Klebanoff // Leukoc. Biol. — 2005. — V. 77. — P. 598–625.

122 Третякова И. Е. Состояние секреторной активности нейтрофилов в норме и условиях гнойного раневого процесса / И. Е. Третякова, И. И. Долгушин // Иммунология. — 2004. — № 5. — С. 260–263.

123 Хараева З. Ф. Изучение механизма активирующего действие препарата «суперлимф» на нейтрофилы больных инфекционными заболеваниями / З. Ф. Хараева, Л. В. Ковальчук // Иммунология. — 2003. — № 2. — С. 86–89.

124 Polyamine biosynthesis and transport mechanisms are crucial for fitness and pathogenesis of Streptococcus pneumonia / P. Shah, B. Nanduri, E. Swiatlo [et al.] // Microbiol. — 2011. — V. 157. — P. 504–515.

125 Pabst M. J. Priming of neutrophils / M. J. Pabst // London, Academic Press. — 1994. — P. 195–221.

126 Babior B. Investigating antibody — catalyzed ozone generation by human neutrophils / B. Babior, C. Takenchi, J. Ruedi // Proc. Natl. Acad. Sci., USA. — 2003. — V. 100. — P. 3031–3034.

127 Тутельян А. В. Прайминг фагоцитов и его применение в системе оценки специфической активности иммунорегуляторных соединений / А. В. Тутельян // Иммунология. — 2004. — № 4. — С. 14–16.

128 Дорошенко Б. П. Влияние нейтрофилотоксинов на синтез лимфокинов в процессе формирования противочумного иммунитета / Б. П. Дорошенко, Г. И. Васильева, А. К. Кисельова // ЖМЭИ. — 2005. — № 1. — С. 61–65.

129 Scott Z. K. Global changes in gene expression by human polymorphonuclear leukocytes during receptor-mediated phagocytosis. Cell fate is regulated at the level of gene expression / Z. K. Scott, I. M. Voyick // PNAS. — 2002. — V. 99. — P. 6901–6906.

130 Карсонова М. И. Определение переваривающей способности лейкоцитов периферической крови человека с помощью радиометрического метода / М. И. Карсонова, Д. В. Мазуров // Иммунология. — 2001. — № 1, С. 59–60.

131 Цой О. Г. Механизм нарушения фагоцитарной активности лейкоцитов при острых гнойных хирургических заболеваниях / О. Г. Цой, Д. К. Туребаев, Е. А. Тайгулов // Аллергология и иммунология. — 2003. — № 2. — С. 150.

132 Aloe-emodin as antiproliferative and differentiating agent on human U937 monoblastic leukemia cells / C. Tabolacci, S. Oliverio, A. Lentini [et al.] // Life Sci. — 2011. — V. 89, N 21–22. — P. 812–20. doi: 10.1016/j.lfs.2011.09.008.

133 Levitz S. M. Inhibition and killing of fungi by the polyamine oxidase-polyamine system. Antifungal activity of the PAO-polyamine system. Antonie van Leeuwenhoek / S. M. Levitz, D. J. DiBenedetto, R. D. Diamond // Journal of Clinical Microbiology. — 1990. — V. 58, N 2. — P. 107–14.

134 Романюк С. І. Імунітет: що змушує його працювати? / С. І. Романюк, С. В. Комісаренко // Вісник Національної академії наук. — 2012. — № 1. — С. 49–54.

135 Чернушенко Е. Ф. Местный иммунитет: диагностика его нарушений и возможности коррекции / Е. Ф. Чернушенко // Мистецтво лікування. — 2007. — Вип. 7, № 43. — С. 61–67.

136 Herbert T. B. Stress and immunity in humans: a meta-analytic review / T. B. Herbert, C. Sheldon // Psychosomatic medicine. — 1993. — V. 55, N 4. — P. 364–379.

137 Кузьменко О. В. Добові ритми показників імунної системи щурів і радіочутливість / О. В. Кузьменко // Експериментальна і клінічна медицина. — 2011. — Вип. 1, № 50. — С. 132–141.

138 Киселёва Н. М. Стресс и лимфоциты. / Н. М. Киселёва, Л. Г. Кузьменко, М. М. Нкане Нкоза // Педиатрия. — 2012. — Вып. 91, № 1. — С. 137–143.

139 T lymphocytes and vascular inflammation contribute to stress-dependent hypertension / P. J. Marvar, A. Vinh, S. Thabet [et al.] // Biological psychiatry. — 2012. — V. 71, N 9. — P. 774–782.

140 Roitt I. Essential immunology / I. Roitt. — Oxford: Blackwell Scientific Publicatione. — 2001. — 438 p.

141 Салига Н. Т- і В-клітинний імунітет за умов введення L-глутамінової кислоти / Н. Салига // Вісник Львівського університету. Серія біологія. — 2012. — Вип. 58. — С. 80–84.

142 Preferential Cell Death of $CD8^+$ Effector Memory ($CCR7^-$ $CD45RA^-$) T Cells by Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress / A. Takahashi, M. G. V. Hanson, H. R. Norell [et al.] // The Journal of Immunology. — 2005. — V. 174. — P. 6080–6087.

143 Вплив каротиновмісної біомаси дріжджів та β-каротину на склад мікрофлори та імунний статус щурів / М. В. Камінська, Г. І. Нечай, Н. І. Цепко, Г. В. Колісник // Біологія тварин. — 2008. — Т. 10, № 1–2. — С. 261–265.

144 Нежинская Г. И. Роль стимуляции В-лимфоцитов в профилактике стресс-индуцированных язв желудка у крыс линии вистар / Г. И. Нежинская, Н. Н. Петрова // Цитокины и воспаление. — 2006. — Т. 5, № 1. — С. 34–36.

145 Маслянко Р. П. Сучасні уявлення про фагоцитоз / Р. П. Маслянко, С. С. Грабовський, О. С. Грабовська // Біологія тварин. — 2013. — Т. 15, № 3. — С. 63–69.

146 De Benedette M. Expression of polyamine transporter activity during B-lymphocyte cell cycle progression / M. De Benedette, J. W. Olson, E. C. Snow // The Journal of Immunology. — 1993. — V. 150, N 10. — P. 4218–4224.

147 Reeder D. M. Stress in free-ranging mammals:integrating physiology, ecology, and natural history / D. M. Reeder, K. M. Kramer // J. Mammal. — 2005. — V. 86. — P. 225–235.

148 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.

149 Грабовський С. С. Вміст кобальту і цинку в окремих органах і тканинах благородного оленя / С. С. Грабовський // Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. — 2009. — Вип. 10, № 1–2. — С. 36–40.

150 Грибанова О. Г. Возрастная динамика морфометрических показателей коркового вещества надпочечников пятнистого оленя / О. Г. Грибанова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2013. — Т. 8, № 106. — С. 89–93.

151 Овчаренко Н. Д. Морфологические и гистохимические показатели мозгового вещества надпочечников марала в разные периоды постнатального развития / Н. Д. Овчаренко, О. Г. Сидорова // Матер. Междунар. науч. конф. «Актуальные вопросы морфологии 21 века». Морфология. — Оренбург: Издательский центр ОГАУ. — 2001. — Т. 1. — С. 233–236.

152 Грибанова О. Г. Динамика морфофункциональной активности надпочечников самцов маралов в течение годового цикла // Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий: матер. Междунар.научно-практ. конф. : Горно-Алтайск: РИОГАГУ. — 2007. — С. 130–138.

153 Сидорова О. Г. К вопросу о видовых особенностях морфологии щитовидной железы и надпочечников марала / О. Г. Сидорова, О. Е. Власова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2003. — № 1. — С. 137–139.

154 Kaneko J. J. Serum proteins and the Dysproteinemias. In: Clinical biochemistry of domestic animals / J. J. Kaneko ; 5th Ed. Academic Press, London, UK, 1997. — P. 117–138.

155 Piccione G. Changes in serum total proteins, protein fractions and albumin-globulin ratio during neonatal period in goat kids and their mothers after parturition / G. Piccione, S. Sciano, V. Messina // Annals of Animal Science. — 2011. — V. 11, N 2. — P. 251–260.

156 Thrall M. A. Laboratory evaluation of plasma and serum proteins. In: Veterinary hematology and clinical chemistry. (Ed.) Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. — 2004. — P. 401–415.

157 Sanandam M. R. Impact of endotoxin on physiological responses of rat exposed to textile environment / M. R. Sanandam // International J. Pharmaceutical Applications. — 2011. — V. 2, is. 3. — P. 155–158.

158 Клімова О. Зміна співвідношення протеїнових фракцій сироватки крові у експериментальних тварин різного віку після імунізації цитотоксичною сироваткою хворих з аутоімунним захворюванням — міастенією / О. Клімова, О. Звягінцева, А. Малишев // Вісник Львівського університету. Серія біологія. — 2011. — Вип. 55. — С. 27–33.

159 Total serum protein and protein fractions in depression: relationships to depressive symptoms and glucocorticoid activity / M. Maes, A. Wauters, H. Neels [et al.] // J. Affective Disorders. — 1995. — V. 34, N 1. — P. 61–69.

160 Гунчак А. В. Склад мікрофлори сліпих кишок та показники клітинного імунітету у курчат-бройлерів за дії фітопрепарату / А. В. Гунчак, І. Б. Ратич, М. В. Камінська // Біологія тварин. — 2012. — Т. 14, № 1–2. — С. 518–523.

161 Булгакова О. С. Иммунитет и различные стадии стрессорного воздействия / О. С. Булгакова // Успехи современного естествознания. — 2011. — № 4. — С. 31–35.

162 Сапин М. Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. — М. : Джангар, 2000. — 184 с.

163 Mukesh S. Management of anxiety induced acral lick dermatitis in dogs / S. Mukesh, S. Ashish // Journal of Canine Development and Research. — 2011. — V. 7. — P. 58–60.

164 Корнева Е. А. О взаимодействии нервной и иммунной систем / Е. А. Корнева // Иммунология. — СПб. : Наука, 1993. — С. 7–9.

165 Волчегорский И. А. Роль иммунной системы в выборе адаптационной стратегии организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников. — Челябинск : Наука, 1998. — 128 с.

166 Ибрагимова Л. Л. Применение гомеопатического препарата «фоспасим» для повышения адаптационной способности кроликов при транспортировке / Л. Л. Ибрагимова, Э. Р. Исмагилова // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 8–2. — С. 376–379.

167 Вишневская Т. Я. Анализ гематологических показателей у кроликов в условиях стресса и его иммунокоррекции / Т. Я. Вишневская // Инновационному развитию АПК и аграрному образованию — научное обеспечение: матер. Всеросс. научн.-практ. конф. В 3-х т. — Т. 2 / ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА. — Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2012. — С. 10–15.

168 Щасний Д. А. Вплив тканинних препаратів В. П. Філатова на захисні функції і стійкість організму до інфекцій : автореф. … докт. мед. наук : 03.00.07 «мікробіологія» / Д. А. Щасний. — Одеса, 1962. — 42 с.

169 Шилейко В. А. Застосування нових біогенних стимуляторів в комплексному лікуванні запальних захворювань жіночих статевих органів / В. А. Шилейко, А. А. Зелінський. В кн. : Профілактика і лікування захворювань сільськогосподарських тварин. — Одеса, 1972. — С. 219–221.

170 Тараненко М. І. Комплексне лікування експериментального туберкульозу хіміопрепаратами у поєднанні із стимулюючою терапією / М. І. Тараненко. — В кн. : Матеріали по обміну науковою інформацією. — К., 1956. — С. 51–54.

171 Воронцов І. М. Досвід використання тканинної терапії ампульними препаратами у випадках раку / І. М. Воронцов // Матеріали наук. конф., присвяченої 80-річчю методу тканинної терапії за В. П. Філатовим. — К., 1963. — С. 32–33.

172 Манукян М. А. До оцінки лікувального використання біостимуляторів у відновлювальному періоді поліомієліту / М. А. Манукян // Лікарська справа. — 1963. — № 2. — С. 109–114.

173 Чеботарьов Д. Ф. Динаміка функціонального стану серцево-судинної системи в людей старшого віку під впливом курсу лікування суспензією плаценти / Д. Ф. Чеботарьов, О. В. Коркушко, В. П. Штанько, Є. Г. Калиновська. — В кн. : Лікарська терапія в літньому і старечому віці. — К., 1968. — С. 504–511.

174 Гончаренко С. Н. Метод тканинної терапії і довголіття / С. Н. Гончаренко. — У кн. : Діалектико-матеріалістичний аналіз основних методів досліджень в біології і медицині. — К., 1973. — С. 274–282.

175 Сотникова Е. П. Традиционные основы и перспективы развития тканевой терапии / Е. П. Сотникова // Експериментальна і клінічна фармація. — 2007. — № 1. — С. 15–19.

176 Сотникова Е. П. Адаптация и биогенные стимуляторы по В. П. Филатову / Е. П. Сотникова // Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині: Наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 17–18 вер. 2003 р. — Одеса : Астропринт, 2003. — С. 7–9.

177 Савицький В. І. Вплив деяких тканинних препаратів на активність аспартатамінотрансферази і аланінамінотрансферази в організмі тварини

/ В. І. Савицький // Матеріали наук. конф., присвяченої 30-річчю методу тканинної терапії. — К. — 1963. — С. 54–55.

178 Сотникова Е. П. Адаптационное действие биогенных стимуляторов по В. П. Филатову / Е. П. Сотникова // Вісник Вінницького нац. мед. ун-ту. Актуальні питання фармакології : Конф., присвяч. 70-річчю кафедри фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 26–27 жовтня 2007 р., Вінниця. — 2007. — № 11(2/2). — С. 804–806.

179 Макаров М. А. Про вплив тканинних препаратів на тканинні залози і склад води в організмі / М. А. Макаров, Т. В. Артемова. — У кн. : Використання тканинних препаратів в тваринництві і ветеринарії. — К., 1966. — С. 140–147.

180 Нікітін В. І. Особливості обміну речовин / В. І. Нікітін. — У кн. : Основи геронтології. — М., 1969. — С. 81–93.

181 Калашник И. А. Стимулирующая терапия в ветеринарии / И. А. Калашник. — К. : Урожай, 1990. — С. 50–95.

182 Хомин С. П. Гормонально-витаминная терапия нарушений функции яичников у коров и телок: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.07 «ветеринарне акушерство» / Степан Петрович Хомин. — Львов, СВИ. — 1965. — 19 с.

183 Ревунець А. С. Застосування біологічно активних речовин при різних формах дисфункції яєчників у корів-первісток / А. С. Ревунець // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького. — 2010. — Т. 12. — № 2(44), Ч. 1. — С. 262–267.

184 Ревунець А. С. Вплив біотичних та абіотичних факторів зовнішнього середовища на відтворювальну здатність корів-первісток / А. С. Ревунець, О. Ф. Волинець, О. В. Михайлівська // Вісник державного агроекологічного ун-ту. — 2008. — Т. 1, № 2 (23). — С. 111−115.

185 Афанасієва Л. П. Морфо-функціональний стан та корекція проникності плацентарного бар’єру у корів : автореф. дис. … канд. вет. наук:

16.00.07 «Ветеринарне акушерство» / Людмила Павлівна Афанасієва. — Львів, 2009. — 20 с.

186 Калашник І. О. Вплив дози тканинних препаратів на реактивність організму свиней при відгодівлі / І. О. Калашник, В. В. Кирилін // Ветеринарія. — 1968. — № 19. — С. 45−53.

187 Паращенко І. В. Відтворна функція телиць різних порід та методи її корекції : дис. … канд. с.-г. наук: 16.00.07 «Ветеринарне акушерство» / Паращенко Ірина Вікторівна : Львівська держ. академія вет. медицини ім.С. З. Гжицького. — Львів, 2003. — 211 с.

188 Голбан Д. М. Новые тканевые препараты для ветеринарных целей / Д. М. Голбан, Н. С. Рейлян // Сб. научн. тр. Кишиневского СХИ им. Фрунзе «Новые препараты в ветеринари». — Кишинев. — 1990. — С. 4–7.

189 Дидовец С. Р. Применение тканевых препаратов в животноводстве колхозов и совхозов Украинской ССР / С. Р. Дидовец // Тр. Научно-произв. конф. по применению тканевых препаратов по В. П. Филатову в животноводстве и ветеринарии. — 1964. — С. 58–65.

190 A neuroprotective role for polyamines in a *Xenopus* tadpole model of epilepsy / M. R. Bell, J. A. Belarde, H. F. Johnson, C. D. Aizenman // Nature Neuroscience. — 2011. — V. 14. — P. 505–512. doi:10.1038/nn.2777.

191 Induction of autophagy by spermidine promotes longevity / T. Eisenberg, H. Knauer, A. Schauer [et al.] // Nature Cell Biology. — 2009. — V. 11. — P. 1305–1314. — doi: 10.1038/ncb1975.

192 Гальченко С. Є. Кріоконсервування фрагментів органів ссавців і біологічна дія одержаних з них водно-сольових екстрактів : дис... д-ра біол. наук: 03.00.19 / Гальченко Сергій Євгенович // Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. — Х., 2007. — 328 с.

193 Рогоза Л. Н. Алкалоиды животного происхождения — производные полиметиленаминов. I. Продукты метаболизма морских организмов и

микрооганизмов / Л. Н. Рогоза, Н. Ф. Салатхутдинов, Г. А. Толстиков // Биохимическая химия. — 2005. — Т. 31, № 6. — С. 563–577.

194 Leuwenhoek A. Observations D. De natis e semine genitali animalcules // R Soc (Lond) Philos Trans. — 1678. — V. 12. — P. 1040–1043.

195 Relation between the osmolality trend and ornithyndecarboxylase activity in red blod cells of uremic patients during hemodialysis treatment / G. Stabellini, G. Bosi, V. Valeno [et al.] // Biomed Pharmacother. — 1998. — V. 52. — P. 166–168.

196 Spermine prevents endonuclease activation and apoptosis in thymocytes / B. Brune, P. Hartzell, P. Nicotera, S. Orrenius. — Exp Cell Res. — 1991. — V. 195. — P. 323–329.

197 Involvement of polyamines in B cell receptormediated apoptosis: spermine function as negative modulators / T. Nitta, K. Igarashi, A. Yamashita [et al.] // Exp Cell Res. — 2001. — V. 265. — P. 174–183.

198 Bachrach U. Polyamines: new cues in cell signal transduction / U. Bachrach, Y. Wand, A. Tabib. — News Physiol Sci. — 2001. — V. 16. — P. 106–109.

