

•• ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ••
•• PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ••

УДК: 636.2:612.176:397

Вміст окремих класів ліпідів у крові бугайців за умов передзабійного стресу

С.С.Грабовський¹, О.С.Грабовська²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького (Львів, Україна)

²Інститут біології тварин НААН (Львів, Україна)

Представлено результати дослідження вмісту окремих фракцій ліпідів (фосфоліпіди, моно-, ди- і триацилгліцероли, неетерифіковані жирні кислоти, вільний холестерол і його етерифікована форма) у плазмі крові бугайців до і після транспортування та перед забоєм. Із фосфоліпідів у крові бугайців досліджували вміст: лізолецитину, сфінгомієліну, фосфатидилсерину, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозиту, фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну, фосфатидної кислоти. Як антистресори та імуномодулятори у передзабійний період застосовували біологічно активні речовини з екстракту селезінки. Встановлено вплив екстракту селезінки при передзабійному стресі на вміст окремих фракцій ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців. У плазмі крові бугайців усіх експериментальних груп як до, так і після транспортування та перед забоєм, серед нейтральних ліпідів найбільше було фосфоліпідів; серед фосфоліпідів переважали фосфатидилсерин, сфінгомієлін та фосфатидна кислота; найменшу кількість встановлено для фосфатидилінозиту та кардіоліпіну. Отримані нами результати можуть бути використані у дослідженнях з метою підвищення резистентності організму, корекції, нівелювання стресового стану тварин перед забоєм та покращення якості продукції.

Ключові слова: бугайці, передзабійний стрес, екстракт селезінки, плазма крові, класи ліпідів.

Содержание отдельных классов липидов в крови бычков при предубойном стрессе

С.С.Грабовский, А.С.Грабовская

Представлены результаты исследования содержания отдельных фракций липидов (фосфолипиды, моно-, ди- и триацилглицеролы, неэтерифицированные жирные кислоты, свободный холестерол и его этерифицированная форма) в плазме крови бычков до и после транспортировки и перед убоем. Из фосфолипидов в плазме крови бычков исследовали содержание: лизолецитина, сфингомиелина, фосфатидилсерина, фосфатидилхолина, фосфатидилинозитола, фосфатидиэтанолamina, кардиолипина, фосфатидной кислоты. В качестве антистрессоров и иммуномодуляторов в предубойный период использовали биологически активные вещества из экстракта селезенки. Установлено влияние экстракта селезенки при передубойном стрессе на содержание отдельных фракций липидов и подклассов фосфолипидов в плазме крови бычков. В плазме крови бычков всех экспериментальных групп как до, так и после транспортировки и перед убоем среди нейтральных липидов больше всего было фосфолипидов; среди фосфолипидов преобладали фосфатидилсерин, сфингомиелин и фосфатидная кислота; фосфатидилинозитол и кардиолипин присутствовали в наименьшем количестве. Полученные результаты могут быть использованы в исследованиях с целью повышения резистентности организма, коррекции, нивелирования стрессового состояния животных перед убоем и улучшения качества продукции

Ключевые слова: бычки, предубойный стресс, экстракт селезенки, плазма крови, классы липидов.

Content of some lipid classes in bulls blood at pre-slaughter stress
S.Grabovskyi, O.Grabovska

The results of the study of some lipid classes content (phospholipids, mono-, di- and triacylglycerols, non-etherified fatty acids, free cholesterol and its etherified form in bulls blood plasma before and after transportation at antemortem stress are presented. The content of such phospholipids as lysolecithin, sphingomyelin, phosphatidylserine, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidylethanolamine, cardiolipin, phosphatidic

acid in bulls blood were determined. As antistressors and immunomodulators in antemortem period there have been biologically active substances of spleen extract. It has been shown the influence of the spleen extract at antemortem stress on separate lipids and phospholipids classes content in bulls blood plasma. Among the neutral lipids phospholipids prevailed in bulls blood plasma of all experimental groups before and after transportation and before slaughter; phosphatidylserine, sphingomyelin and phosphatidic acid prevailed among phospholipids, while the least content has been shown for phosphatidylinositol and cardiolipin. The results can be used in research of improving the resistance of an organism, correction, leveling the stress state of animals before slaughter and improving product quality.

Key words: *bulls, antemortem stress, spleen extract, blood plasma, lipid classes.*

Вступ

За стресових ситуацій відбувається стимулювання функції 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 (Метаболическая иммуномодуляция, 2000).

