

Свідоцтво про державну реєстрацію: № KB 21158-10958ПР від 23.01.2015.

Проблематика: фізіологія і біохімія, ветеринарна медицина, живлення та годівля, розведення і селекція тварин, морфологія, клітинна та молекулярна біологія, імунологія, генетика, екологія і токсикологія, цитологія, мікробіологія та біотехнологія; огляди актуальних проблем біології; методичні роботи, в яких описано нові або вдосконалені методи досліджень; статті з історії біологічної, ветеринарної та сільськогосподарської наук, що висвітлюють еволюцію ідей, виникнення і розвиток наукових шкіл або присвячені творчим портретам учених; дискусійні статті рецензій на нові книги та на журнальні публікації; наукова хроніка.

Засновник: Інститут біології тварин НААН.

Рік заснування: 1998. **Періодичність:** 4 рази на рік.

Мова видання: українська, англійська.

Науковий журнал «Біологія тварин» індексується у *The Index Copernicus International, Google Scholar, Cross Ref, WorldCat.*

Головний редактор: Салига Ю. Т., д. біол. н.

Науковий редактор: Вудмаска І. В., д. с.-г. н.

Відповідальний секретар: Грабовська О. С., к. біол. н.

Комп'ютерна верстка: Судин К. Ю.

Certificate of print media State registration: No. KB 21158-10958ПР of 23.01.2015.

Aims and Scope: physiology and biochemistry, veterinary medicine, nutrition and feeding animals, breeding and selection, morphology, cellular and molecular biology, immunology, genetics, ecology and toxicology, cytology, microbiology, biotechnology; reviews on actual problems of biology; methodical works describing new or improved research methods; articles about the history of biological, agricultural and veterinary sciences highlighting the evolution of ideas, the conception and development of scientific schools or dedicated to creative portraits of scientists; discussion reviews of the new books and the journal publications; scientific chronicle.

Founder: Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine.

Published since: 1998. **Periodicity:** 4 times per year.

Language: Ukrainian, English.

The scientific journal "The Animal Biology" is included in: *The Index Copernicus International, Google Scholar, CrossRef, WorldCat.*

Editor-in-chief: Yuriy Salyha, Dr. Sc.

Scientific Editor: Ihor Vudmaska, Dr. Sc.

Editorial secretary: Olexandra Grabovska, PhD.

Page layout: Kateryna Sudyn.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Салига Юрій Тарасович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — Голова колегії, головний редактор
Вудмаска Ігор Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — заступник головного редактора

Антоняк Галина Леонідівна, Львівський національний університет імені І. Франка (Україна)

Бартлевський Павел, Ветеринарний коледж Онтаріо, Гуелфський університет (Канада)

Білий Ростислав Олександрович, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Войтюк Олександр, Уппсальський університет (Швеція)

Віщур Олег Іванович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Гавриляк Вікторія Василівна, Національний університет «Львівська політехніка» (Україна)

Гжегоцький Мечислав Романович, Львівський національний медичний університет ім Данила Галицького (Україна)

Гладій Михайло Васильович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Гунчак Алла Володимирівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Доліба Микола, Пенсильванський університет (США)

Жукорський Остап Мирославович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Заячківська Оксана Станіславівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Іскра Руслана Ярославівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Калачнюк Лілія Григорівна, Національний університет біоресурсів і природокористування України (Україна)

Кльоцек Чеслав, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальскі Зигмунд, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальчук Ірина Іванівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Корпан Ярослав Ізидорович, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Україна)

Коцюмбас Ігор Ярославович, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (Україна)

Кришталь Олег Олександрович, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Кулік Джордж, Медичний центр Університету Вейк Форест (США)

Лесик Ярослав Васильович, Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка (Україна)

Луговий Богдан, Університет Маунт Сент Вінсент (Канада)

Лушак Володимир Іванович, Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника (Україна)

Мадіч Алла Всеволодівна, Кембриджський університет (Великобританія)

Мароунек Мілан, Інститут тваринництва (Чехія)

Медина Ігор, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Мудрон Павел, Університет ветеринарної медицини та фармації в Кошице (Словаччина)

Муравські Мацей, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Остапів Дмитро Дмитрович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Півнева Тетяна Андріївна, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Снітинський Володимир Васильович, Львівський національний аграрний університет (Україна)

Стапай Петро Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Стибель Володимир Володимирович, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Україна)

Стойка Ростислав Степанович, Інститут біології клітини НАН України (Україна)

Тизьо Роман, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Федорович Єлизавета Іллівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Федорук Ростислав Степанович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Шаран Микола Михайлович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Адреса редакції: Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.
Тел./ Факс: (+380 32) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.
Електронна скринька: editor_j@inenbiol.com.ua.
Веб-сторінка: <http://aminbiol.com.ua>