199 Intracellular distribution of polyamines in human lymphoblastoid cell line during phorbol-ester-induced differentiation / G. Stabellini, B. Creati, R. Di Primo, O. Trubiani // Biochem. Mol. Biol. Int. — 1996. — V. 39. — P. 843–851.

200 Stabellini G. The effect of polyamines and dialysate fluid on extracellular matrix synthesis in VERO cell cultures / G. Stabellini, C. Calastrini, L. Scapoli [et al.] // J. Nephrol. — 2002. — V. 15. — P. 539–546.

201 Kushner D. Polyamines in the anemia of end-stage renal disease / D. Kushner, B. Beckman, L. Nguyen [et al.] // Kidney Int. — 1991. — V. 39. — P. 725–732. doi:10.1038/ki.1991.88

202 Niwa T. Suppressed serum and urine levels of indoxil sulfate by oral sorbent in experimental uremic rats / T. Niwa, T. Miyazaki, N. Hashimoto [et al.] // Am. J. Nephrol. — 1992. — V. 12. — P. 201–206.

203 Inhibition by spermine of the induction of the nitric oxide synthaze in J774,2 macrophages / C. Szabo, G. Southan, E. Wood [et al.] // Br. J. Pharmacol. — 1994. — V. 112. — P. 355–356.

204 Fausto N. Interrelationships between the urea cycle, pyrimidine and polyamine synthesis during liver regeneration. Liver regeneration after experimental Injury / [N. Fausto, J. T. Brandt, L. Kesuer] ; Ed. R. Lesch, W. Reutter. — Stratton: IMB Corp., 1975. — P. 215–229.

205 Sunkara P. S. Role of polyamines in the regulation of cell cycle in normal and transformed mammalian cells. Transformed cell / P. S. Sunkara, P. N. Rao ; Ed. I. Cameron, T. B. Pool. — N.Y. : Acad. Press, 1981. — P. 268–290.

206 Bachrach U. Function of naturally occurring polyamines / U. Bachrach. — N.Y. : Acad. Press, 1973. — 211 p.

207 Кафиани К. А. Роль ионного гомеостаза клетки в явлениях роста и развития / К. А. Кафиани, А. Г. Маленков // Успехи современной биологии. — 1976. — Т. 81, № 3. — С. 445–463.

208 Бердишев Г. Д. Процесс трансляции и его применение на поздних етапах индивидуального развития животных / Г. Д. Бердишев, К. Г. Карпенчук // Успехи современной биологии. — 1977. — Т. 84, № 1 (4). — С. 81–96.

209 Heby O. Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation / O. Heby // Differentiation. — 1981. — V. 19, N 1. — P. 1–20.

210 Farron-Furstenthal F. The regulation of nuclear proteinkinases. In Onco-Developmental Gene Expression / F. Farron-Furstenthal, I. R. Lightholder [Eds. W. H. Fishman, S. Sell]. — Academic, New York, 1976. — P. 57–64.

211 Morkin E. Activation of synthetic processes in cardiachypertrophy / E. Morkin // Circ. Res. — 1974. — Suppl. II, V. 35, № 2. — P. 37–38.

212 Goins M. H. The role of polyamines in animal cell physiology / M. H. Goins // J. Theor. Biol. — 1982. — V. 97, № 4. — P. 577–590.

213 Cohen S. S. What do the polyamines do? / S. S. Cohen // Nature. — 1978. — V. 274. — P. 209–210.

214 Bloomfield V. A. Interaction of polyamines with polynucleotides // Polyamines in biology and medicine / V. A. Bloomfield, R. W. Wilson ; ed. D. R. Morris, L. J. Marton. — N. Y. : Dekker, 1981. —V. 8. — P. 184–206.

215 Loftfield R. B. Polyamines and protein synthesis. Polyamines in biology and medicine / R. B. Loftfield, A. Eigner, A. Pastuszyn ; [Ed. D. R. Morris, L. J. Marton]. — N.Y. : Dekker. — 1981. — V. 8. — P. 208–221.

216 Russell D. H. Ornitine decarboxylase: transcriptional induction by trophic hormones via a cAMP and cAMP-dependent protein Kinase pathway // Polyamines in biology and medicine / D. H. Russell. — [Ed. D. R. Morris, L. J. Morton]. — N.Y. : Dekker. — 1981. — V. 8. — P. 110–125.

217 Emanuelsson H. Ornitine dekarboxylase activity in nucleolus and nucleoplasm demonstrated autoradiographically with tritium-labeled / H. Emanuelsson, O. Heby // Cell Biol. Intern. Rept. — 1982. — V. 6, № 10. — P. 951–954.

218 Atmar V. J. Phosphorilation of ornitine decarboxylase by a polyamine protein kinase / V. J. Atmar, G. D. Kuehn // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1981. — V. 78, № 9. — P. 5518–5522.

219 Бродский В. Я. Ритм синтеза белка / В. Я. Бродский, Н. В. Нечаева. — М. : «Наука», 1988. — С. 106–120.

220 Жегунов Г. Ф. Транспорт аминокислот и синтез белков у сусликов при гибернации и искусственной гипотермии / Г. Ф. Жегунов, Л. Вонг, М. Джордан // Укр. биохим. журн. — 1993. — Т. 65, № 6. — С. 25–29.

221 Frerichs K.U. Suppression of protein synthesis in brain during hibernation involves inhibition of protein initiation and elongation / K. U. Frerichs, C. B. Smith, M. Brenner [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — V. 95, № 24. — P. 14511–14516.

222 Tabor C. W. Polyamines / C. W. Tabor, H. Tabor // Annu. Rev. Biochem. — 1984. — V. 53. — P. 749–790.

223 Chin Song-mao. Radioprotection of cellular chromatin by the polyamines spermine and putrescine / Chin Song-mao, Oleinick Nancy L. // Radiat. Res. — 1998. — V. 149, № 6. — P. 543–549.

224 Левянт М. И. Ингибиторы катепсина (протеиназы рибосом). Полиамины — естественные ингибиторы протеиназы / М. И. Левянт, В. С. Былинский, В. Н. Орехович // Биохимия. — 1979. — Т. 44, № 8. — С. 1454–1459.

225 Russell D. H. Ornithine decarboxylase as a biological and pharmacological tool / D. H. Russell // Pharmacology. — 1980. — V. 20, N 3. — P. 117–129.

226 Effect of polyamines on autohemolysis: studies on normal and thalassemic children / A. Vanella, A. Russo, R. Acquaviva [et al.] // Acta haemotol. — 1980. — V. 63, № 4. — P. 226–229.

227 Симмалавонг Сантисук. Перекисное окисление липидов в мозгу при гипотермии и возможная его химическая коррекция : автореф. дисс… канд. биол. наук : 03.00.04 / Симмалавонг Сантисук. — Ростов-на-Дону, 1992. — 21 с.

228 Кричевская А. А. Полиамины мозга крыс при экстремальных воздействиях / А. А. Кричевская, Я. З. Цветненко, В. С. Шугалей // Механизмы пластичности мозга. — Махачкала, 1982. — Т. 1. — 194 с.

229 Menyhart J. termeszetes polyaminok bioilogiaja / J. Menyhart, J. A. Grof // Biologia. — 1976. — V. 24, N 2. — P. 81–110.

230 Blair D. G. R. Activation of mammalian RNA polymerases by polyamines / D. G. R. Blair // Int. J. Biochem. — 1985. — Vol. 17. — N 1. — P. 23–30.

231 Преадаптация организма к действию неблагоприятных факторов путем введения эндогенного адаптогена — дельта-сон-индуцирующего пептида / А. В. Лысенко, А. М. Менджерицкий, И. И. Михалева, Д. В. Альперович // Нейрохимия. — 1999. — Т. 15, N 1. — С. 29–36.

232 Dudley H. W. The chemical constitution of spermine. I. The isolation of spermine from animal tissues, and the preparation of its salts / H. W. Dudley, M. C. Rosenheim, O. Rosenheim // Biochemical Journal. — 1924. — V. 18, N 6. — P. 1263–1272.

233 Russell D. Amine synthesis in rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo, and various tumors / D. Russell, S. H. Snyder // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1968. — V. 60, N 4. — P. 1420.

234 Jänne J. Stimulation of spermidine synthesis in the regenerating rat liver: relation to increased ornithine decarboxylase activity / J. Jänne, A. Raina // Acta chem. Scand. — 1968. —V. 22, N 4. — P. 1349–1351.

235 Хомутов М. А. Регуляция метаболизма спермина и спермидина производыми гидроксиламина / М. А. Хомутов, Я. Вейсель, М. Хивонен [и др.] // Успехи биологической химии. — 2013. — Т. 53. — С. 121–148.

236 Russell D. H. Polyamines in Normal and Neoplastic Growth / D. H. Russell. — New York : Raven Press, 1973. — 287 p.

237 Novel Synthetic Polyamines Are Effective in the Treatment of Experimental Microsporidiosis, an Opportunistic AIDS-Associated Infection / C. J. Bacchi, L. M. Weiss, S. Lane [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. — 2002. — V. 46, N 1. — P. 55–61. doi:10.1128/AAC.46.1.55-61.2002.

238 Pegg A. E. Current status of the polyamine research field / A. E. Pegg, Jr. R. A. Casero // Polyamines. — Humana Press, Springer, 2011. — XIV. — 524 p. ISBN 978-1-61779-033-1

239 Свинарев В. Шизофрения и полиамины / В. Свинарев, С. Залеток, А. Чуприков. [и др.]. — Киев : «ЕксОб», 1999. — 176 с.

240 Rosenthal S. M. The pharmacology of spermine and spermidine. Distribution and excretion / S. M. Rosenthal, C. W. Tabor // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1956. — V. 116, N 2. — P. 131–138.

241 Бердинских Н. К. Полиамины и опухолевой рост / Н. К. Бердинских, С. П. Залеток. — К. : Наук. думка, 1987. — 140 с.

242 Scalabrino G. Polyamine in mammalian tumor / G. Scalabrino, M. E. Ferioli // Advances in Cancer Research. — New York: Raven Press, 1981. — V. 35. — P. 151–268.

243 Casero R. A. Targeting polyamine metabolism and function in cancer and other hyperproliferative diseases / R. A. Casero, L. J. Marton // Nature reviews Drug discovery. — 2007. — V. 6, N 5. — P. 373–390.

244 Kahana C. Antizyme and antizyme inhibitor, a regulatory tango / C. Kahana // Cellular and molecular life sciences. — 2009. — V. 66, № 15. — P. 2479–2488.

245 U.S. Patent No. US 6217864 B1 ; N заявки US 09/243,273 ; Method for targeted degradation of intracellular proteins in vivo or ex vivo / Coffino Philip, Xianqiang Li ; The Regents Of The University Of California. — N US 09/243,273 ; data 17 Apr. 2001.

246 Polyamine sensing by nascent ornithine decarboxylase antizyme stimulates decoding of its mRNA / L. Kurian, R. Palanimurugan, D. Gödderz, R. J. Dohmen // Nature. — 2011. — V. 477, № 7365. — P. 490–494.

247 White A. Estimation of the polyamine body pool: contribution by *de novo* biosynthesis, diet and luminal bacteria / Eds. A. White, S. Bardocz // Polyamines in Health and Nutrition. — Boston: Kluwer Academic Publishers, 1999. — P. 117–127.

248 Desury G. Alteration of intestinal putrescine uptake in tumor-bearing rats / G. Desury, J. P. Moulinoux, J. G. Delcros // Int J Oncol. — 2002. — V. 21. — P. 569–576.

249 Effect of the *β*-adrenoreceptor agonist clenbuterol and phytohaemagglutinin on growth, protein synthesis and polyamine metabolism of tissues of the rat / S. Bardocz, D. S. Brown, G. Grant [et al.] // Br J Pharmacol. — 1992. — V. 106. — P. 476–482.

250 Uptake of luminal polyamine by the gut: in vivo studies / R. Benamouzig, S. Mahe, K. Meziani, D. Tome // Polyamines in Health and Nutrition. — [In S. Bardocz, A. White Eds.]. — Boston: Kluwer Academic Publishers, 1999. — P. 233–239.

251 Osborne D. L. Gastrointestinal luminal polyamines: cellular accumulation and enterohepatic circulation / D. L. Osborne, D. R. Seidel // Am J Physiol. — 1990. — V. 258. — G576–G584.

252 Uda K. Rapid absorption of luminal polyamines in a rat smallintestine ex vivo model / K. Uda, T. Tsujikawa, T. Fujiyama, T. Bamba // J Gastroenterol Hepatol. — 2003. — V. 18. — P. 554–550.

253 Luminal polyamines upregulate transmuralglucose transport in rat small intestine / K. Uda, T. Tsujikawa, T. Thara [et al.] // J Gastroenterol. — 2002. — V. 37. — P. 434–441.

254 Dumontier A. M. Putrescine transport in the rabbit small intestine mounted in the Ussing chamber / A. M. Dumontier, P. Brachet, D. Tomé // Polyamines in the Gastrointestinal Tract. — [In R. H. Dowling, U. R. Fölsch, C. Löser Eds.]. — Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 1992. — P. 453–461.

255 Permeability characteristics of polyamines across intestinal epithelium using the CaCo-2 monolayer system: comparison between transepithelial flux and mitogen-stimulated uptake into epithelial cells / V. Milovic, D. Faust, L. Turchanova [et al.] // Nutrition. — 2001. — V. 17. — P. 462–464.

256 Kumagai J. Characteristics of putrescine uptake in isolated enterocytes / J. Kumagai, L R. Johnson // Am J Physiol. — 1988. — V. 254. — G81–G86.

257 Kumagai J. Characteristics of spermidine uptake by isolated rat enterocytes / J. Kumagai, R. Jain, L. R. Johnson // Am J Physiol. — 1989. — V. 256. — G905–G910.

258 Brachet P. Selective sites for polyamine binding to rabbit intestinal brushborder membranes / P. Brachet, J. E. Long, E. R. Seidel // Biochem Pharmacol. — 1998. — V. 56. — P. 517–526.

259 Transport of putrescine across duodenal, jejunal and ileal brush-border membrane of chicks (*Gallus domesticus*) / O. Adeola, J. I. Ram, D. D. Maenz, H. L. Classen // Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. — 2003. — V. 135, № 3. — P. 235–247.

260 Characterization of putrescine transport across the intestinal epithelium: study using brush-border and basolateral membrane vesicles of the enterocyte /

V. Milovic, J. Stein, A. Piper [et al.] // Eur J Clin Invest. — 1995. — V. 25. — P. 97–105.

261 Seiler N. Polyamines and the intestinal tract / N. Seiler, F. Raul // Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. — 2007. — V. 44, № 4. — P. 365–411.

262 Sarhan S. The gastrointestinal tract as polyamine source for tumour growth / S. Sarhan, B. Knödgen, N. Seiler // Anticancer Res. — 1989. — V. 9. — P. 215–224.

263 Bardocz S. The importance of dietary olyamines in cell regeneration and growth / S. Bardocz, T. J. Duguid, D. S. Brown [et al.] // Br J Nutr. — 1995. — V. 73. — P. 819–829.

264 Sarhan S. Polyamine deprivation, malnutrition and tumor growth / S. Sarhan, B. Knödgen, N. Seiler // Anticancer Res. — 1992. — V. 12. — P. 457–466.

265 Igarashi K. Modulation of cellular function by polyamines / K. Igarashi, K. Kashiwagi // Int J Biochem Cell Biol. — 2010. — V. 42. — P. 39–51.

266 Patocka J. Natural polyamines and their biological consequence in mammals / J. Patocka, G. D. Kuehn // Acta Medica. — 2000. — V. 43. — P. 119–124.

267 Schuber F. Influence of polyamines on membraine functions / F. Schuber // Biochem J. — 1989. — V. 260. — P. 1–10.

268 Хорунжая О. В. Гидратация комплексовДНК с полиаминами / О. В. Хорунжая, В. А. Кашпур, В. Я. Малеев // Молекулярная биофизика. — 2009. — V. 22. — P. 5–13.

269 Bowie D. Redefining the classification of AMPA-selective ionotropic glutamatereceptors / D. Bowie // J Phisiol. — 2012. — V. 590. — P. 49–61.

270 Neuropharmacology of polyamines / [Ed. by C. Carter]. — London, San Diego : Academic Press. — 1994. — XIV. — 318 p.

271 Williams K. Interactions of polyamines with ion channels / K. Williams // Biochem J. — 1997. — V. 325. — P. 289–297.

272 Fu L. Y. Sensitivity of cloned muscle, heart and neuronal voltage-gated sodium channels to block by polyamines: A possible basis for modulation of excitability in vivo / L. Y. Fu, T. R. Cummuns, E. G. Moczydlowski // Channels (Austin). — 2012. — V. 6. — P. 1. [Epub ahead of print]

273 Nilsson B.-O. Regulation of Ca^{2+} channel and phosphatase activities by polyamines in intestinal and vascular smooth muscle — implications for cellular growth and contractility / B.-O. Nilsson, M. F. Gomez, K. Sward, P. Hellstrand // Acta Physiologica Scandinavica. — 2002. — V. 176. — P. 33–41.

274 Sudhakar K. Interaction of Polyamines withthe Ca^{2+}-binding Protein Parvalbumin / K. Sudhakar, M. Erecinska, J. M. Vanderkooi // FEBS. — 2004. — V. 230. — P. 498–502.

275 Spermidine decreases Na^{+},K^{+}-ATPase activity through NMDA receptor and protein kinase G activation inthe hippocampus of rats / F. B. Carvalho, C. F. Mello, P. C. Marisco [et al.] // Eur J Pharmacol. — 2012. — V. 684. — P. 79–86.

276 Heinrich-Hirsch B. Inhibition of Na,K-ATPase from chick brain by polyamines / B. Heinrich-Hirsch, J. Ahlers, H. W. Peter // Enzyme. — 1977. — V. 22. — P. 235–241.

277 Nitric oxide, free radicals and polyamines may have a role in the membrane pathology of schizophrenia / I. Das, C. N. Ramchand, A. Gliddon [et al.] // Neuropsychobiology. — 1998. — V. 37. — P. 65–67.

278 Childs A. C. Polyamine-dependent gene expression / A. C. Childs, D. J. Mehta, E. W. Gerner // Cell Mol Life Sci. — 2003. — V. 60. — P. 1394–1406.