У літературі є дослідження, пов'язані з вивченням ліпідного обміну за дії різноманітних чинників: в залежності від сезону (Ермакова, Ярован, 2012), за онтогенетичних змін у протіканні вільнорадикальних реакцій ліпідів і стані антиоксидантного захисту у телиць, за різного фізіологічного стану у корів (Степанова, 2005; Вашанов, Каверин, 2009), у ранньому постнатальному періоді онтогенезу (Зулев, 2010).

Для нівелювання впливу стресу на обмін ліпідів деякі дослідники використовували рослинні екстракти (Козинец и др., 2014). Про стан організму сільськогосподарських тварин за впливу передзабійного стресу у літературі обмаль повідомлень. Нашими попередніми дослідженнями було показано позитивний ефект антистресорів та імуномодуляторів природного походження (екстракт селезінки) на підвищення імунного статусу і зменшення передзабійного стресу у щурів (модельний дослід) (Грабовський, 2014), на вміст окремих класів ліпідів та фракцій фосфоліпідів у плазмі крові курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу (Грабовський, 2013а). На нашу думку, основними діючими речовинами екстракту селезінки є поліаміни (спермін, спермідин, путресцин), які мають імуномодуляторну і антистресорну дію (Грабовський, 2013б).

Передзабійний стресовий стан у сільськогосподарських тварин викликає не тільки економічні втрати, але й погіршення якості продукції (Dokmanović et al., 2014; Kim et al., 2014). Усунути повністю стрес у тварин перед забоєм неможливо, тому виникає необхідність використання речовин, які діють не лише як антистресори, але й одночасно підвищують резистентність організму. Є дослідження, в яких увага звертається на важливість передзабійного стресу у жуйних (Ferguson, Warner, 2008).

Метою досліджень було вивчення змін вмісту окремих класів ліпідів та фракцій фосфоліпідів у плазмі крові бугайців за умов передзабійного стресу та використання біологічно активних речовин природного походження.

Об'єкт та методи дослідження

Дослід тривалістю п'ять днів провели на бугайцях 12-місячного віку української чорно-рябої молочної породи, яких утримували на стандартному раціоні піддослідного господарства смт Комарно Городоцького району Львівської області. Було сформовано дві групи бугайців (п'ять тварин у кожній). У передзабійний період (за п'ять діб до забою тварин) використовували екстракт селезінки, отриманий із застосуванням ультразвуку. Селезінку витримували протягом 5–6 діб за температури +5–6°C. Після подрібнення та екстрагування в дихлоретані за температури +15–18°C додатково обробляли ультразвуком частотою 10–50 Гц впродовж 3 хв. Вміст поліамінів у біоматеріалі визначали методом рідинної хроматографії високого тиску (РХВТ) (Gerbaut, 1991) на рідинному хроматографі Agilent 1200 (США).

Екстракт наносили на комбікорм аерозольним методом (70° спиртовий розчин об'ємом 0,7 мл/кг). Тваринам контрольної групи таким же чином давали до корму 70° розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Контроль за поїданням комбікорму здійснювали щоденно. Забій тварин проводили в обідній час. Кров для досліджень брали з яремної вени перед постановкою бугайців на дослід, до транспортування та перед забоєм після транспортування.

Утримання, годівлю, догляд та усі маніпуляції з тваринами відповідали Європейській конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей»

(Страсбург, 1986 р.) і «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти (Directive ..., 2010).

Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча (Folch et al., 1957), розділення на фракції – методом тонкошарової хроматографії (Влізла та ін., 2012).

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

Результати та обговорення

Встановлено, що перед забоєм у плазмі крові бугайців усіх експериментальних груп, як до (табл. 1), так і після транспортування (табл. 3) серед нейтральних ліпідів переважали фосфоліпіди, а найменший вміст відмічено для холестеролу, моно-, ди- і триацилгліцеролів.

У плазмі крові бугайців дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили екстракт селезінки, до транспортування кількість фосфоліпідів вірогідно зменшилась на 10% ($P \leq 0,01$), натомість рівень моно- і дیاцилгліцеролів значно підвищився ($P \leq 0,05$), порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1.

Вміст окремих ліпідів у плазмі крові бугайців до транспортування, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Підготовчий період	Дослід	Контроль
Фосфоліпіди	83,27±9,85	62,57±4,07**	69,68±1,43
Вільний холестерол	0,60±0,37	0,73±0,39	1,09±0,11
Моно- і дигліцероли	1,67±0,68	3,66±1,16*	0,27±0,22
Неетерифіковані жирні кислоти	9,25±4,56	15,31±4,44	12,21±2,87
Тригліцероли	1,67±0,66	1,83±0,52	1,88±0,18
Етерифікований холестерол	10,63±1,21	15,79±3,63	17,49±1,69

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

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

При аналізі вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у плазмі крові бугайців до (табл. 2) та після (табл. 4) транспортування і перед забоєм при додаванні до раціону екстракту селезінки виявлено, що у всіх тварин досліджуваних груп переважають фосфатидилсерин, сфінгомієлін та фосфатидна кислота, натомість найменшу кількість встановлено для фосфатидилінозиту та кардіоліпіну.