279 Маклецова М. Г. Содержание полиаминов в крови больных с гипертонической дисциркуляторной энцефалопатией / М. Г. Маклецова, Т. Н. Федорова, М. Ю. Максимова, Т. Т. Березов // Вопр биол мед фарм химии. — 2011. — Т. 10. — С. 48–52.

280 Seiler N. Polyamines and apoptosis / N. Seiler // J Cell Mol Med. — 2005. — V. 9. — P. 623–642.

281 Thomas T. Polyamines in cell growth and cell death: mechanismsand therapevtic application / T. Thomas, T. J. Thomas // Cell Moll life Sci. — 2001. — V. 58. — P. 244–258.

282 Benedikt J. Intracellular polyaminesenhance astrocytic coupling / J. Benedikt, M. Inyushin, Y. V. Kucheryavykh [et al.] // Neuroreport. — 2012. — V. 23. — P. 1021–1025.

283 Intense correlation between brain infarctionand protein-conjugated acrolein / R. Seiko, K. Nishimura, I. Ishii [et al.] // Stroke. — 2009. — V. 40. — P. 3356–3361.

284 Seiler N. Polyamines. In: Handbook of neurochemistry: A. Laitha / N. Seiler. — N.Y.(ed) : Plenum Publ, 1982. — V. 1. — P. 223–255.

285 Seiler N. Polyamines. Amino Acids / N. Seiler. — 2004. — P. 1–25.

286 Kalač P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods / P. Kalač, P. Krausova // Food Chem 2004. — V. 90. — № 1–2. — P. 219–30.

287 Polyamine supplementation in infant formula: Influence on lymphocyte populations and immune system-related gene expression in a Balb/cOlaHsd mouse model / C. Gómez-Gallego, R. Frias, G. Pérez-Martínez [et al.] // Food Research International. — 2014. — V. 59. — P. 8–15.

288 Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink / K. Nishimura, R. Shiina, K. Kashiwagi, K. Igarashi // J Biochem. — 2006. — V. 139. — P. 81–90.

289 Induction of autophagy by spermidine promotes longevity / T. Eisenberg, H. Knauer, A. Schauer [et al.] // Nature Cell Biol. — 2009. — V. 11. — P. 1305—1314.

290 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.

291 Bligh E.C., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1959. – Vol. 37. – P. 913 – 917.

292 Gerbaut L. Determination of Erythrocytic Polyamines by Reversed-Phase Liquid Chromatography / L. Gerbaut // Clin. Chem. — 1991. — V. 37, №12. — P. 2117–2120.

293 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.

294 Г. Фримель. Имунололгические методы / Г. Фримель. — М. : «Медицина», 1987. — 472 с.

295 Лаповець Л. Є. Посібник з лабораторної імунології / Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик. — Львів : Видавництво Тараса Сороки, 2002. — 173 с.

296 Лаповець Л.Є. Посібник з лабораторної імунології / Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик, Г. Б. Лебедь. — Львів, 2014. — 292 с. — ISBN 966-02-2704-3.

297 Folch J. Asimple method for the isolation and purification of total lipids fromanimal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Stauley // J. Biol. Chem. — 1957. — V. 226. — P. 497.

298 Рівіс Й. Ф. Газохроматографічне визначення окремих високомолекулярних жирних кислот у складі ліпідів / Й. Ф. Рівіс, Б. Б. Данилик // Укр. біохім. журнал. — 1995. — Т. 67, № 4. — С. 96–99.

299 Ривис И. Ф. Количественный метод определения некоторых высокомолекулярных жирних кислот в растениях, тканях и биологических гидкостях организма сельскохозяйственных животных / И. Ф. Ривис, И. В. Скороход // Доклады ВАСХНИЛ. — 1981. — № 8. — С. 32–35.

300 Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Меркулов Г. А. —Л. : Медицина, 1969. — 422 с.

301 Кононский А. И. Гистохимия / А. И. Кононский. — К. : Издательство «Вища школа», 1976. — 254 с.

302 Гуров В. А. Справочник по производству органопрепаратов / В. А. Гуров, М. А. Иноземцева, А. Б. Замиховский // Пищевая промышленность. — М., 1970. — С. 148–150.

303 Cannon W. B. The James-Lange theory of emotions: A critical examination and an alternative / W. B. Cannon // American Journal of Psychology. — 1927. — V. 39. — P. 106–124.

304 Барабой В. А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы : учеб. пособие / В. А. Барабой. — К. : Фитосоциоцентр, 2006. — 424 с.

305 Ferguson D. M. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? / D. M. Ferguson, R. D. Warner // Meat Science. — 2008. — V. 80, N 1. — P. 12–19.

306 Pre-slaughter conditions influence skatole and androstenone in adipose tissue of boars / R. Wesoly, I. Jungbluth, V. Stefanski, U. Weiler // Meat science. — 2015. — V. 99. — P. 60–67.

307 Stahl S. M. Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical application / [3rd ed. by S. M. Stahl; ill. by N. Muntner]. — Cambridge: Cambridge University Press. — 2008. — V. XV. — 1117 p.

308 Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. — М. : «Высшая школа», 1991. — 399 с.

309 Crawley J. N. Exploratory behavior models of anxiety in mice / J. N. Crawley // Neurosci. Biobehav. Revs. — 1985. — № 9. — P. 33–44.

310 Porsolt R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressantTreatments / R. D. Porsolt, M. Le. Pinchon, M. Jalfre // Nature. — 1977. — V. 266. — P. 730–732.

311 Animal models for asessing anxiolytic, neuroleptic andantidepressant drug action / A. J. Greenshaw, A. Boulton, G. Baker, R. Coutts // Neuromethods. — Clifton : Humana press, 1988. — P. 379–427.

312 Ritchie R. Wellness assessment: Targeted testing for specific problems which are not the measurement of health // Serum Proteins in Clinical Medicine. Clinical Section. Foundation for Blood Research / R. Ritchie. — Publishers : Scarborough. — 1999. — V. II. — P. 120.00-1–120.00-9.

313 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. — V. 26, N 13. — P. 84–87.

314 Corticosteroid binding globulin: a new target for cortisol-driven obesity / O. Ousova, V. Guyonnet-Duperat, N. Iannuccelli [et al.] // Mol. Endocrinol. — 2004. — V. 18, № 7. — P. 1687–1696.

315 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. Gutièrrez-Mecinas [et al.] // Endocrinology. — 2011. — V. 152, № 10. — P. 3738–3748.

316 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. Piérard [et al.] // Endocrinology. — 2012. — V. 153, № 10. — P. 4766–4774.

317 Вміст поліамінів та активність орнітин-декарбоксилази в пухлинних тканинах та фізіологічних рідинах хворих на новоутворення грудної залози / С. П. Залєток, Н. К. Бердинських, Н. М. Лялюшко [та ін.] // Тези X з'їзду онкологів України. — Ялта, 2001. — С. 39.

318 Зуева Е. П. Экспериментальное изучение противоязвенных свойств экстракта коры осины / Е. П. Зуева, С. Г. Крылова, В. Ф. Турецкова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1997.— Т. 60.— С. 38–41.

319 Пат. 2093046 Российская Федерация, МКИ6 A 23 L 1/30, 1/308, A 61 K 35/78, A 23 L 2/00. Лечебно-профилактическая пищевая композиция «Гербамарин» / Лоенко Ю. Н., Козловская Э. П., Артюков А. А., Ковалев В. В.. Козловский А. С., Горовой П. Г., Гафуров Ю. М., Рассказов В. А., Попов А. М., Еляков Г. Б.; заявитель и патентообладатель Тихоокеан. ин-т биоорган. химии ДВО РАН. — № 96108185/13; заявл. 06.05.96; опубл. 20.10.97, Бюл. № 29. — 6 с.

320 Valachovic P. Towards the industrial production of medicinal tincture by ultrasound assisted extraction / P. Valachovic, A. Pechova, T. J. Mason // Ultrasonics Sonochemistry. — 2001. — V. 8. — P. 111–117.

321 Кленов О. О. Вплив споживання тваринами соєвих продуктів із різним вмістом біологічно активних речовин (поліфенолів) на рівень білка орнітиндекарбоксилази та вміст поліамінів в експериментальних пухлинах / О. О. Кленов // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2012. — № 2(27). — С. 37–43.

322 Вернигора П. Ф. Методы ультразвуковой дезинтеграции в микробиологических исследованиях / П. Ф. Вернигора, Н. К. Литвинова, Е. П. Москаленко // Акуст. журнал. — 1975. — Т. 21, № 2. — С. 316–317.

323 Москаленко Е. П. Проблемы ультразвуковой дезинтеграции в микробиологии / Е. П. Москаленко. — В кн. : Ультразвук в физиологии и медицине. — Ульяновск, 1975. — Ч. 1. — С. 21–26.

324 Шмакотина З. В. Возможность применения ультразвука для стерилизации лечебно-профилактических сывороточных препаратов /З. В. Шмакотина, Л. Н. Юхимеяко, О. И. Белинская. — В кн. : Ультразвук в физиологии и медицине. — Ростов н/Д, 1972. — Т. 1. — С. 3–114.

325 Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from Folium eucommiae and evaluation of activity in multitest systems in vitro / W. Huang, A. Xue, H. Niu [et al.] // Food Chemistry. — 2009. — V. 114, is. 3. — P. 1147–1154.

326 Sheng-Huanq. Exstection of polysaccharide from Ganodermalucidum and immune enhancement activity / Sheng-Huanq, Zheng-xiang Ning // International Journal of Biological Macromolecules. — 2010. — V. 47, is. 3. — P. 336–341.

327 Composition and bioactivity of tea flower polysaccharides obtained by different methods / Xinlin Wei, Miaoai Chen, Jianbo Xiao [et al.] // Carbohydrate Polymers. — 2010 — V. 79, is. 2. — P. 418–422.

328 Ultrasound complex enzymes assisted extraction and biochemical activities of polysaccharides from Epimedium leaves / Ruizhan Chen, Shizhe Li, Chunming Liu [et al.] // Process Biochemistry. — 2012. — V. 47, is. 12. — P. 2040–2040.

329 Optimization of ultrasonic extraction process of polysaccharides from OrnithogalumAit and evaluation of its biological activities / Ruizhan Chen, Yuan Li, Hang Dong [et al.] // Ultrasonics Sonochemistry. — 2012. — V. 19, is. 6. — P. 1160–1168.

330 Brown H. A. Working towards an exegesis for lipids in biology / H. A. Brown, R. C. Murphy // Nat Chem Biol. — 2009. — V. 5. — P. 602–606

331 A comprehensive classification system for lipids / E. Fahy, S. Subramaniam, H. A. Brown [et al.] // J Lipid Res. — 2005. — V. 46. — P. 839–861

332 Christie W. W. The lipid library. — 2012. http://lipidlibrary.aocs.org/

333 Determination of central nervous and organ tissue in meat products through GC-MS analysis of marker fatty acids from sphingolipids and phospholipids / A. Noti, S. Biedermann-Brem, M. Biedermann, K. Grob // Mitteilungen aus Lebensmittel Untersuchung und Hygiene. — 2002. — V. 93. — № 5. — P. 387–401.

334 Rethinking inflammation: neural circuits in the regulation of immunity / P. S. Olofsson, M. Rosas-Ballina, Y. A. Levine, K. J. Tracey // Immunological reviews. — 2012. — V. 248. — № 1. — P. 188–204

335 Cífková E. Nontargeted Lipidomic Characterization of Porcine Organs Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography and Off-Line Two-Dimensional Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Mass Spectrometry / E. Cífková, M. Holčapek, M. Lísa // Lipids. — 2013. — V. 48, № 9. — P. 915–928.

336 Swine Dialyzable Spleen Extract as Antiviral Prophylaxis / G. Merchand-Reyes, L. Pavón, G. Pérez-Sánchez [et al.] // Journal of medicinal food. — 2015. — V. 18, № 11. — P. 1239–1246

337 Kozova M. Biological active polyamines in pig kidneys and spleen: Content after slaughter and changes during cold storage and cooking / M. Kozova, P. Kalac, T. Pelikanova // Meat Science. — 2008. — V. 79, is. 2. — P. 326–331.

338 Kalač P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005–mid 2013 / P. Kalač // Food chemistry. — 2014. — V. 161. — P. 27–39.
339 Minocha R. A Rapid and Reliable Procedure for Extraction of Cellular Polyamines and Inorganic Ions from Plant Tissues / R. Minocha, W. C. Shortle, S. L. Long, S. C. Minocha // J. Plant Growth Regul. — 1994. — V. 13. — P. 187–193.

340 Патент України на корисну модель UA № 92225; МПК (2006.01) : A61K 35/28, A61K 31/04, A61K 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. Ґжицького. — № u 2014 01325 ; заявл. 11.02.2014 ; опубл. 11.08.2014 , Бюл. № 15 — 4 с.
341 Молчанов Г. И. Ультразвук в фармации (состояние и перспективы применения) / Г. И. Молчанов. — М. : Медицина, 1980. — 176 с.

342 Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. Psychol Bull. 2004 Jul;130(4):601-30.

343 Schulze 1, Vogelgesang A, Dressel A.Catecholamines, steroids and immune alterations in ischemic stroke and other acute diseases. Aging Dis. 2014 Oct 1;5(5):327-39. doi: 10.14336/AD.2014.0500327. e Collection 2014.

344 Wang LI, Liu F, Luo Y, Zhu L, Li G. Effect of acute heat stress on adrenocorticotropic hormone, cortisol, interleukin-2, interleukin-12 and apoptosis gene expression in rats. Biomed Rep. 2015 May;3(3):425-429. Epub 2015 Mar 20.
345 Groer M. Reduction of hair glucocorticoid levels in an animal model of post-traumatic stress disorder (PTSD) / M. Groer, S. Wolfe, C. R. Park // Brain, Behavior, and Immunity. — 2013. — V. 68, is. 32. — P. 20.
346 Стан Т- і В-клітинної ланок імунітету в індиків та гусей за різного рівня вітаміну Е у раціоні / Д. І. Мудрак, О. І. Віщур, Н. А. Брода [та ін.] // Біологія тварин. — 2012. — Т. 14, № 1–2. — С. 535–539.

347 The stress model of chronic pain: evidence from basal cortisol and hippocampal structure and function in humans / E. Vachon-Presseau, M. Roy, M. O. Martel [et al.] // Brain. — 2013. — V. 136. — N. 3. — P. 815–827.

348 Статистика : Підручник / С. С. Герасименко, А. В. Головач, А. М. Єріна [та ін.] ; За наук. ред. д-ра екон. наук С. С. Герасименка. — 2-ге вид., перероб. і доп. — К. : КНЕУ, 2000. — 467 с. ISBN 966-574-135-7.

349 Herskin M. S. Effects of acute stressors on nociception, adrenocortical responses and behavior of dairy cows / M. S. Herskin, L. Munksgaard, J. Ladewig // Physiol Behav. — 2004. — V. 83. — P. 41–420.

350 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.

351 Грабовский С. С. Влияние биологически активных веществ разного происхождения на лабораторных животных в стрессовом состоянии / С. С. Грабовский // Сб. научных трудов SWorld. — 2013, Иваново : МАРКОВА АД. — Т. 44. — Вып. 3. — С. 13–15.

352 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.

353 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.

354 Грабовський С. С. Вміст фосфоліпідів у крові свиней за умов стресу / С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець // Scientific Journal «ScienceRise». — № 4/1(4). — С. 10–13. DOI: 10.15587/2313-8416.2014.29418.

355 Морфофункциональная характеристика поджелудочной железы крыс при хроническом стрессе / О. В. Николаева, М. В. Ковальцова, Н. И. Горголь [и др.] // Експериментальна і клінічна медицина. — 2013. — № 2. — С. 23–27.

356 Валов С. Д. Изучение структурно-функциональных изменений эпителиев околоушной и поджелудочной желез и анализ состояния нейротрансмиттерной регуляции в условиях острого эмоционально-болевого стресса / С. Д. Валов // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2003. — № 1. — С. 49–51.

357 Кузнєцова Т. Е. Влияние факторов окружающей среды на β-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы новорожденных крыс / Т. Е. Кузнєцова, С. Л. Кабак // Медицинский журнал. 2011. — № 2. — С. 51–55.

358 Store-operated Ca 2 entry mechanism is involved in glucose-induced Ca 2 responses and insulin secretion, and is critical for preventing ER stress in primary pancreatic β-cells / M. Segawa, C. M. Oslowski, S. Severova [et al.] // The FASEB Journal. — 2013. — 27. — P. 953–2.

359 The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide preserves pancreatic beta cells via regulation of cell kinetics and suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress in a mouse model of diabetes / M. Shimoda, Y. Kanda, S. Hamamoto [et al.] // Diabetologia. — 2011. — V. 54, № 5. — P. 1098–1108. doi: 10.1007/s00125-011-2069-9.

360 Yamaguchi K. Effects of a high fat diet and electric stress on adenylate cyclase activity and insulin release in isolated islets of Langerhans / K. Yamaguchi, A. Matsuoka // Horm. Metab. Res. — 1982. — V. 14. — P. 117–121.

361 Seckl J. R. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal programming of adult pathophysiology / J. R. Seckl, I. N. Holmes // Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. — 2007. — V. 3. — P. 479–488.

362 Adaptation to intermittent stress promotes maintenance of beta-cell compensation: comparison with food restriction / H. E. Bates, A. Sirek, I. A. Kiraly [et al.]. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2008. — V. 295, № 4. — P. 947–958.

363 Beaudry J. L. Effects of glucocorticoids and exercise on pancreatic b-cell function and diabetes development / J. L. Beaudry, M. C. Riddell // Diabetes Metab Res Rev. — 2012. — V. 28. — P. 560–573. DOI:10.1002/dmrr.2310.

364 Генинг Т. П. Метаболические пути утилизации кислорода и продукция АТФ в ткани печени при острой циркуляторной гипоксии / Т. П. Генинг, Н. Н. Иванская // Вестник новых медицинских технологий. — 2006. — Т. XIII, № 3. — С. 32–34.

365 Колесник Ю. М. Панкреатические островки: некоторые аспекты морфологии, физиологии и процессов деструкции при сахарном диабете типа 1 / Ю. М. Колесник, М. А. Орловский // Проблемы эндокринологии. — 2004. — Т. 50, № 2. — С. 3–10.

366 Bernard-Kargar C. Endocrine pancreas plasticity under physiological and pathological conditions / C. Bernard-Kargar, A. Ktorza // Diabetes. — 2001. — V. 50, Suppl. 1. — P. 30–35.

367 Hettiarachchi K. D. Dietary toxins, endoplasmic reticulum (ER) stress and diabetes / K. D. Hettiarachchi, P. Z. Zimmet, M. A. Myers // Curr. Diabetes Rev. — 2008. — V. 4, № 2. — P. 146–156.

368 Glass L. Synchronization and rhythmic processes in physiology / L. Glass // Nature (Gr. Brit.). — 2001. — V. 410, Is. 6825. — P. 277–284.

369 Качур І. В. Функціональні і морфологічні зміни в наднирниках та гіпофізарно-тиреоїдній системі при травматичному стресі : дис... канд. біол. наук : 14.03.04 / Качур Ірина Володимирівна. — Донецьк, 2002. — 166 с.

370 Гістоструктурні характеристики функціонального стану та реакції на стрес надниркових залоз нащадків стресованих матерів / Л. Ю. Сергієнко, Н. Г. Малова, Г. В. Геращенко [та ін.] // Пробл. ендокрин. патол. — 2004. — № 2. — С. 69–74.

371 Виноградов В. В. Стресс: морфобиология коры надпочечников / В. В. Виноградов. — Минск: Беларуская навука, 1998. — 319 с.

372 Time Course Changes in selected biochemical stress indices in broilers exposed to short-term noise / I. P. Bedanova, P. Chloupek, J. Vosmerova [et al.] // Acta Vet, Brno. — 2010. — V. 79. — P. 35–40.

373 Westenfelder C: Administered mesenchymal stem cells enhance recovery from ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats / C. Lange, F. Togel, H. Ittrich [et al.] // Kidney Int. — 2005. — V. 68. — P. 1613–1617.

374 Гибель клеток почки при воспалении: роль окислительного стресса и митохондрий / М. А. Моросанова, Е. Ю. Плотников, И. Б. Певзнер [и др.] // Биологические мембраны. — 2013. — Т. 30, № 5–6. — С. 445–453.

375 Westenfelder C: Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important tothe recovery from acute kidney injury / F. Togel, K. Weiss, Y. Yang [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. — 2007. — V. 292 — P. 1626–1635.

376 Пішак В. П. Вплив стресу на морфологічну організацію надниркових залоз у різні періоди доби / В. П. Пішак, В. М. Гуралюк // Буковинський медичний вісник. — 2005. — Т. 9, № 3. — С. 135–137.

377 Servín R. J. Assessment of Two Female Broiler Rearing Systems (Traditional and Modern) and Their Repercussion on Wellbeing, Corticosterone Concentration, Lesions in Adrenal Glands and Productive Parameters / R. J. Servín, L. J. Quintana, H. M. Casaubon // International Journal of Poultry Science. — 2013. — V. 12, N 6. — P. 353–357.

378 The influence of long term sound stress on histological structure of broiler's adrenal glands / D. Zikic, G. Uscebrka, D. Gledic [et al.] // Biotechnol. Anim. Husbandry. — 2011. — V. 27. — P. 1613–1619.

379 Bienestar y productividad en parvadas de pollo de engorda tratadas con un modulador alostático durante la administración de vacunas / M. Rubio, H. Rojas, S. Rojas, V. Ibarra // Memorias de la XXXVII Convención Nacional ANECA, del 02 al 06 mayo del 2012, Puerto Vallarta, Jalisco. — México. — 2012. — P. 59–78.

380 Reperfusion does not induce oxidative stress but sustained endoplasmic reticulum stress in livers of rats subjected to traumatic-hemorrhagic shock / J. C. Duvigneau, A. V. Kozlov, C. Zifko [et al.] // Shock. — 2010. — V. 33. — P. 289–298.

381 Distinct endoplasmic reticulum stress responses are triggered during human liver transplantation / A. Emadali, D. T. Nguyen, C. Rochon [et al.] // J. Pathol. — 2005. — V. 207. — P. 111–118.

382 Rapid, transient induction of ER stress in the liver and kidney after acute exposure to heavy metal: evidence from transgenic sensor mice / N. Hiramatsu, A. Kasai, S. Du [et al.] // FEBS Lett. — 2007. — V. 581. — P. 2055–2059.

383 Ji C. Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice / C. Ji, N. Kaplowitz // Gastroenterology. — 2003. — V. 124. — P. 1488–1499.

384 Metformin regulates palmitate-induced apoptosis and ER stress response in HepG2 liver cells / D. S. Kim, S. K. Jeong, H. R. Kim [et al.] // Immunopharmacol Immunotoxicol. — 2010. — V. 32. — P. 251–257.

385 Endoplasmic reticulum stress involved in heart and liver injury in iron-loaded rats / L. X. Lou, B. Geng, Y. Chen [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. — 2009. — V. 36. — P. 612–618.

386 Malhi H. Endoplasmic reticulum stress in liver disease / H. Malhi, R. J. Kaufman // Journal of hepatology. — 2011. — V. 54. — № 4. — P. 795–809.

387 HCV and oxidative stress in the liver / A. V. Ivanov, B. Bartosch, O. A. Smirnova [et al.] // Viruses. — 2013. — V. 5, № 2. — P. 439–469. doi:10.3390/v5020439

388 Mitochondrial oxidative stress induced by Ca^{2+} and monoamines: different behaviour of liver and brain mitochondria in undergoing permeability transition / S. Grancara, V. Battaglia, P. Martinis [et al.] // Amino acids. — 2012. — V. 42, N 2–3. — P. 751–759.

389 Free radical scavenging action of the natural polyamine spermine in rat liver mitochondria / I. G. Sava, V. Battaglia, C. A. Rossi [et al.] // Free Radic Biol Med. — 2006. — V. 41. — P. 1272–1281.

390 Lee S. J. Effects of vitamin C and E supplementation on oxidative stress and liver toxicity in rats fed a low-fat ethanol diet / S. J. Lee, S. Y. Kim, H. Min // Nutrition research and practice. — 2013. — V. 7, № 2. — P. 109–114.

391 Melatonin attenuates oxidative stress, liver damage and hepatocyte apoptosis after bile-duct ligation in rats / C. Aktas, M. Kanter, M. Erboga [et al.] // Toxicology and industrial health. — 2012. — 0748233712464811.

392 The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth / S. Bardocz, T. J. Duguid, D. S. Brown [et al.] // Br J Nutr. — 1995. — V. 73, N 6. — P. 819–28.

393 Metabolomic analysis of sulfur-containing substances and polyamines in regenerating rat liver / Y. S. Jung, S. J. Kim, Y. Kwon, Y. C. Kim // Amino Acids. — 2012. — V. 42, № 6. — P. 2095-102. doi: 10.1007/s00726-011-0946-7.

394 The activation of hepatic and muscle polyamine catabolism improves glucose homeostasis / T. Koponen, M. Cerrada-Gimenez, E. Pirinen [et al.] // Amino acids. — 2012. — V. 42, № 2–3. — P. 427–40. doi: 10.1007/s00726-011-1013-0.

395 Polyamine and Methionine Adenosyltransferase 2A Crosstalk in Human Colon and Liver Cancer / M. L. Tomasi, M. Ryoo, A. Skay [et al.] // Exp Cell Res. —2013. — V. 319, № 12. — P. 1902-11. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.04.005.

396 Гистологические и морфометрические особенности селезенки у человека и млекопитающих животных / Н. С. Федоровская, Д. А. Дьяконов, С. Д. Андреева [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. — 2012. — № 1. — P. 39–40.

397 В. М. Волошин. Будова селезінки / В. М. Волошин // Морфологія. — 2014. — Т. 8, № 1. — С. 8–15.

398 Chowhan R. K. Polyamines in modulating protein aggregation / R. K. Chowhan, L. R. Singh // J. Proteins & Proteomics. — 2013. — V. 3, N 2. — P. 124–127.

399 Matti V. Interaction of polyamines with proteins of human plasma: apreferential aggregation of fibrinogen and fibronectin (cold insoluble globulin) / V. Matti, S. Eija, R. Pekka // Biochimie. — 1980. — V. 62. — P. 99–104.

400 Stathakis N. E. Interactionsamong heparin, cold-insoluble globulin, andfibrinogen in formation of the heparin-precipitablefraction of plasma / N. E. Stathakis, M. W. Mosesson // J. Clin. Invest. — 1977. — V. 60. — P. 855–865.

401 A rapid release of corticosteroid-binding globulin from the liver restrains the glucocorticoid hormone response to acute stress / X. Qian, S. K. Droste, M. Gutièrrez-Mecinas [et al.] // Endocrinology. — 2011. — V. 152, N 10. — P. 3738–3748.

402 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. Piérard [et al.] // Endocrinology. — 2012. — V. 153, N 10. — P. 4766–4774.

403 Шемуранова Н. А. Мясная продуктивность свиней при применении жидкой кормовой добавки ВЭРВА / Н. А. Шемуранова, А. В. Филатов, Т. В. Хуршкайнен, А. В. Кучин // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). — 2014. — № 4, Ч. 13. — С. 71–74.

404 Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. — За ред. доктора вет. наук І. Я. Коцюмбаса. — Львів : Тріада плюс, 2005. — 356 с. — ISBN 966-7596-64-8.

405 Psoroptes cuniculi induced oxidative imbalance in rabbits and its alleviation by using vitamins A, D3, E, and H as adjunctive remedial / S. K. Singh, U. Dimri, M. C. Sharma [et al.] // Tropical animal health and production. — 2012. —V. 44, N 1. — P. 43–48.

406 Effect of shear stress alteration on atherosclerotic plaque vulnerability in cholesterol-fed rabbits / W. K. den Dekker, D. Tempel, L. Speelman [et al.] // Vascular Medicine. — 2014. — V. 19, № 2. — P. 94–102.

407 Effect of Shenlian extracts on blood flow and vessel pathological changes in rabbits carotid atherosclerosis model induced by low shear stress / S. Y. Zhou, Y. H. Wang, Y. J. Li [et al.] // China journal of Chinese materia medica. — 2013. — V. 38, № 10. — P. 1595–1600.

408 Abdelhalim M. A. K. The potential influence of high cholesterol diet-induced oxidative stress on composition and properties of red blood cells in rabbits / M. A. K. Abdelhalim // African Journal of Microbiology Research. — 2010. — V. 4, № 9. — P. 836–843.

409 Oxidative stress and diabetic vascular complications / S. M. Son, M. K. Whalin, D. G. Harrison, W. R. Taylor // Curr. Diab. Rep. — 2004. — V. 4. — P. 247–52.

410 Vaziri N. D. Oxidative stress in uremia: Nature, mechanisms and potential consequences / N. D. Vaziri // Semin. Nephrol. — 2004. — V. 24. — P. 469–473.

411 Effects of added dietary taurine on erythrocyte lipids and oxidative stress in rabbits fed a high cholesterol diet / J. Balkan, S. Oztezcan, G. Aykac, M. Toker // Uysal. Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2002. — V. 66. —P. 2701–2705.

412 Effects of acute psychological stress on serum lipid levels, hemoconcentration, and blood viscosity / M. F. Muldoon, T. B. Herbert, S. M. Patterson [et al.] // Archives of internal medicine.— 1995. — V. 55, № 6. — P. 615–620.

413 Placebo-Controlled Trial of Selenium Supplementation in Patients With Type 2 Diabetes: Effects on Glucose Homeostasis, Oxidative Stress, and Lipid Profile / T. Faghihi, M. Radfar, M. Barmal [et al.] // American journal of therapeutics. — 2013. — P. 13–35.

414 Oxidative stress in the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin / E. Gitto, S. Pellegrino, P. Gitto [et al.] // J. Pineal Res. — 2009. — V. 46. — P. 128–139.

415 Dynamics and function of phospholipase D and phosphatidic acid during phagocytosis / M. Corrotte, S. Chasserot-Golaz, P. Huang [et al.] // Traffic. — 2006. — N 7. — P. 365–377.

416 Jenkins G. M. Phospholipase D: a lipid centric review / G. M. Jenkins, M. A. Frohman // Cell Mol. Life Sci. — 2005. — N 6. — P. 2305–2316.

417 Bance J. E. Phosphatidylserine и Phosphatidyl ethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids syndrome / J. E. Bance // J. Lipid Res. — 2008. — № 49. — P. 1377–1387.

418 Diacylglycerols and phosphatidates: which molecular species are intracellular messengers / M. Hodgkin, T. Pettitt, A. Martin [et al.] // Biochem. Sci. — 1998. — V. 23, N 6. — P. 387–393.

419 Вишневская Т. Я. Морфофизиология селезёнки кроликов при воздействии стресс-факторов / Т. Я. Вишневская, Л. Л. Абрамова // Известия Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2012. — Т. 4, Вып. 36, № 1. — 12–25.

420 NADPH oxidase and aging drive microglial activation, oxidative stress, and dopaminergic neurodegeneration following systemic LPS administration / L. Qin, Y. Liu, J. S. Hong, F. T. Crews // Glia. — 2013. — V. 61, N 6. — P. 855–868.

421 Effects of acute Staphylococcus aureus infection on paraoxonase activity, thiol concentrations and ferric reducing ability of plasma in rabbits / T. Vlaykova, T. Georgieva, E. Dishlyanova [et al.] // Revue de Médecine Vétérinaire. — 2013. — — P. 125–131.

422 Blood haptoglobin response in obese rabbits with experimentally induced *St. aureus*. In: COST-Farm Animal Proteomics Spring Meeting / T. Georgieva, A. Bassols, E. Dishlyanova [et al.] // ALMEIDA A. M. (ed.). Glasgow: Pfizer-Animal Health, 2011. — P. 49.

423 Сорнина Д. А. Структурно-функциональные свойства белков / Д. А. Сорнина, И. Н. Залевская. — Киев : Выща школа, 1990. — 215 с.

424 The effects of lairage time and handling procedure prior to slaughter on stress and meat quality parameters in pigs / M. Dokmanović, A. Velarde, V. Tomović [et al.] // Meat science. — 2014. — V. 98, N 2. — P. 220–226.

425 Kim Y. H. B. Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: a review / Y. H. B. Kim, R. D. Warner, K. Rosenvold // Animal Production Science. — 2014. — V. 54, N 4. — P. 375–395.

426 Effects of ractopamine administration and castration method on the response to preslaughter stress and carcass and meat quality in pigs of two Pietrain genotypes /

L. M. Rocha, A. M. Bridi, A. Foury [et al.] // Journal of animal science. — 2013. — V. 91, N 8. — P. 3965–3977.

427 Origin and assessment of bruises in beef cattle at slaughter / A. C. Strappini, J. H. M. Metz, C. B. Gallo, B. Kemp // Animal. — 2009. — V. 3. — P. 728–736.

428 Effect of Blueberry Feeding on Lipids and Oxidative Stress in the Serum, Liver and Aorta of Guinea Pigs Fed on a High-Cholesterol Diet / J. Coban, B. Evran, F. Özkan [et al.] // Bioscience, biotechnology, and biochemistry. — 2013. — V. 77, № 2. — P. 389–391.

429 Чумаченко В. Ю. Дослідження імунної системи. Фактори, що впливають на резистентність тварин / В. Ю. Чумаченко, В. В. Чумаченко, О. І. Павленко // Ветеринарна медицина України. — 2004. — № 5. — С. 33–37.

430 Петрова О. Г. Иммунологические и биохимические показатели крови поросят при ассоциированной форме цирковирусной инфекции / О. Г. Петрова, И. М. Донник // Аграрный вестник Урала. — 2014. — № 2 (120). — С. 36–39.

431 Ушкова Ю. Ф. Формування клітинного імунітету у поросят при відлученні їх від свиноматок та за дії препарату «Інтерфлок» / Ю. Ф. Ушкова // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12, № 1. — С. 318–321.

432 Ганзенко Е. А. Биохимические показатели крови свиней специализированных типов / Е. А. Ганзенко, В. В. Лодянов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. — 2014. — Т. 97, № 03. — С. 1–10.

433 Крыштоп Е. А. Стрессоустойчивость и естественная резистентность свиней специализированных мясных типов / Е. А. Крыштоп, О. Р. Барило // Аграрный вестник Урала. — 2010. — Т. 72, № 6. — С. 53–55.

434 Galindo R. C. Gene expression profile suggests that pigs (Sus scrofa) are susceptible to Anaplasma phagocytophilum but control infection / R. C. Galindo, A. Nieves, K. S. Smrdel // Parasit. Vectors. — 2012. — V. 5. — P. 81. doi: 10.1186/1756-3305-5-181.

435 Kick A. R. Stress and immunity in the pig / A. R. Kick, M. B. Tompkins, G. W. Almond // Animal Science Reviews. — 2011. — P. 51.

436 Sutherland M. Impacts of chronic stress and social status on various physiological and performance measures in pigs of different breeds / M. Sutherland, S. Niekamp // J. Anim. Sci. — 2006. — V. 84, N 3. — P. 588.

437 Xiang-hong J. Impacts of heat stress on baseline immune measures and a subset of T cells in Bama miniature pigs / J. Xiang-hong // Livestock Science. — 2011. — V. 135, N 2. — P. 289–292.

438 Топурия Г. М. Стимуляция иммунных реакций у свиноматок и их приплода / Г. М. Топурия, С. В. Семёнов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2013. — Т. 4(42). — С. 27–39.

439 Киселев А. Л. Резистентность животных в онтогенезе и способы ее повышения / А. Л. Киселев, Е. В. Обязуева // Вестник российского государственного аграрного заочного университета. — 2006. — С. 169.

440 Nakamura M. T. Structure, function and dietary regulation of delta-6, delta-5 and delta-9 desaturases / M. T. Nakamura, T. Y. Nara // Annual Review of Nutrition. — 2004. — V. 24. — P. 345–376.

441 Decsi T. Polyunsaturated fatty acids in plasma lipids of obese children with and without metabolic cardiovascular syndrome / T. Decsi, G. Csabi, Torok K. [et all.] // Lipids. — 2000. — V. 35. — P. 1179–1184.

442 Effects of transport stress on concentrations of cortisol, corticosteroid-binding globulin and glucocorticoid receptors in pigs with different halothane genotypes / L. Nyberg, K. Lundström, I. Edfors-Lilja [et all.] // J. Anim. Sci. — 1998. — Vol. 66. — P. 1201–1211.

443 Allopregnanolone and social stress: regulation of the stress response in early pregnancy in pigs / J. L. Rault, K. Plush, T. Yawno, I. Langendijk // Stress. — 2015. — V. 18, N 5. — P. 569–77. doi: 10.3109/10253890.2015.1047340.