Як видно із даних табл. 2, вірогідних змін та суттєвих відмінностей у вмісті окремих підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бичків до транспортування не спостерігалося.

Таблиця 2.

Вміст підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бичків до транспортування, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Підготовчий період	Дослід	Контроль
Лізолецитин	6,46±3,04	3,98±2,46	3,64±0,86
Сфінгомієлін	23,79±4,67	18,08±3,23	19,67±2,33
Фосфатидилсерин	44,48±11,62	52,64±6,40	57,84±3,99
Фосфатидилхолін	3,96±1,93	3,08±1,31	2,88±2,69
Фосфатидилінозитол	0,85±0,47	0,63±0,07	0,52±0,06
Фосфатидилетаноламін	4,25±3,79	0,41±0,27	0,72±0,23
Кардіоліпін	1,08±1,13	1,42±0,77	1,52±1,09
Фосфатидна кислота	14,87±1,94	21,38±12,52	11,78±5,23

Дещо інші результати отримані щодо вмісту окремих класів ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бичків після транспортування (табл. 3, 4). Щодо нейтральних ліпідів, то виявлене збільшення вмісту неетерифікованих жирних кислот у плазмі крові бичків після транспортування ($P \leq 0,01$), що було вірогідним порівняно з контрольною групою, можна пояснити інтенсивнішим розщепленням у них тригліцеролів. Вміст тригліцеролів практично не зазнавав змін у плазмі крові тварин досліджуваних груп.

Вміст моно- і дигліцеролів зменшився удвічі ($P \leq 0,05$) у плазмі крові бугайців дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили екстракт селезінки, порівняно з контролем.

Таблиця 3.

Вміст окремих ліпідів у плазмі крові бичків після транспортування, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Дослід	Контроль
Фосфоліпіди	58,17±3,23	65,10±3,96
Вільний холестерол	5,466±2,57	8,06±2,67
Моно- і дигліцероли	2,49±0,24*	5,77±1,18
Неетерифіковані жирні кислоти	18,49±3,48**	8,65±3,33
Тригліцероли	1,76±1,02	0,98±0,52
Етерифікований холестерол	13,64±3,44	11,43±1,03

Аналізуючи дані у табл. 4, слід відмітити, що після транспортування рівень кардіоліпіну у плазмі крові бугайців дослідної групи знизився майже у чотири рази ($P \leq 0,05$), а фосфатидилсерину – на 13% ($P \leq 0,05$) порівняно з контролем, тоді як сфінгомієліну – підвищився майже на 30% ($P \leq 0,01$) порівняно з бугайцями контрольної групи.

Таблиця 4.

Вміст підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бичків після транспортування, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Дослід	Контроль
Лізолецитин	2,93±0,37	2,63±0,47
Сфінгомієлін	22,15±1,18**	16,42±2,28
Фосфатидилсерин	50,70±0,59*	58,34±2,26
Фосфатидилхолін	2,86±1,12	0,33±0,22
Фосфатидилінозитол	0,56±0,34	0,76±0,24
Фосфатидилетаноламін	2,67±0,87	1,03±0,99
Кардіоліпін	0,95±0,66*	3,78±0,71
Фосфатидна кислота	16,83±1,19	16,37±2,89

Таким чином, виявлено вплив антистресорів та імуномодуляторів, одержаних з екстракту селезінки із застосуванням ультразвуку, при передзабійному стресі на вміст окремих класів ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові бугайців. На завершальній стадії відгодівлі бугайців слід застосовувати біологічно активні речовини природного походження, які сприятимуть зменшенню негативного впливу передзабійного стресу.

У подальшому доцільним було б дослідити вміст окремих класів ліпідів та фракцій фосфоліпідів у тканинах сільськогосподарських тварин залежно від екзогенних чинників з метою покращення якості м'яса.