444 Soma P. Frequency of the malignant hyperthermia gene in the South African pig industry: short communication / P. Soma, E. Van Marle-Koster, L. Frylinck // South African Journal of Animal Science. — 2014. — V. 44, N 4. — P. 384–387.

445 Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions / E. Hambrecht, J. Eissen, J. Newman [et al.] // J. Anim. Sci. — 2005. — V. 83. — P. 440–448.

446 Rapid chilling cannot prevent inferior pork quality caused by high preslaughter stress / E. Hambrecht, J. J. Eissen, W. J. H. de Klein [et al.] // J. Anim. Sci. — 2004. — V. 82. — P. 551–556

447 Максимов Г. В. Взаимосвязь биохимических показателей крови с мясной продуктивностью свиней / Г. В. Максимов, Е. Ю. Гулько, В. Г. Максимов // Актуальные проблемы производства свинины: Сб. науч. трудов ДонГАУ. — 2001. — С. 42–43.

448 Шахбазова О. П. Биохимические показатели крови и их взаимосвязь с откормочными и мясными качествами у свиней разных генотипов / О. П. Шахбазова // Свиноводство. — 2011. — С. 100–103.

449 Porcine stress syndrome and PSE meat: clinical symptoms, pathogenesis, etiology and animal rights aspects / M. Wendt, K. Bickhardt, A. Herzog // Berl Munch Tierarztl Wochenschr. — 2000. — V. 113. — P. 173–190.

450 Мамаев А. В. Гемогормональный статус организма свиней при стимуляции компенсаторно-адаптационных реакций / А. В. Мамаев // Вестник Орловского государственного аграрного университета. — 2010. —Т. 23, № 2. — С. 32–36.

451 US 8992914 B2 ; N заявки US 11/926,470; Дата реєстрації заявки 29.10.2007; Water-soluble globulin concentrate for improving growth in animals / E. M. Weaver, D. U. Thomson. — data 31 Mar. 2015; 10 p.

452 Ряднов А. А. Влияние адаптогена стресс-корректора на биохимические показатели крови свиней, характеризующие белковый обмен / А. А. Ряднов, Е. В. Петухова, В. В. Саломатин // Известия нижневолжского агроуниверситетского комплекса. — 2009. — Т. 4, № 16. — С. 71–74.

453 Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress / T. A. Hicks, J. J. McGlone, C. S. Whisnant [et al.] // J Anim Sci. — 1998. — V. 76, № 2. — P. 474–483.

454 Grabovskyj S. Influence of certain periods of ontogenesis on productive qualities of young cattle / S. Grabovskyj, O. Grabovska // I-st Polish-Ukrainian Scientific Conference ANIMAL SCIENCES IN THE XXI CENTURY. — Krakow. — 2001. — P. 59–64.

455 Афанасьева Е. С. Влияние транспортировки и предубойного содержания скота на качество мяса // Повышение качества продуктов животноводства. — М., 1982. — С. 104–108.

456 Бельков Г. И. Рекомендации по снижению потерь мясной продукции при предубойной подготовке крупного рогатого скота / Г. И. Бельков, В. И. Левахин, Е. С. Беломытцев, О. А. Ляпин. — Оренбург, 1987. — 17 с.

457 Левахин В. И. Профилактика транспортных и предубойных стрессов у молодняка крупного рогатого скота / В. И. Левахин, Е. С. Беломытцев, О. А. Ляпин // Мясному скотоводству — интенсивное развитие. — Оренбург, 1988. — 5 с.

458 Фомичев, Ю. П. Предубойные стрессы и качество говядины / Ю. П. Фомичев, Д. Л. Левантин. — М. : Россельхозиздат, 1981. — 158 с.

459 Grandin T. Assessment of stress during handling and transport // Journal of Animal science. — 1997. — V. 75, № 1. — C. 249–257.

460 Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolite concentrations / R. Palme, C. Robia, W. Baumgartner, E. Möstl // Veterinary Record. — 2000. — V. 146, № 4. — P. 108–109.

461 Bristow D. J. Cortisol levels and anxietyrelated behaviors in cattle / D. J. Bristow, D. S. Holmes // Physiol Behav. — 2007. — V. 90, № 4. — P. 626–628.

462 Иммуномодуляторы в ветеринарной практике — применение и противоречия / А. В. Санин, А. Н. Наровлянский, С. В. Ожерелков [и др.] //

ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи РАМН. — М., 2002. — Т. 14. — С. 67–91.

463 Гамавит — антидотная терапия при оксидативном стрессе / А. В. Санин, Л. Г. Зайцева, И. В. Киреева [и др.] // Ветеринарный доктор. — 2008. — № 6. — С. 7–8.

464 Санин А. В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А. В. Санин // Российский журнал ветеринарной медицины. — 2005. — № 1. — С. 38–42.

465 К вопросу о применении иммуномодулирующих препаратов при вирусных инфекциях / С. В. Ожерелков, А. В. Санин, И. К. Васильев [и др.] // Матер. XII межд. моск. конгресса по болезням мелких домашних животных. — М. 22–24.04. — 2004. — С. 9–11.

466 Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking / J. A. Negrao, M. A. Porcionato, A. M. de Passillé [et al.] // Journal of dairy science. — 2004. — V. 87, № 6. — P. 1713–1718.

467 Time lag between peak concentrations of plasma and salivary cortisol following a stressful procedure in dairy cattle / C. E. Hernandez1, T. Thierfelder, K. Svennersten-Sjaunja [et al.] // Acta Veterinaria Scandinavica. — 2014. — V. 56, № 1. — P. 61–87.

468 Zennaro M. C., Rickard A. J., Boulkroun S. Genetics of mineralocorticoid excess: an update for clinicians / M. C. Zennaro, A. J. Rickard, S. Boulkroun [et al.] // Eur. J. Endocrinol. — 2013.— V. 169, N 1. — P. 15–25.

469 Славнов В. Н. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система у пациентов с гипертонической болезнью и эндокринными гипертензиями / В. Н. Славнов, С. Ю. Савицкий, Н. П. Строганова // Укр. кардиол. журн. — 2013. — № 4. — С. 111–116.

470 Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in mild-tomoderate hypertension / M. H. Weinberger, B. Roniker, S. L. Krause, R. J. Weiss // Am. J. Hypertens. — 2002. — V. 15, N 8. — P. 709–716.

471 Багрий А. Э. Новая возможность комбинированной терапии при тяжелой артериальной гипертензии: эплеренон / А. Э. Багрий, Е. А. Коваль // Здоров'я України. — 2009. — № 18/1. — С. 11–13.

472 Белая О. А. Зависимость естественной резистентности организма от уровня микроэлементов в рационе животных / О. А. Белая, Л. Н. Когут, Ю. Ф. Мишанин // Современные проблемы качества и безопасности продуктов питания в свете требований технического регламента таможенного союза: сб. материалов международной научно-практической интернет-конф., 26 марта 2014 г. — Краснодар: изд. КубГТУ, 2014. — 193 с. — С. 48.

473 Гимранов В. В. Биохимические показатели крови при раневом процессе у крупного рогатого скота / В. В. Гимранов // Актуальные проблемы ветеринарной хирургии. — 2011. — С. 43–47.

474 Прокопенко Л. Г. Метаболическая иммуномодуляция / Л. Г. Прокопенко, А. И. Конопля. — Курск, 2000. — С. 307–312.

475 Ермакова Н. В. Сезонная динамика метаболитов перекисного окисления липидов у коров / Н. В. Ермакова, Н. И. Ярован // Вестник ветеринарии. — 2012. — № 63. — С. 4–16.

476 Степанова И. Метод выявления окислительного стресса у крупного рогатого скота / И. Степанова // Главный зоотехник.— 2009.— № 2.— С. 55–58.

477 Вашанов Г. А. Взаимосвязи между основными антиоксидантными системами крови телят разного возраста / Г. А. Вашанов, Н. Н. Каверин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2009. — № 1. — С. 58–61.

478 Зулев Г. С. Изменение концентрации общих липидов в крови телят под влиянием разных доз препарата «эмицидин» / Г. С. Зулев // Вестник Орловского государственного аграрного университета. — 2010. — Т. 23, № 2. — С. 28–30.

479 Препараты на основе растительных экстрактов в кормлении молодняка крупного рогатого скота. Технология кормов и кормления, продуктивность, Технология кормов и кормления, продуктивность, зоогигиена, содержание :

сборник научных трудов / А. Козинец, М. Надаринская, О. Голушко [и др.]. — Жодино, 2014. — С. 95–104. ISSN 0134-9732.

480 Можаев Е. А. Влияние ПАВ на метаболизм липидов у белах крыс / Е. А. Можаев, О. И. Юрасова, О. Г. Чарнеев // Гигиена и санитария. — 1986. — №5. — С. 85–92.

481 Волощенко О.И., Мудрый И.В. Поверхностно-активные вещества в окружающей бреде и здоровье человека: обзор / О. И. Волощенко, И. В. Мудрый // Гигиена и санитария. Труды VII Международного конгресса по поверхностно-активным веществам. — М., 1978. — Т. 4. — С. 206–217.

482 Кадырова Д. В. Влияние пробиотика «Споровит комплекс» на белковый спектр и содержание иммуноглобулинов в крови телят / Д. В. Кадырова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — Оренбург, 2011. — Т. 3, № 31-1. — С. 132–134.

483 Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress / Buckham Sporer, P. S. D. Weber, J. L. Burton [et al.] // Journal of animal science. — 2008. — V. 86, № 6. — P. 1325–1334.

484 Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves / J. D. Arthington, S. D. Eicher, W. E. Kunkle, F. G. Martin // J. Anim. Sci. — 2003. — V. 81. — P. 1120–1125.

485 The effects of photoperiod programs on broiler chicken performance and immune response / A. O. Abbas, A. K. Alm El-Dein, A. A. Desoky, M. A. A. Galal // International Journal of Poultry Science. — 2008. — V. 7, № 7. — P. 665–671.

486 Fauci A. S. Mechanisms of corticosteroid action on lymphocytes subpopulation. I. Redistribution of circulating T and B lymphocyte to the bone marrow / A. S. Fauci // Immunology. — 1975. — V. 28. — P. 669–678.

487 Effect of dietary supplemental levels of vitamin A on the egg production and immune responses of heat-stressed laying hens / H. Lin, L. F. Wang, J. L. Song [et al.] // Poultry science. — 2002. — V. 81, № 4. — P. 458–465.

488 Effect of photoperiod and melatonin on lymphocyte activities in male broiler chickens / C. A. Kliger, A. E. Gehad, R. M. Hulet [et al.] // Poult. Sci. — 2000. — V. 79. — P. 18–25.

489 The Effect of Lighting Program and Melatonin on the Alleviation of the Negative Impact of Heat Stress on the Immune Response in Broiler Chickens / Ahmed O. Abbas, E. Ahmed Gehad, L. Gilbert [et al.] // Int. J. Poult. — Sci. — 2007. — V. 9. — P. 651–660.

490 Dietert R. R. Environment-immune interactions / R. R. Dietert, K. A. Golemboski, R. E. Austic // Poult. Sci. — 1994. — V. 73. — P. 1062–1076.

491 Durations of Cold Stress Modulates Overall Immunity of Chicken Lines Divergently Selected for Antibody Responses. Immunology and molecular biology / B. N. Hangalapura, M. G. B. Nieuwland, G. de Vries Reilingh [et al.] // Poultry Science. — 2004. — V. 83. — P. 765–775.

492 Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in sexually abused girls / M. D. De Bellis, G. P. Chrousos, L. D. Dorn [et al.] // J. Clin. Endocr. — 1994. — V. 78. — P. 249–255.

493 Aoyama K. Regulation of neuronal glutathione synthesis / K. Aoyama, W. Masahiko, N. Toshio // Journal of pharmacological sciences. — 2008. — V. 108, № 3. — P. 227–238.

494 Dringen R. Glutathione pathways in the brain / R. Dringen, J. Hirrlinger // Biol. Chem. — 2003. — V. 384. — P. 505–516.

495 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. — Dec 1 — V. 66(5). — P. 873–884.

496 Maher P. The effects of stress and aging on glutathione metabolism / P. Maher // Ageing research reviews. — 2005. — V. 4, № 2. — P. 288–237.

497 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. — V. 22, № 7. — P. 1203–1209.

498 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.

499 Oxidized forms of glutathione in peripheral blood as biomarkers of oxidative stress / R. Rossi, I. Dalle-Donne, A. Milzani, D. Giustarini // Clinical chemistry. — 2006. — V. 52, № 7. — P. 1406–1414.

500 Mc Growder D. Effects of nitric oxide on glucose transport: in vivo and in vitro studies [Text] / D. Mc Growder, P. D. Brown // Asian J. Biochem. — 2007. — V. 2. — P. 1–18.

501 Szabo S. The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: a retrospective 75 years after his landmark brief «Letter» to the Editor of Nature / S. Szabo, Y. Tache, A. Somogyi. — 2012. — V. 15, N 5. — P. 472–478. DOI: 10.3109/10253890.2012.710919

502 Characterisation of glucose transporter (GLUT) gene expression in broiler chickens [Text] / T. Kono, M. Nishida, Y. Nishiki [et al.] // Br. Poult. Sci. — 2005. — V. 46. — P. 510–515.

503 Chrousos G. P. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis / G. P. Chrousos, P. W. Gold // J. Am. Med. Assoc. — 1992. — V. 267. — P. 1244–1252.

504 Wuyi L. Insights into the molecular mechanism of glucose metabolism regulation under stress in chicken skeletal muscle tissues / L. Wuyi // Saudi Journal of Biological Sciences. — 2014. — V. 21, № 3. — P. 197–203.

505 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. — V. 165, № 2. — P. 345–350.

506 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.

507 The effects of short-term fastingon activity, corticosterone, and corticosterone binding globulin in amigratory songbird, Gambel's white-crowned sparrow (Zonotrichia leucophrys gambelii) / S. E. Lynn, C. W. Breuner, J. C. Wingfield [et al.] // Hormones and Behavior. — 2003. — V. 43. — P. 150–157.

508 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. — V. 6. — P. 159–164.

509 Tinnikov A. A. Responses of serum corticosterone and corticosteroid-binding globulin to acute and prolonged stress in the rat / A. A. Tinnikov // Endocrine. — 1999. — V. 11. — P. 145–150.

510 Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens / A. Collin, C. Berri, S. Tesseraud [et al.] // Poultry Science. — 2007. — V. 86. — P. 795–80.

511 Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum C. Garriga, R. R. Hunter, C. Amat [et al.] // Am. J. Physiol. — 2006. — V. 290. — R195–R201.

512 Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality / T. Loyau, C. Berri, L. Bedrani [et al.] // Journal of Animal Science. August 2013. — V. 91. — P. 3674–3685.

513 Lundberg J. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / J. Lundberg, E. Weitzberg, M. Gladwin // Nat. Rev. Drug Discov. — 2008. — V. 7. — P. 156–167.

514 Leung P. Role of oxidative stress in pancreatic inflammation / P. Leung, Y. Chan // Antioxid. Redox Signal. — 2009. — V. 11, № 1. — P. 135–165. doi: 10.1089/ars.2008.2109.

515 Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver / K. Begriche, J. Massart, M. A. Robin [et al.] // Journal of hepatology. — 2011. — V. 54, № 4.— P. 773–794.

516 Esterbauer H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / H. Esterbauer, R. J. Schaur, H. Zollner // Free Radic BiolMed. — 1991. — V. 11. — P. 81–128.

517 Sampey B. P. Ethanol-induced modulation of hepatocellular extracellular signal-regulated kinase-1/2 activity via 4-hydroxynonenal / B. P. Sampey, B. J. Stewart, D. R. Petersen // J. Biol. Chem. — 2007. — V. 282. — P. 1925–1937.

518 Lay D. C. Jr. Development of the chicken as a model for prenatal stress / D. C. Jr. Lay, M. E. Wilson // Physiology and Endocrinology // J. Anim. Sci. — 2002. — V. 80. — P. 1954–1961.

519 Vitamin-C amelioration of the adrenal stress response in broiler-chickens being prepared for slaughter / D. G. Satterlee, I. Aguileraquintana, B. J. Munn, B. A. Krautmann // Comp. Bioch. Physiol. A Physiol. — 1989. — V. 94. — P. 569–574.

520 Effects of vitamin C supplementation on plasma ascorbic acid and oxalate concentrations and meat quality in swine / S. J. Pion, E. van Heughten, M. T. See [et al.] // J. Anim. Sci. — 2004. — V. 82. — P. 2004–2012.

521 The influence of vitamin C on the antioxidative status of chickens in vivo, at slaughter and on the oxidative stability of broiler meat products / C. Lauridsen, C. Jensen, K. Jakobsen [et al.] // Acta Agric. Scand. Sect. A-Anim. Sci. — 1997. — V. 47. — P. 187–196.

522 Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise / D. Thompson, C. Williams, S. J. McGregor [et al.] // Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. — 2001. — V. 11. — P. 466–481.

523 Effect of vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run / B. Dawson, G. J. Henry, C. Goodman [et al.] // Int. J. Sports Med. — 2002. — V. 23. — P. 10–15.

524 Peeters E. Meat Science and Muscle Biology Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, vitamin E, and herbs on stress responses and pork quality / E. Peeters, B. Driessen, R. Geers // J. ANIM. SCI. — 2006. — V. 84. — P. 1827–1838. doi:10.2527/jas.2005–600.

525 Variations in chicken breast meat quality: Implications of struggle and muscle glycogen content at death / C. Berri, M. Debut, V. Santre-Lhoutellier [et al.] // Br. Poult. Sci. — 2005. — V. 46. — P. 572–579.

526 Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions / M. Debut, C. Berri, E. Baeza [et al.] // Poult. Sci. — 2003. — V. 82. — P. 1829–1838.

527 Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in an experimental broiler line E. Le Bihan-Duval, C. Berri, E. Baeza [et al.] // Poult. Sci. — 2001. — V. 80. — P. 839–843.

528 Shivendra D. Shukla Metabolic turnover of ethanol into cellular lipids and platelet activating factor / D. Shivendra // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2001. — V. 25, N 5. — Suppl ISBRA. — P. 33–39.

529 Ozbay T. ACTH regulates steroidogenic gene expression and cortisol biosynthesis in the human adrenal cortex via sphingolipid metabolism / T. Ozbay, A. H. Jr. Merrill, M. B. Sewer // Endocr Res. — 2004. — V. 30, N 4. — P. 787–94.

530 Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологи / М. Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2001. — № 3. — С. 28–32.

531 Судаков К. В. Индивидуальность эмоционального стресса / К. В. Судаков // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2005. — №2. — С. 4–12.

532 Подковкин В. Г. Влияние краткосрочной изоляции на поведение крыс в тесте «открытое поле» / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов // Успехи современного естествознания. — 2009. — № 6. — С. 12–17.

533 Терезина Е. В. Роль жирных кислот в развитии возрастного окислительного стресса. Гипотеза / Е. В. Терешина // Успехи геронтологии. — 2007. — Т. 20, № 1. — С. 59–64.

534 Изменение состава жирных кислот плазмы крови при патологических состояниях, связанных с хроническим и острым стрессом / А. Н. Осипенко, Н. В. Акулич, А. В. Марочков, Д. А. Орлов // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : материалы III Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 16–17 апреля 2013 г. — Витебск : ВГУ им. П. М. Машерова, 2013. — С. 26–29. — URI: http://lib.vsu.by/xmlui/handle/123456789/3808

535 Якушев В. С. Изменение концентрации неэстерифицированных жирных кислот и магния при эмоциональном стрессе / В. С. Якушев, А. А. Рыжов, Е. В. Миронова // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 1989. — Т. 75, № 8. — С. 1146.

536 Ляшев Ю. Д. Влияние опиоидных пептидов и мелатонина на липидный обмен при хроническом стрессе / Ю. Д. Ляшев, В. С. Суриков, А. В. Солин // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». — 2013. — № 4. — С. 35–41.

537 Ringold J. M. Steroid hormone regulation of gene expression / J. M. Ringold // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.— 1995.—V. 25, N 4. — P. 529–534.

538 Фадеева М. И. Вторичное ожирение / М. И. Фадеева, Л. В. Савельєва // Ожирение и метаболизм. — 2014.— Т. 11, № 1.— С. 42–47.

539 Байдевлятов А. Б. Методические рекомендации по профилактике стрессов в птицеводстве / А. Б. Байдевлятов, В. П. Николаенко, Л. А. Ольховик. — Харьков, 1979. — 13 с.

540 Tabor C. W. 1,4-diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine / C. W. Tabor, H. Tabor // Ann. Rev. Biochcm. — 1976. — V. 45, № 1. — С. 285–306.

541 Rosinská D. Influence of temperature on production of biogenic amines in pork, beef and poultry and their HPLC determination after postcolumn derivatization /

D. Rosinská, J. Lehotay // Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. — 2014. — V. 37, Is. 5. —P. 609–619.

542 Lower polyamine levels in breast milk of obese mothers compared to mothers with normal body weight / M. A. Ali, B. Strandvik, C. Palme-Kilander, A. Yngve // Journal of Human Nutrition and Dietetics. — 2013. — V. 26, Is. 1. — P. 164–170.

543 Обмен полиаминов в миокарде при моделировании регенераторно-пластической сердечной недостаточности у крыс / Д. П. Хлопонин, Ю. С. Макляков, Ю. Н. Кротова, В. Н. Каркищенко // Биомедицина. — 2012. — № 1. — P. 10–15.

544 Adibhatla R. M. Polyamines and central nervous system injury: spermine and spermidine decrease following transient focal cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats / R. M. Adibhatla, J. F. Hatcher, K. Sailor // Brain Res. — 2002. — V. 938. — P. 81–86.

545 Igarashi K. Physiological functions of polyamines and regulation of polyamine content in cells / K. Igarashi, Z. Yakugaku // Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. — 2006. — V. 126, № 7. — P. 455–471.

546 Moinard C. Polyamines: metabolism & implications in human diseases / C. Moinard, L. Cynober, J.-P. De Bandt // Clin. Nutrit. — 2005. — V. 24. — P. 184–197.

547 Binh P. N. T. Gross domestic product and dietary pattern among 49 western countries with a focus on polyamine intake / P. N. T. Binh , K. Soda, M. Kawakami // Health. — 2010. — V. 2, Is. 11. — P. 1327–34.

548 Relationship between food polyamines and gross domestic product in association with longevity in Asian countries / P. Nguyen, T. Binh, K. Soda [et al.] // Health. — 2010. — V. 2, N 12. — 1390–1396.

549 Ali M. A. Polyamines in foods: development of a food database / M. A. Ali, E. Poortvliet, R. Strömberg, A. Yngve // Food Nutrition Research. — 2011. — V. 55. — P. 5572. DOI: 10.3402/fnr.v55i0.5572.

550 Polyamines: total daily intake in adolescents compared to the intake estimated from the Swedish Nutrition Recommendations Objectified (SNO) / M. A. Ali, E. Poortvliet, R. Strömberg, A. Yngve // Food Nutrition Research. — 2011. — V. 55. — P. 54–55. DOI: 10.3402/fnr.v55i0.55455.

551 Loser C. Polyamines in human and animal milk / C. Loser // Br J Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — P. 55–80.

552 Bardocz S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health / S. Bardocz // Trends Food Sci Technol. — 1995. — V. 6, № 10. — P. 341–6.

553 Loser C. Importance of various intracellular regulatory mechanisms of polyamine metabolism in camostate-induced pancreatic growth in rats / C. Loser, U. R. Folsch // Digestion. — 1993. — V. 54, № 4. — P. 213–23.

554 Ali M. A. Polyamines in Foods and Human Milk / M. A. Ali. — Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, 2011. — 67 p.

555 Effects of dietary polyamines and clofibrate on metabolism of polyamines in the rat / B. P. Brodal, K. A. Eliassen, H. Ronning, H. Osmundsen // J. Nutr. Biochem. — 1999. — V. 10. — P. 700–708.

556 Long-Term Oral Polyamine Intake Increases Blood Polyamine Concentrations / K. Soda, Y. Kano, M. Sakuragi [et al.] // J. Nutr. Sci. Vitaminol. —2009. — V. 55. — P. 361–366.

557 Effect of peroxides on spermine transport in rat brain and liver mitochondria / V. Battaglia, E. Tibaldi, S. Grancara [et al.] // Amino Acids. — 2012. — V. 42, N 2–3. — P. 741-9. doi:10.1007/s00726-011-0990-3.

558 Dietary supplementation with monosodium glutamate is safe and improves growth performance in postweaning pigs / R. Rezaei, D. A. Knabe, C. D. Tekwe [et al.] // Amino Acids. — 2013. — V. 44. — P. 911–923. doi: 10.1007/s00726-012-1420-x.

559 Fafournoux P. Amino acid regulation of gene expression / P. Fafournoux, A. Bruhat, C. Jousse // Biochem. J. — 2000. — V. 351. — P. 1–12.

560 Miska K. B. The mRNA expression of amino acid transporters, aminopeptidase N, and the di- and tri-peptide transporter PepT1 in the embryo of the domesticated chicken (Gallus gallus) shows developmental regulation / K. B. Miska, R. H. Fetterer, E. A. Wong // Poultry science. — 2014. — V. 93, № 9. — P. 2262–70. doi: 10.3382/ps.2014-03983.

561 Dietary requirements of «nutritionally nonessential amino acids» by animals and humans / G. Wu, Z. L. Wu, Z. L. Dai [et al.] //Amino Acids. — 2013. — V. 44. — P. 1107–1113. doi: 10.1007/s00726-012-1444-2

562 Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition / G. Wu // Amino acids. — 2009. — V. 37, № 1. — P. 1–17.

563 Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction and health / G. Wu // Adv Nutr. — 2010. — V. 1. — P. 31–37. doi: 10.3945/an.110.1008.

564 The effects of conjugated linoleic acid on growth performance, carcass traits, meat quality, antioxidant capacity, and fatty acid composition of broilers fed corn dried distillers grains with soluble / W. Jiang, S. Nie, Z. Qu [et al.] // Poultry science. — 2014. — V. 93, № 5. — P. 1202–1210.

565 Prendergast M. A. Glucocorticoid and polyamine interactions in the plasticity of glutamatergic synapses that contribute to ethanol-associated dependence and neuronal injury / M. A. Prendergast, P. J. Mulholland // Addict Biol. — 2012. — V. 17, № 2. — P. 209–223. doi: 10.1111/j.1369-1600.2011.00375.x.

566 Continuous oxidative stress due to activation of polyamine catabolism accelerates aging and protects against hepatotoxic insults / M. Cerrada-Gimenez, M. Pietila, S. Loimas [et al.] // Transgenic Research. — 2011. — V. 20, № 2. — P. 387–96. doi: 10.1007/s11248-010-9422-5.

567 Hobbs C. A. High levels of intracellular polyamines promote histone acetyltransferase activity resulting in chromatin hyperacetylation / C. A. Hobbs, S. K. Gilmour // J Cell Biochem. — 2000. — V. 77, № 3. — P. 345–360.

568 Polyamines contribute to EWD-induced neurotoxicity in rat hippocampal slice cultures / D. A. Gibson, B. R. Harris, M. A. Prendergast [et al.] // Alcohol Clin Exp Res. — 2003. — V. 27. — P. 1099–1106. [PubMed].

569 Rhee H. J. Physiological polyamines: simple primordial stress molecules / H. J. Rhee, E. J. Kim, J. K. Lee // J Cell Mol Med. — 2007. — V. 11. — P. 685–703.

570 Wallace H. M. A perspective of polyamine metabolism / H. M. Wallace, A. V. Fraser, A. Hughes // Biochem J. — 2003. — V. 15, № 376. — Pt 1. — P. 1–14.

571 Schneider J. Biotechnological production of polyamines by bacteria: recent achievements and future perspectives / J. Schneider, V. F. Wendisch // Appl Microbiol Biotechnol. — 2011. — V. 91. — P. 17–30.

572 Допинг и эргогенные средства в спорте / Под общ. ред. В. Н. Платонова. — К. : Олимпийская литература, 2003. — 576 с.

573 Олейник С. А. Препараты аминокислот и их производных в спортивной медицине: аргинин, лизин, метионин, N-ацетилцистеин, триптофан, аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью, гистидин, таурин и другие непротеиногенные аминокислоты / С. А. Олейник, Н. А. Горчакова, И. В. Коваль, С. М. Футорный // Спортивна медицина. — № 01. — 2005. — С. 114–143.

574 Гусейнов Г. О. Роль полиаминов в защите организма при экстремальных воздействиях / Г. О. Гусейнов, И. А. Исмаилов // Сб. научных трудов «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии». — Томск, 2004. — Вып. 1. — С. 412–414.

575 Долл Р. Причины рака: Количественная оценка устранимых факторов риска онкологических заболеваний в США / Р. Долл, Р. Пито. — К. : Наукова думка, 1984. — 256 с.

576 Беспалов В. Г. Питание и рак. Диетическая профилактика онкологических заболеваний / В. Г. Беспалов. — М. : ЮСМА, 2008. — 176 с.

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

578 Catros-Quemener V. Les polyamines: Role diagnostique et cible therapeutique en cancerologie / V. Catros-Quemener, L. Chamaillard, F. M. Bouet // S-Medecine /Sciences. — 1999. — V. 15. — P. 1078–1085 (in French).

579 Kalač P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods / P. Kalač, P. Krausová // Food Chemistry. — 2005. — V. 90, № 1. — P. 219–230.

580 Glossman H. Molecular properties of Na-induced disease / H. Glossman, J. Striessing // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. — 1990. — V. 114. — P. 98–105.

581 Современные особенности питания и иммунная система / И. М. Петров, Т. А. Гагина, И. А. Трошина, И. В. Медведева // Сибирский медицинский журнал. — 2006. — № 6. — С. 10–14.

582 Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999–2002 / A. A. Hedley C. L. Ogden, C. L. Johnson [et al.] // JAMA. — 2004. — V. 291. — P. 2847–2850.

583 Freitas A. A. Lymphocyte lifespans: homeostasis, selection and competition A. A. Freitas, B. B. Rocha // Immunol. Today. — 1993. — V. 14, № 1. — P. 25–29.

584 Psychotropic screening procedures / R. D. Porsolt, R. A. McArthur, A. Lenegre, F. van Haaren // Methodsin Behavioral Pharmacology. — New York : Elsevier, 1993. — P. 23–51.

585 Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment / R. D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet [et al.] // Europ. J. Pharmacol. — 1978. — V. 47. — P. 379–391.

586 Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов / В. Н. Каркищенко, Г. Д. Капанадзе, С. Е. Деньгина, Н. В. Станкова // Биомедицина. — 2011. — № 1. — С. 72–74.

587 Агаджанян Н. А. Адаптация, экология и восстановление здоровья / Н. А. Агаджанян, А. Т. Быков, Г. М. Коновалова. — М. : Краснодар, 2003. — 260 с.

588 Показатели неспецифической реакции адаптации лабораторных животных с различным уровнем функции щитовидной железы / С. В. Мирошников, С. В. Лебедев, А. А. Барабаш, А. Б. Тимашева // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2011. — № 1. — Вып. 120. — С. 141–143.

589 Мирошников С. В. Особенности адаптационных реакций у лиц с высоко- и низконормальным уровнем тиреотропного гормона, проживающих на территории эндемичной по зобу / С. В. Мирошников, С. В. Нотова, О. В. Кван // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2011. — № 12(131). — С. 293–297.

590 Агаджанян Н. А. Нормальная физиология / Н. А. Агаджанян, В. М. Смирнов. — М. : МИА, 2009. — С. 484–490.

591 Орлова Е. Г. Модуляция функциональной экспрессии адренорецепторов фагоцитирующих клеток при остром стрессе и введении гидрокортизона / Е. Г. Орлова, Д. В. Ланин, Ю.Ш. Шилов // Медицинская иммунология. — 2003. — Т. 5, № 3–4. — С. 209–210.

592 Барабой В. А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу / В. А. Барабой, О. Г. Резніков. — К. : Інтерсервіс, 2013. — 313 с.

593 Самохвалов В. П. Психиатрическая герменевтика: обоснование направления / В. П. Самохвалов / Таврический журнал психиатрии. — 2002. — Т. 6, № 3. — С. 4–10.

594 Симонов П. В. Лекции о работе головного мозга: потребностно-информационная теория высшей нервной деятельности / П. В. Симонов. — М. : Наука, 2001. — 95 с.

595 Фридман В. С. Обезьяны «говорящие» или только «думающие»? / В. С. Фридман, С. А. Бурлак // Этология. — Ру: http://ethology. ru/library

596 Зорина З. А. О чем рассказали «говорящие» обезьяны: Способны ли высшие животные оперировать символами? / З. А. Зорина, А. А. Смирнова. — М. : Языки славянских культур, 2006. — 424 с. ISBN 5-9551-0129-2

597 Slocombe K. E. Agonistic screams in wild chimpanzees (Pan troglodytes schweinfurthii) vary as a function of social role / K. E. Slocombe, K. Zuberbuhler // J Comp. Psychol. — 2005. — V. 119, № 1. — P. 67–77.

598 Pica S. Referential gestural communication in wild chimpanzees (Pan troglodytes) / S. Pica, J. Mitani // Current Biology. — 2005. — V. 16, № 6. — P. 191–192.

599 Жуков Д. Заяц как символ высокоадаптивной стратегии затаивания / Д. Жуков // Отечественные записки. — 2014. — № 3. — С. 60–71.

600 Чебыкина Л. Пойми друга. Справочник по поведению собак / Л. Чебыкина, А. В. Санин. — М. : Локид-Пресс, 2005. — 302 с. ISBN 5-320-00399-4

601 Панченко Л. Л. Стресс: Хрестоматия / Л. Л. Панченко. — Владивосток : Мор. гос. ун-т. — 2003. — 120 с.

602 Buckingham J. C. Stress, Stress Hormones, and the Immune System / J. C. Buckingham, G. E. Gillies, A.-M. Cowell ; (eds.) John Wiley & Sons. — New York, 1997. — 198 c.

603 Оганисян А. О. Коррекция количественных изменений лимфоцитов периферической крови кроликов в условиях воздействия шума при вскармливании корнями солодки / А. О. Оганисян, С. М. Минасян, К. Р. Оганесян // Биологический журнал Армении. — 2011. — Т. 63, № 1. — С. 6–9.

604 Лесик Я. В. Показники клітинного та гуморального імунітету організму кролів за згодовування різних кількостей цитрату та хлориду хрому / Я. В. Лесик, Р. С. Федорук, І. І. Ковальчук // Біологія тварин. — 2012. — Т. 14, № 1–2. — С. 32–39.

605 Стовбурові клітини плаценти: біологічна характеристика та підходи до клінічного застосування / Х. М. Насадюк // Клітинна та органна трансплантологія. — 2014. — Т. 2, № 2. — С. 136–139. — Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ktot_2014_2_2_7

606 Шпак В. С. Тканинні базофіли та органогенез передміхурової залози людини у пренатальному онтогенезі : дис. … канд. мед. наук : 14.03.09 «гістологія, цитологія, ембріологія» / Шпак Вячеслав Станіславович. — Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця. — Київ, 2001. — 224 с.

607 Bee Ling Ng. Factors affecting flow karyotype Resolution / Ng Bee Ling, P. Carter Nigel // Cytometry Part A. — 2006. — V. 69A, Is. 9. — P. 1028–1036. DOI: 10.1002/cyto.a.20330

608 Волошин Я. М. Клініко-гістологічний аналіз рубців і виразок шкіри, які довго не загоюються при тканинній терапії / Я. М. Волошин, Д. М. Хаютин, Є. М. Ланда // Лікарська справа. — 1950. — № 9. — С. 829–836.

609 Вплив водних екстрактів з консервованої шкіри на загоєння ран / В. В. Ковальський, Л. І. Палладін, С. Е. Епельбаум, А. І. Ролл // Бюлетень експериментальної біології. — 1945. — Т. 20, N. 4–5. — С. 33–36.

610 Міхельсон Н. М. Рубці шкіри після опіків і боротьба з ними / Н. М. Міхельсон. — М., 1947. — 346 с.

611 Єршкович І. Г. Тканинна терапія каузалгії і фантомних болів / І. Г. Єршкович // Вчені записки Українського експериментального інституту захворювань очей ім. акад. В. П. Філатова. — 1949. — Т. 1. — С. 202–207.

612 Розенцвайг А. М. Ефективність антибактеріальної і тканинної терапії при нейрооптикомієліті / А. М. Розенцвайг // Офтальмологічний журнал. — 1958. — № 4. — С. 232–235.

613 Курако Ю. Л. Диференційована тканинна терапія посттравматичних церебральних арахноїдитів / Ю. Л. Курако, В. Е. Волянський. — У зб.

Профілактика і лікування сільськогосподарських тварин. — Одеса, 1972. — С. 21–24.