Список літератури

Вашанов Г.А., Каверин Н.Н. Взаимосвязи между основными антиоксидантными системами крови телят разного возраста // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – №1. – С. 58–61. /Vashanov G.A., Kaverin N.N. Vzaimosvyazi mezhdru osnovnymi antioksidantnymi sistemami krovi telyat raznogo vozrasta // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. – 2009. – №1. – S. 58–61./

- Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів: Сполом, 2012. – 764с. /Vlizlo V.V., Fedoruk R.S., Ratych I.B. ta in. Laboratorni metody doslidzhen' u biologiyi, tvarynnytstvi ta veterinaryarniy medytsyni. – L'viv: Spolom, 2012. – 764s./
- Грабовський С.С. Вміст окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів при передзайному стресі // Біологія тварин. – 2013а. – Т.15, №4. – С. 24–31. /Grabovskyy S.S. Vmist okremykh klasiv lipidiv u krovi kurchat-broyleriv pry peredzabynomu stresi // Biologiya tvaryn. – 2013a. – Т.15, №4. – С. 24–31./
- Грабовський С.С. Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові шурів за умов стресу // Біологічні студії. – 2014. – Т.8, №1. – С. 93–102. /Grabovskyy S.S. Vplyv imunomodulyatoriv pryrodного pokhodzhennya na pokaznyky klitynnogo imunitetu i riven' kortyzolu v krovi shchuriv za umov stresu // Biologichni studiyi. – 2014. – Т.8, №1. – С. 93–102./
- Ермакова Н.В., Ярован Н.И. Сезонная динамика метаболитов перекисного окисления липидов у коров // Вестник ветеринарии. – 2012. – №63. – С.4. /Yermakova N.V., Yarovan N.I. Sezonnaya dinamika metabolitov perekisnogo okisleniya lipidov u korov // Vestnik veterinarii. – 2012. – №63. – С.4./
- Зулев Г.С. Изменение концентрации общих липидов в крови телят под влиянием разных доз препарата «эмицидин» // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2010. – Т.23, №2. – С. 28–30. /Zulev G.S. Izmeneniye kontsentratsii obshchikh lipidov v krovi telyat pod vliyaniem raznykh doz preparata «emitsidin» // Vestnik Orlovskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2010. – Т. 23. – №2. – С. 28–30./
- Козинец А., Надаринская М., Голушко О. и др. Препараты на основе растительных экстрактов в кормлении молодняка крупного рогатого скота // Технология кормов и кормления, продуктивность, зоогиена, содержание. Сб. науч. трудов. – Жодино, 2014. – С. 95–104. /Kozinets A., Nadarinskaya M., Golushko O. i dr. Preparaty na osnove rastitel'nykh ekstraktov v kormlenii molodnyaka krupnogo rogatogo skota // Tekhnologiya kormov i kormleniya, produktivnost', zoogigiyena, sodержaniye. Sb. nauch. trudov. – Zhodino, 2014. – С. 95–104./
- Метаболическая иммуномодуляция / под ред. Л.Г.Прокопенко, А.И.Конопля. – Курск: КГМУ, 2000. – 307с. /Metabolicheskaya immunomodulyatsiya / pod red. L.G.Prokopenko, A.I.Konopli. – Kursk: KGMU, 2000. – 307s./
- Степанова И. Метод выявления окислительного стресса у крупного рогатого скота // Ветеринария. – 2005. – №8. – С. 45–47. /Stepanova I. Metod vyyavleniya oksiditel'nogo stressa u krupnogo rogatogo skota // Veterinariya. – 2005. – №8. – С. 45–47./
- Грабовский С.С. Экстрагирование биологически активных веществ селезенки с использованием ультразвука. Сб. науч. трудов. – Иваново: Маркова А.Д., 2013б. – Т.49, вып.4. – С. 3–6. /Grabovskiy S.S. Ekstragirovaniye biologicheskii aktivnykh veshchestv selezyonki s ispol'zovaniyem ultrazvuka. Sb. nauch. trudov. – Ivanovo: Markova A.D., 2013b. – Т.49, вып.4. – С. 3–6./
- 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 // Official Journal of the European Union L276/33.
- Dokmanović M., Velarde A., Tomović V. et al. The effects of lairage time and handling procedure prior to slaughter on stress and meat quality parameters in pigs // Meat Science. – 2014. – Vol.98, Issue 2. – P. 220–226.
- Kim Y.H.B., Warner R.D., Rosenvold K. Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: a review // Animal Production Science. – 2014. – Vol.54, Issue 4. – P. 375–395.
- Ferguson D.M., Warner R.D. Have we underestimated the impact of antemortem stress on meat quality in ruminants? // Meat Science. – 2008. – Vol.80 (1). – P. 12–19.
- Gerbaut L. Determination of erythrocytic polyamines by reversed-phase liquid chromatography // Clin. Chem. – 1991. – Vol.37, №12. – P. 2117–2120.
- Folch J., Lees M., Stauley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol.226. – P.497.

Представлено: Й.Ф.Рівіс / Presented by: I.F.Rivis

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 24.04.2015