614 Hunter D. C. Polyamines of Plant Origin — An Important Dietary Consideration for Human Health / D. C. Hunter, D. J. Burritt. In: Phytochemicals as Nutraceuticals — Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health. / Ed. by Dr Venketeshwer Rao. — Rijeka. Croatia: Publisher InTech, 2012. — P. 225–244. ISBN 978-953-51-0203-8

615 Metabolic correlations of glucocorticoids and polyamines in inflammation and apoptosis / G. Bjelaković, I. Stojanović, T. J. Stoimenov [et al.] // Amino acids. — 2010. — V. 39, N 1. — P. 29–43.

616 Nishimura K. Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink / K. Nishimura, S. K. Kashiwagi, K. Igarashi // Journal of Biochemistry. — 2006. — V. 139. — P. 81–90.

617 Spermidine decreases Na^+-, K^+-ATPase activity through NMDA receptor and protein kinase G activation in the hippocampus of rats / F. B. Carvalho, C. F. Mello, P. C. Marisco [et al.] // Eur J Pharmacol. — 2012. — V. 684. — P. 79–86.

618 Efremov O. M. Effect of modulators of the polyamine site on the development of seizures induced by systemic and intracerebral administration of N-methyl-D-aspertate in albino mice / O. M. Efremov, S.E. Serdyuk, V. E. Gmiro / Bull Exp Biol Med. — 2007. — V. 143, N 5. — P. 620–622.

619 Влияние спермина и глицина на вызванные локальной ишемией мозга нарушения условнорефлекторных навыков у крыс // А. В. Журавский, И. В. Комиссаров, К. В. Стрюченко, В. Н. Тихонов // Архив клинич и эксперим медицины. — 2002. — Т. 11. — С. 303–306.

620 Gilad G. M. Overview of the brain polyamine-stress-response: regulation, development, and modulation by lithium and role in cell survival / G. M. Gilad, V. H. Gilad // Cell Mol Neurobiol. — 2003. — V. 23. — P. 637–649.

621 Влияние дельта-сониндуцирующего пептида на биосинтез макромолекул в тканях головного мозга грызунов, подвергнутых стрессу / М. Г. Маклецова,

И. И. Михалева, И. А. Прудченко, Г. Т. Рихирева // Бюл. эксп биол мед. — 2006. — Т. 141. — Р. 400–403.

622 Hexachlorobenzene-induced early changes in ornithine decarboxylase and protein tyrosine kinase activities, polyamines and c-Myc, c-Fos and c-Jun proto-oncogenes in rat liver / A. S. Randi, S. Hernandez, L. Alvarez [et al.] // Toxicol Sci. — 2003. — V. 76. — P. 291–298.

623 Polyaminergic agents modulate contextual fear extinction in rats / G. M. Gomes, C. F. Mello, M. M. da Rosa [et al.] // Neurobiol Learn Mem. — 2010. — V. 93. — P. 589–595.

624 Роль обмена полиаминов в функциональной активности мозга в норме и при патологи / Т. Т. Березов, М. Г. Маклецова, С. П. Сяткин [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. — 2013. — Т. 7. — С. 65–70.

625 Soulet D. Polyamines play a critical role in the control of the innate immune response in the mouse central nervous system / D. Soulet, S. Rivest // JCB. — 2003. — V. 162. — P. 257–268.

626 Brooks W. H. Autoimmune diseases and polyamines / W. H. Brooks // Clin Rey Allergy Immunol. — 2012. — V. 42. — P. 58–70.

627 Hong S. K. Increased expression and cellular localization of spermine oxidase in ulcerative colitis and relationship to disease activity / S. K. Hong // Inflamm Bowel Dis. — 2010. — V. 16. — P. 1557–1566.

628 Increased recycling of polyamines is associated with global DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts / E. Karouzakis, R. E. Gay, S. Gay, M. Neidhart // Arthritis Rheum. — 2012. — V. 64. — P. 1809–1817.

629 Павлова И. Е. Влияние спленэктомии на состояние иммунной систему больных с синдромом портальной гипертензии: отдаленные результаты / И. Е. Павлова // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 11. — 2007. — Вып. 3. — С. 118–127.

630 Oren M. Men with no spleens and carved out feet: what is the meaning in the words? / M. Oren, J. Herman, J. Elbaum // Ann Intern Med. — 1998. — V. 129. — P. 756–8.

631 А. с. № 111934 СССР. МПК А 61 К 17/00, 35/00. Способ получения препарата спленина для лечения токсикоза на ранних сроках беременности / Комисаренко В. П.; заявл. 05.10.1957 № 584015 ; Москва, 1957. — 4 с.

632 Бузуева И. И. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии нисаг после превентивного лечения теразозином / И. И. Бузуева, Е. Е. Филюшина, М. Д. Шмерлинг // Бюллетень СО РАМН. — 2010. — Т. 30. — № 4. — С. 56–61.

633 Ковешников В. Г. Строение белой пульпы селезёнки половозрелых крыс, находившихся под влиянием бисфосфоната «Зомета» на ультрамикроскопическом уровне / В. Г. Ковешников, Е. А. Стаценко, Е. К. Нужная // Український морфологічний альманах. — 2010. — Т. 8. — № 2. — С. 247–248.

634 Cesta M. F. Normal structure, function, and histology of the spleen / M. F. Cesta // Toxicol. pathol. — 2006. — № 34. — P. 455–465.

635 Нестерова А. А. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика селезенки при хроническом стрессе в раннем постнатальном онтогенезе: автореф. дис. … канд. мед. наук : 03.00.25 / Алла Анатольевна Нестерова. — Волгоград, 2007. — 18 с.

636 Effects of glucocorticoids on polyamine metabolism in liver and spleen of guinea pig during sensitization / G. Bjelakovic, D. Pavlovic, I. Stojanovic [et al.] // Amino Acids. — 2006. — V. 31. — P. 457–462

637 UPR pathways combine to prevent hepatic steatosis caused by ER stressmediated suppression of transcriptional master regulators / D. T. Rutkowski, J. Wu, S. H. Back [et al.] // Dev. Cell. — 2008. — V. 15. — P. 829–840.

638 Cretenet G. Circadian clock-coordinated 12 Hr period rhythmic activation of the IRE1alpha pathway controls lipid metabolism in mouse liver / G. Cretenet, M. Le Clech, F. Gachon // Cell Metab. — 2010. — V. 11. — P. 47–57.

639 GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice / H. L. Kammoun, H. Chabanon, I. Hainault [et al.] // J. Clin. Invest. — 2009. — V. 119. — P. 1201–1215.

640 Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1 / A. H. Lee, E. F. Scapa, D. E. Cohen L. H. Glimcher // Science. — 2008. — V. 320. — P. 1492–1496.

641 The regulatory subunits of PI3K, p85alpha and p85beta, interact with XBP-1 and increase its nuclear translocation / S. W. Park, Y. Zhou, J. Lee [et al.] // Nat. Med. — 2010. — V. 16. — P. 429–437.

642 Abo T. Physiological responses of extrathymic T cells in the liver / T. Abo, T. Kawamura, H. Watanabe // Immunological reviews. — 2000. — V. 174, № 1. — P. 135–149.

643 Haus E. Chronobiology in the endocrine system / E. Haus // Advanced Drug Delivery Reviews. — 2007. — V. 59. — P. 985–1014.

644 Mormont M. C. Contribution of the rest-activity circadian rhythm to quality of life in cancer patients / M. C. Mormont, J. Waterhouse // Chronobiol Int. — 2002. — V. 19. — P. 313– 23.

645 Elevated serum cytokines correlated with altered behavior, serum cortisol rhythm, and dampened 24-hour rest-activity patterns in patients with metastatic colorectal cancer / T. Rich, P. F. Innominato, J. Boerner [et al.] // Clinical Cancer Research. — 2005. — V. 11, № 5. — P. 1757–1764.

646 Price D. A. Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy / D. A. Price, G. C. Close, B. A. Fielding // Archives of Disease in Childhood. — 1983. — V. 58, № 6. — P. 454–456.

647 The cortisol response to awakening in relation to different challenge tests and a 12-hour cortisol rhythm / A. Schmidt-Reinwald, J. C. Pruessner, D. H. Hellhammer [et al.] // Life sciences. — 1999. — V. 64, № 18. — P. 1653–1660.

648 Twin study of the 24-h cortisol profile: evidence for genetic control of the human circadian clock / P. Linkowski, A. Van Onderbergen, M. Kerkhofs [et al.] // Am. J. Physiol. — 1993. — V. 264, № 2, Pt. 1. — E173–E181.

649 Gibson M. Shipping stress and social status effects on pig performance, plasma cortisol, natural killer cell activity, and leukocyte numbers' / M. Gibson, R. L. Norman // J Anim Sci. — 1993. — V. 71. — P. 888–896.

650 Indiviual behavioral and physiological strategies in pigs / M. J. C. Hessing, A. M. Hagelso, W. G. P. Schouten [et al.] // Physiol Behav. — 1994. — V. 55. — P. 39–46.

651 Кузьменко Е. В. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови крыс с различной реакцией на стресс / Е. В. Кузьменко, Н. А. Никифорова, М. О. Иваненко // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. — 2010. — Вип. 11, № 905. — С. 173–177.

652 Фролов Б. А. Роль соотношения цАМФ/гЦМФ в постстрессорной активации первичного иммунного ответа / Б. А. Фролов, С. Н. Афонина, Ф. З. Меерсон // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1985. — № 5. — С. 23–26.

653 Сківка Л. М. Весняна іменинниця — імунна система та її значення для процесів репродукції / Л. М. Сківка // Медицинские аспекты здоровья женщины. — 2013. — № 4 (68). — С. 5–12.

654 Immunology of Pregnancy. Editors: Mor, Gil (Ed.) : NY, Medical Intelligence Unit. — 2006. — 323 p.

655 Cross-talk between neural stem cells and immune cells:the key to better brain repair? / Z. Kokaia, G. Martino, M. Schwartz, O. Lindvall // Nat Neurosci. — 2012. — V. 15, N 8. — P. 1078–87.

656 Odegaard J. I. The immune system as a sensor of the metabolic state / J. I. Odegaard, A. Chawla // Immunity. — 2013. — V. 38, N 4. — P. 644–54.

657 Yehuda R. Stress and glucocorticoids / R. Yehuda // Science. — 1997. — V. 275. — P. 1662–1663.

658 The renin angiotensin system and the stress response / G. Aguilera, A. Kiss, Xun Luo, B.-S. Akbasak // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1995. — V. 771. — P. 173–186.

659 Sinergic roles of inter- leukin-6, interleukin-1 and tumor necrosis necrosis factor in adrenocorticotropin response to bacterial lipopolysacharide in vitro / R. S. Peristein, M. H. Whitnall, J. S. Abrams [et al.] // Endocrinology. — 1993. — V. 132. — P. 946–952.

660 Culman J. Hypothalamic tachykinis. Mediators of stress responses? / J. Culman, K. Itoi, Th. Unger // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1995. — V. 771. — P. 204–218.

661 Арушанян Э. Б. Значение иммунологического фактора для фармакологии анксиолитических и антидепрессивных средств / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2004. — Т. 67, № 5. — С. 71–77.

662 Болотников И. А. Гематология птиц / И. А. Болотников, Ю. В. Соловьев. — Л. : Наука, 1980. — С. 35–39.

663 Карпуть И. М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И. М. Карпуть. — Минск : Ураджай, 1993. — 288 с.

664 Митюшников В. М. Естественная резистентность сельско-хозяйственной птицы / В. М. Митюшников. — М. : Россельхозиздат, 1985. — 160 с.

665 Карпуть И. М. Формирование иммунного статуса цыплят-бройлеров / И. М. Карпуть, М. П. Бабина // Ветеринария. — 1996. — № 6 — С. 28–30.

666 Кузик Б. И. Иммуногенез, гомеостаз и неспецифическая резистентность организма / Б. И. Кузник, Н. В. Васильев, Н. Н. Цыбиков — М : Медицина, 1989. — 319 с.

667 Кузнецов С. Г. Минеральные добавки и витамины для животных / С. Г. Кузнецов // Достижения науки и техники АПК. — 1999. — № 5. — С. 34–35.

668 Синковец А. В. Резистентность цыплят-бройлеров /А. В. Синковец // Тезисы Международной конференции, посвященной 70-летию факультета ветеринарной медицины. — Ереван, 1998. — С. 18–20.

669 Депрессивно-подобное состояние и сдвиги в содержании аргинина и его метаболитов в тромбоцитах и иммунокомпетентных клетках крови крыс в циркадианной модели хронического стресса / Н. С. Назарян, Н. О. Мовсесян, Н. Х. Алчуджян [и др.] // Мед. наука Армении НАН РА. — 2011. — Т. 51. — С. 1–13.

670 Шаляпина В. Г. Гормональная функция гипофизарно-адренокортикальной системы в патогенетической гетерогенности постстрессорных депрессий / В. Г. Шаляпина, В. В. Ракицкая // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2006. — Т. 92, № 4. — С. 480–487.

671 Приспособительное поведение активных и пассивных крыс после интраназального введения кортикотропин- рилизинг гормона / В. Г. Шаляпина, В. В. Ракицкая, Е. И. Петрова, В. И. Миронова // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2002. — Т. 88, № 9. — С. 1212–1218.

672 Акмаев И. Г. Нейроммуноэндокринология: истоки и перспективы развития / И. Г. Акмаев // Усп. физиол. наук. — 2003. — Т. 34, № 4. — С. 4–15.

673 Психомоторная реактивность к кортиколиберину у крыс с активной и пассивной стратегией приспособительного поведения в водно-иммерсионной модели депрессии / О. Г. Семенова, М. Г. Семенова, В. В. Ракицкая, В. Г. Шаляпина // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2006. — Т. 93, № 8. — С. 1016–1021.

674 Родионова Е. А. / Нейроэндокринные и иммунологические взаимодействия у животных с активными и пассивными поведенческими реакциями / Е. А. Родионова, Н. С. Наумов // XVII Региональная конференция молодых

исследователей Волгоградской области : Тезисы докладов. — Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2012. — 298 с.

675 Sternberg E. M. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens / E. M. Sternberg // Nat. Rev. Immunol. — 2006. — V. 6. — P. 318–328.

676 Glaser R. Stress-induced immune dysfunction: implications for health / R. Glaser, J. K. Kiecolt-Glaser // Nat. Rev. Immunol. — 2005. — V. 5. — P. 243–251.

677 Effects of corticosterone on innate and humoral immune functions and oxidative stress in barn owl nestlings / K. S. Stier, B. Almasi, J. Gasparini [et all.] // J. Exp. Biol. — 2009. — V. 212, N 13. — P. 2085–2091.

678 Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo / G. Fingerle-Rowson, P. Koch, R. Bikoff [et all.] // Am. J. Pathol. — 2003. — V. 162, N. 1. — P. 47–56.

679 Influence of surgery and endotoxin-induced sepsis combined on natural killer cell activity, oxidative burst of granulocytes and antigen presentation capability of monocytes / P. Toft, F. Dagnaes-Hansen, E. Tonnesen, M. S. Petersen // Acta Anaesthesiol. Scand. — 2002. — V. 46, N 4. — P. 405–410.

680 Effects of fluoxetine on cellular immune response in stressed mice / M. J. Nunez, J. Balboa, E. Rodrigo [et al.] // Neurosci. Left. — 2006. — V. 396, N 3. — P. 247–251.

681 Acute stress reduces intraparenchymal lung natural killer cells via beta-adrenergic stimulation /O. Kanemi, X. Zhang, Y. Sakamoto [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2005. —— V. 139, N 1. — P. 25–34.

682 Влияние хемосигналов стресса на стабильность хромосомного аппарата и функцию лимфоидных клеток самцов лабораторных мышей / Е. В. Даев, Б. П. Суринов, А. В. Дукельская, Т. М. Марышева // Цитология. — 2007. — Т. 49, № 8. — С. 696–701.

683 Sympathetic nervous system modulation of the immune system. III. Alteration in T and B cell proliferation and differentiation in vitro following chemical sympathectomy / K. S. Madden, J. A. Moynihan, G. J. Brenner [et al.] // J. Immunol. — 1994. — V. 49. — P. 77–87.

684 Alarm pheromones with different functions are released from different regions of the body surface of male rats / Y. Kiyokawa, T. Kikusui, Y. Tekeuchi, Y. Mori // Chem. Senses. — 2004. — V. 29. — P. 35–40.

685 Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses / V. Sanna, A. Di Giacomo, A. La R. I. Cava, L. S. Fontana // J. Clin. Invest. — 2003. — V. 111. — P. 241–250.

686 Влияние коротких пептидов на реакцию бласттрансформации тимоцитов и процесс сигнальной трансдукции по сфингомиелиновому пути / В. Х. Хавинсон, Е. Г. Рыбакина, В. В. Малинин [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. мед. — 2002. — Т. 133, № 5. — С. 574–577.

687 Ferioli M. E. Prolactin and polyamine catabolism: specific effect on polyamine oxidase activity in rat thymus / M. E. Ferioli, L. Pirona, O. Pinotti // Mol Cell Endocrinol. — 2000. — V. 165, N 1–2. — P. 51–6.

688 Глазко В. И. Толковый словарь терминов по общей и молекулярной биологии, общей и прикладной генетике, селекции, ДНК-технологии и биоинформатике // В. И. Глазко, Г. В. Глазко. — В 2-х томах. Т. 2. — М. : ИКЦ «Академкнига», Изд-во «Медкнига». — 2008. — 530 с. ISBN 978-5-94628-270-3 (т. 2). — ISBN 978-5-9784-0006-9 (т. 2)

689 Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing / J. D. Shearer, J. R. Richards, C. D. Mills, M. D. Caldwell // Am J Physiol. — 1998. — V. 272, N 35. — E181–90.

690 Regulation of intracellular polyamine biosynthesis and transport by NO and cytokines TNF-alpha and IFN-gamma / J. Satriano, S. Ishizuka, D. C. Archer [et al.] // Am J Physiol. — 1999. — V. 276, N 4.— Pt. 1.— P. 892–9.

691 Nuclear factor-kappaB mediates simultaneous induction of inducible nitric-oxide synthase and up-regulation of the cationic amino acid transporter CAT-2B in rat alveolar macrophages / R. Hammermann, M. D. Dreissig, J. Mossner [et al.] // Mol Pharmacol. — 2000. — V. 58, N 6. — P. 1294–302.

692 Suppression of inducible nitric oxide generation by agmatine aldehyde:beneficial effects in sepsis / J. Satriano, D. Schwartz, S. Ishizuka [et al.] // J Cell Physiol. — 2001. — V. 188, N 3. — P. 313–20.

693 Hoet P. H. Polyamines in the lung: polyamine uptake and polyamine-linked pathological or toxicological conditions / P. H. Hoet, B. Nemery // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. — 2000. — V. 278, N 3. — L417–33.

694 Berridge M. J. Calcium — a life and death signal / M. J. Berridge, M. D. Bootman, P. Lipp // Nature. — 1998. — V. 395. — N 6703. — P. 645–648.

695 Боярчук О. Д. Біохімія стресу: Навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / О. Д. Боярчук. — Луганськ : Держ. закл. «Луган. нац. ун-т імені Тараса Шевченка», 2013. — 177 с.

696 Меерсон Ф. З. Адаптационная медицина : механизмы и защитные эффекты адаптации / Ф. З. Меерсон. — М. : Hypoxia med., 1993. — 331 с.

697 Меерсон Ф. З. Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактической кардиологии / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. — М. : НПО Союзмединформ, 1989. — 72 с.

698 Bode-Böger S.M. Effect of L-arginine supplementation on NO production in man / S. M. Bode-Böger // Europ. J. Clin. Pharm. — 2006. — V. 62, N 1. — P. 91–99.

699 Архипенко Ю. В. Модификация ферментной системы транспорта Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме при перекисном окислении липидов, молекулярные механизмы изменений активности Ca-АТФазы / Ю. В. Архипенко, В. Е. Каган, Ю. П. Козлов // Биохимия. — 1983. — Т. 48, № 3. — С. 433–441.

700 Луніна Н. В. Роль тиреоїдних гормонів у формуванні адаптивних реакцій організму при стресі / Н. В. Луніна, О. О. Гончар // Арх. клин. и эксперимент. медицины. — 1996. — Т. 5, № 1. — С. 18–21.

701 Северина И. С. Потенцирование NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы полиаминами / И. С. Северина, Н. В. Пятакова, А. Ю. Щеголев // Биомед. химия. — 2007. — Т. 53, Вып. 1. — С. 44–55.

702 Фёдорова В. В. Физико-химические свойства мышечной ткани свиней / В. В. Фёдорова, В. Х. Фёдоров // Вестник МичГАУ. — 2012. — № 2. — С. 100–103.

703 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. — V. 11, N 2. — P. 251–260.

704 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. — V. 94, N 2. — P. 186–195.

705 Plasma binding globulins andacute stress response / C. W. Breuner, S. E. Lynn, G. E. Julian [et al.] // Hormones and Metabolic Research. — 2006. — V. 38. — P. 260–268.

706 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. — V. 160. — P. 259–270.

707 Bode-Boger S. M. The l-arginine paradox: Importance of the l-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio / S. M. Bode-Boger, F. Scalera, L. J. Ignarro // Pharmacol. Ther. — 2007. — V. 114, N 3. — P. 295–306.

708 Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain / S. Li, S. Regunathan, C. J. Barrow [et al.] // Science. — 1994. — V. 263. — P. 966–969.

709 Quantitation of the putative neurotransmitter agmatine as the hexafluoroacetylacetonate derivative by stable isotope dilution gas chromatography and negative-ion chemical ionization mass spectrometry / D. Stickle, A. Bohrer, R. Berger [et al.] // Anal. Biochem. — 1996. — V. 238. — P. 129–136.

710 Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues / W. Raasch, S. Regunathan, G. Li, D. J. Reis // Life Sci. — 1995. — V. 56. — P. 2319–2330.

711 Partial cloning and characterization of an arginine decarboxylase in the kidney / J. Morrissey, R. McCracken, S. Ishidoya, S. Klahr // Kidney Int. — 1996. — V. 47. — P. 1458–1461.

712 Imidazoline recognition sites and stomach function / G. J. Molderings, M. Burian, S. Menzel [et al.] //Ann NY Acad Sci. — 1999. — V. 881. — P. 332–343.

713 A co culture approach show that polyamine turnover is affected during inflammation in Atlantic salmon immune and liver cells and that arginine and LPS exerts opposite effects on p38MAPK signaling / E. Holen, M. Espe, S. M. Andersen [et al.] // Fish & shellfish immunology. — 2014. — V. 37, N 2. — P. 286–298.

714 Arginine supplementation and exposure time affects polyamine and glucose metabolism in primary liver cells isolated from Atlantic salmon / S. M. Andersen, R. Taylor, E. Holen [et al.] // Amino Acids. —2014. — V. 46. — P. 1225–1233.

715 Dietary arginine affects energy metabolism through polyamine turnover in juvenile Atlantic salmon (Salmo salar) / S. M. Andersen, E. Holen, A. Aksnes [et al.] // Br J Nutr. — 2013. — V. 110, № 11. — P. 1968–1977.

716 Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, Acanthopagrus schlegelii, fingerlings / F. Zhou, Q. J. Shao, J. X. Xiao [et al.] // Aquaculture. — 2011. — V. 319, № 1–2. — P. 72–80.

717 Smith T. K. Effect of dietary putrescine on whole body growth and polyamine metabolism / T. K. Smith // Proc Soc Exp Biol Med. — 1990. — V. 194. — P. 332–336.

718 Clinical studies on free amino acid concentration in plasma. Development of an acid pattern for parenteral nutrition during stress metabolism / R. Dolp, F. W. Ahnefeld, A. Grunert, E. Shmitz // Acta chir. scand. — 1979. — V. 145, № 494. — P. 127–129.

719 Шейбак В. М. Обмен свободных аминокислот и кофермент А при алкогольной интоксикации / В. М. Шейбак. — Гродно, 1998. — 153 с.

720 Поведение крыс в различных стресс-тестах при действии N-уроноилпроизводных l-лейцина и l-валина / И. И. Коренюк, М. Ю. Раваева, В. В. Орехова [и др.] // Ученые записки Таврич. нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия» — 2006. — Т. 19, Вып. 58, № 4. — С. 127–134.

721 Relationship of taurine and other amino acids in plasma and in neutrophils of septic trauma patients / J. M. Engel, J. Muhling, S. Weiss [et al.] // Amino Acids. — 2006. — V. 30, N 1. — P. 87–94.

722 Taurine as a micronutrient in development and regeneration of the central nervous system / L. Lima, F. Obregon, S. Cubillos [et al.] // Nutr Neurosci. — 2001. — V. 4, N 6. — P. 439–443.

723 Sinha M. Taurine protects the antioxidant defense system in the erythrocytes of cadmium treated mice / M. Sinha, P. Manna, P. C. Sil // BMB Reports. — 2008. — V. 41, N 9. — P. 657–663.

724 Taurine is a potent activator of extrasynaptic GABA(A) receptors in the thalamus / F. Jia, M. Yue, D. Chandra [et al.] // J Neurosci. — 2008. — V. 28, N 1. — P. 106–115.

725 Taurine-induced long-lasting potentiation in the rat hippocampus shows a partial dissociation from total hippocampal taurine content and independence from activation of known taurine transporters / J. Jr. Dominy, J. S. Thinschmidt, J. Peris [et al.] // Journal of Neurochemistry. — 2004. — V. 89, N 5. — P. 1195–1205.

726 Tsuji A. Sodium- and chloride-dependent transport of taurine at the bloodbrain barrier / A. Tsuji, I. Tamai // Advances in Experimental Medicine and Biology. — 1996. — V. 403. — P. 385–391.

727 Guoyao Wu. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition/ Wu Guoyao // Amino Acids. — 2009. — V. 37, N 1. — P. 1–17.

728 Cuthbertson D. Metabolism during the post-injury period / D. Cuthbertson, W. Tilstone // Adv Clin Chem. — 1977. — V. 12. — P. 1–55.

729 The effects of nutrition and trauma on whole-body protein metabolism in man / M. Claque, M. J. Keir, P. D. Wright, I. Johnston // Clin Sci. — 1983. — V. 65. — P. 165–175.

730 Waterlow J. C. Measurement ofrates ofprotein turnover synthesis and breakdown in man and effects of nutritional status and surgical injury / J. C. Waterlow, M. Golden, D. Picou // Am J Clin Nutr. — 1977. — V. 30. — P. 1333–1339.

731 The effect ofsurgical trauma and insulin on whole body protein turnover in parenterally-fed undernourished patients / J. Powell-Tuck, E. Fern, P. Garlich, J. Waterlow // Hum Nutr Clin Nutr. — 1984. — V. 38. — P. 1122.

732 Голиков П. П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта / П. П. Голиков. — М. : Медицина, 1988. — 288 с.

733 Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение/ А. В. Калуев. — К. : Энигма, 1998. — 92 с.

734 Закуцкий А. Н. Аргинин в эндокринной системе / А. Н. Закуцкий, Т. Ф. Субботина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2005. — № 4. — С. 6–12.

735 Таранов П. С. Анатомия мудрости: 120 филисофов / П. С. Таранов. — В 2-х т. — Симферополь : Таврия, 1996. — 624 с.: ил. — Т. 1. — С. 20.

736 Пять Книг Торы // Текст сверен с рукописью и масорой К. А. Цовы и сходных с ней рукописей М. Броером / русский перевод Д. Йосифона / МОСАД АРАВ КУК. Йырушалаим, 5738 (1978). — Дыварим.— 12,(23) — С. 241.

737 Біблія Книги Святого Письма Старого і Нового Завіту. Четвертий повний переклад з давньогрецької мови. Українське Біблійне товариство. Київ, 2011. — С. 1213. — Книга Левітів (17:14) — С. 130.

738 Люкимсон П. Еврейская диетология, или Расшифрованный кашрут / П. Люкимсон. — Ростов н/Д. : Феникс : Неоглори, 2008. — 429 с.

739 Раввин Исраэль-Меир Лау. Практика Иудаизма. В свете устной Торы. Издательство «Модан». — 459 с.

740 Али-заде А. А. Забх (архив) // Исламский энциклопедический словарь. — М.: Ансар, 2007. — 400 с. — (Золотой фонд исламской мысли). — 3000 экз. — ISBN 5-98443-025-8.

741 Gregory N. G. Animal welfare at markets and during transport and slaughter N. G. Gregory // Meat science. — 2008. — V. 80, № 1. — С. 2–11.

ДОДАТКИ

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 98958

СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ТА КОРЕКЦІЇ СТРЕСОВОГО СТАНУ КРОЛИКІВ ПЕРЕД ЗАБОЄМ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **12.05.2015.**

Голова Державної служби інтелектуальної власності України А.Г. Жарінова

Державна служба інтелектуальної власності України
Ідентифікаційний код 37552556
№1

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 92225

СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СЕЛЕЗІНКИ - ПОЛІАМІНІВ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **11.08.2014.**

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України М.В. Ковіня

Державна служба інтелектуальної власності України
Ідентифікаційний код 37552556
№1

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 98752

СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ТА КОРЕКЦІЯ СТРЕСОВОГО СТАНУ ПТИЦІ ПЕРЕД ЗАБОЄМ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **12.05.2015.**

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України А.Г. Жарінова

Державна служба інтелектуальної власності України
Ідентифікаційний код 37552556
№1

ДКПП 21.20.2 **УКНД 11.220**

ПОГОДЖЕНО
Директор ДНДКІ ветпрепаратів
та кормових добавок,
Голова ТК №132 «Засоби захисту
тварин, корми та кормові добавки»
д. вет. н. членкор НААН,
професор
_____ І. Я. Коцюмбас
«18» _____03_____ 2016 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор Львівського
національного університету
ветеринарної медицини
та біотехнологій
ім. С. З. Ґжицького,
д. вет. н., професор
_____ В. В. Стибель
«_____» _____2016 р.

Препарат «СПЛІНАКТИВ»

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 21.2–00492990–013:2016

(Введено вперше) _____
Дата надання чинності _____
Чинні до _____

ПОГОДЖЕНО
Керівник акредитованого ВЦ
за ДСТУ ISO/IEC-17025
Головний науковий співробітник
ДНДКІ ветпрепаратів та кормових
добавок, д. вет. н., професор
_____ В. О. Величко
«11» _____03_____ 2016 р.

РОЗРОБЛЕНО
Доцент кафедри біологічної та загальної хімії, к. біол. н., Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького
_____ С. С. Грабовський
«11» _____03_____ 2016 р.

Провідний науковий співробітник лабораторії інтелектуальної власності та аналітичних досліджень, к. біол. н., Інститут біології тварин НААН
_____ О. С. Грабовська
«11» _____03_____ 2016 р.

Старший науковий співробітник
ДНДКІ ветпрепаратів та кормових
добавок, відділ держконтролю та
стандартизації
_____ Л. В. Курилас
«11» _____03_____ 2016 р.

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
д. мед. н., професор
В.В. Чопяк
«18» січня 2016 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи доцента кафедри біологічної та загальної хімії Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького Грабовського Степана Стефановича «Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забоєм».

Ми, що нижче підписалися, члени комісії: завідувач кафедри біохімії д. мед. н., проф. Скляров О. Я, д. мед. н., доцент Фоменко І. С., к. б. н., доцент Макаренко Т. М. склали даний акт про те, що на кафедрі біохімії у 2014–2015 рр. були впроваджені у навчальний процес дані дисертаційної роботи докторанта, доцента кафедри біологічної та загальної хімії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького Грабовського Степана Стефановича.

У курс лекцій та практичних занять для студентів II курсу медичного факультету впроваджено дані щодо впливу споживання м'яса курчат-бройлерів з урахуванням їх стану перед забоєм на показники клітинного імунітету людей. Встановлено, що біологічно активні речовини природного походження, можуть нівелювати передзабійний стрес у тварин і таким чином поліпшувати якість їх м'яса. Споживання м'яса від цих тварин призводить до підвищення індексу стимуляції нейтрофілів у крові людей та підвищує резистентність їх організму.

Джерело інформації:

1. 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. Біологія, медицина / Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, medicina / Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Med. — 2015. — Т. 6. — Вип. 2. — С. 165–168. doi:10.15421/021530 ISSN 2310-4155 print ISSN 2312-7295 online www.medicine.dp.ua
2. Grabovskyi S. The effect of consumption of broiler chickens meat in conditions of pre- slaughter stress with its correction on natural resistance of people / S. Grabovskyi, J. Kyryliv, O. Grabovska // Acta Sci. Pol. Zootechnica. 2015. — Vol. 14. — N 4. — P. 53–62.

Голова комісії _____ д. мед. н., професор Скляров О. Я
Члени комісії _____ д. б. н., доцент Фоменко І. С.
_____ к. б. н., доцент Макаренко Т. М.
_____ 2016 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор
з науково-педагогічної роботи
Національного університету
"Львівська політехніка"
_____ Давидчак О.Р.
_____ "_____2016 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб одержання біологічно активних речовин із селезінки свині.

2. **Установа, її адреса, виконавець:**
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, м. Львів, вул. В. Пекарська, 50, доцент кафедри біологічної та загальної хімії, к.б.н. Грабовський С.С.

3. **Джерела інформації:**
1. Патент України на корисну модель UA № 92225. Спосіб виробництва біологічно активних речовин селезінки — поліамінів.
2.Технічні умови України 21.2-00492990-013:2016. Препарат «СПЛІНАКТИВ»;

4. **Впроваджено:** у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології у лекційний курс «Хімія природніх біологічно активних сполук» при вивченні теми «Речовини первинного метаболізму».

5. **Термін впровадження:** травень 2016 р.

6. **Ефективність впровадження:** відповідно до критеріїв, що викладені в джерелі інформації:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що затверджує
Результати наукових досліджень використовуються бакалаврами, магістрами та аспірантами кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології		

7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології
д.х.н., проф. В.П. Новіков

ВИТЯГ

з протоколу № 1 засідання комісії з питань етики
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
від 18 січня 2016 р.

Присутні: д.мед.н., проф. Чоп'як В.В., д.мед.н., проф. Базилевич А.Я., д.фарм.н. Громовик Б.П., д.мед.н., проф. Піняжко О.Р., к.біол.н. Зазуляк Т.С., д.мед.н., доц. Володько Н.А., к.мед.н., доц. Томків В.М., д.філос.н., доц. Держко І.З., Лерчук О.М., Стефанишин Ю.М., Онисько І.К., Кирилюк С.С., к.мед.н., доц.. Гаврилюк І.М.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ

1. Розгляд матеріалів дисертаційної роботи «Адаптогенний вплив препарату біологічно активних речовин селезінки свині за умов передзабійного стресу тварин», виконана здобувачем кафедри біологічної та загальної хімії Грабовським Степаном Стефановичем, на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук.

Слухали: доповідь здобувача кафедри біологічної та загальної хімії Грабовського Степана Стефановича стосовно основних напрямків досліджень, методик та об'єму виконаної роботи.

Ухвалили: члени комісії дійшли узгодженої думки, що надані для експертизи матеріали науково обґрунтовані, у листі інформування для учасників досліджень чітко викладені усі положення, з якими необхідно ознайомити пацієнтів. Передбачені заходи стосовно безпеки для здоров'я учасників досліджень, дотримання їх прав, людської гідності та морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних законів України.

Голова комісії д.мед.н., проф. Чоп'як В.В.

Секретар комісії к.мед.н., доц Гаврилюк І.М.

ВИТЯГ

з протоколу № 2 засідання комісії з питань з біоетики Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького

від «25.грудня. 2015 р.

Присутні: голова комісії: кандидат ветеринарних наук, доцент А. О. Драчук, члени комісії: доктор ветеринарних наук професор В. І. Завірюха, доктор ветеринарних наук, професор В. Ю. Стефаник,

ПОРЯДОК ДЕННИЙ

1. Розгляд матеріалів Грабовського Степана Стефановича на тему: «Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забоєм», подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 — біохімія

Слухали: доповідь здобувача кафедри біологічної та загальної хімії Грабовського Степана Стефановича стосовно напрямків досліджень, методик та об'єму виконаної роботи.

Ухвалили: під час виконання досліджень на білих статевозрілих самицях та самцях щурів лінії Вістар, кроликах породи білий велетень, курчатах-бройлерах кросу «Росс 308», кнурах породи Петрен, бугайцях української чорно-рябої молочної породи були збережені всі біоетичні норми згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) і дотриманням принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти.

Голова комісії,
кандидат ветеринарних наук, доцент А. О. Драчук

Секретар комісії: доктор ветеринарних наук,
професор В. Ю. Стефаник