Editorial Office: Institute of Animal Biology NAAS,
38 Stus str., Lviv, 79034, Ukraine.
Тел. / Факс: (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.
E-mail: editor_j@inenbiol.com.ua.
Website: <http://aminbiol.com.ua>



ІНСТИТУТ
БІОЛОГІЇ
ТВАРИН
НААН

ISSN 1681-0015 (print)

ISSN 2313-2191 (online)

DOI: 10.15407/animbiol

БІОЛОГІЯ ТВАРИН

The ANIMAL BIOLOGY

2021 ▪ Volume 23 ▪ Issue 1 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol23.01

EDITORIAL COUNCIL

Yuriy Salyha, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — Head of the council, editor-in-chief
Ihor Vudmaska, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — deputy chief editor

Halyna Antonyak, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)
Pawel Bartlewski, Ontario Veterinary College, University of Guelph (Canada)
Rostyslav Bilyy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Nicolai M. Doliba, University of Pennsylvania (United States)
Elizabet Fedorovych, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Fedoruk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Mykhailo Gladij, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)
Mechyslav Gzhegotskyi, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Viktoriiia Havryliak, Lviv Polytechnic National University (Ukraine)
Alla Hunchak, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Ruslana Iskra, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Liliiia Kalachniuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)
Czesław Klocek, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Yaroslav Korpan, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine (Ukraine)
Igor Kotsyumbas, State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives (Ukraine)
Iryna Kovalchuk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Zygmunt Maciej Kowalski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Oleg Krishtal, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
George Kulik, Wake Forest University (United States)
Yaroslav Lesyk, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University (Ukraine)
Bohdan Luhovyy, Mount Saint Vincent University (Canada)
Volodymyr Lushchak, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University (Ukraine)
Alla Madich, University of Cambridge (United Kingdom)
Milan Marounek, Institute of Animal Science (Czech Republic)
Igor Medina, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Pavol Mudroň, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Slovak Republic)
Maciej Murawski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Dmytro Ostapiv, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Tatyana Pivneva, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
Mykola Sharan, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Volodymyr Snityns'kyi, Lviv National Agrarian University (Ukraine)
Petro Stapay, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Stoika, Institute of Cell Biology NAS of Ukraine (Ukraine)
Volodymyr Stybel, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Ukraine)
Roman Tyzio, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Oleg Vishchur, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Oleksandr Voytyuk, Uppsala University (Sweden)
Oksana Zayachkivska, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Ostap Zhukorskyi, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

ЗМІСТ

<i>Ayshpur O. Y., Mushtuk I. Y., Muzykina L. M., Tarasov O. A., Yermolenko O. M., Gumeniuk V. V., Derevyanko M. M.</i> The analysis of the condition of colostral immunity of sows after vaccination against porcine epidemic diarrhea virus.....	3
<i>Дуда Ю. В.</i> Вплив цистицеркозної інвазії на показники протеїнового обміну та клітинний імунітет кролів	7
<i>Волощук О. М., Лучик Т. В., Копильчук Г. П.</i> Показники імунореактивності у щурів за умов різних режимів харчування	12
<i>Салига Н. О.</i> Дія L-глутамінової кислоти на зміни біохімічних показників щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном	18
<i>Корнят С., Шаран М., Остапів Д., Корбецький А., Яремчук І., Андрушко О.</i> Якість деконсервованої сперми бугаїв за дії нанорозмірної форми сукцинатів Zn, Cu і Mn у складі розріджувачів	23
<i>Стронський І. Ю., Сімонов М. Р., Стронський Ю. С., Акимшин М. М.</i> Вплив стресу на якість м'яса свиней	30
<i>Karaman M. A.</i> Influence of <i>Streptomyces levoris</i> CNMN-Ac-01 on meat productivity and chemical parameters of rabbit meat	34
<i>Стапай П. В., Стахів Н. П., Ткачук В. М., Смолянїнова О. О.</i> Зв'язок структурних ліпідів вовни овець з її окремими макроструктурними компонентами, хімічним складом та фізичними показниками	38
<u>Короткий огляд</u>	
<i>Xu Ping</i> Research progress on the dairy cow mastitis	44
<u>Рецензія</u>	
<i>Матвієнко Н. М., Мандигра М. С.</i> Рецензія на монографію О. Г. Коваленка та С. В. Афонської (Дроботько) «Відданість науковій істині» (К.: Наукова Думка., 2018, 232 с.).....	47

CONTENTS

<i>Ayshpur O. Y., Mushtuk I. Y., Muzykina L. M., Tarasov O. A., Yermolenko O. M., Gumeniuk V. V., Derevyanko M. M.</i> The analysis of the condition of colostral immunity of sows after vaccination against porcine epidemic diarrhea virus.....	3
<i>Duda Y. V.</i> The effect of cysticercosis invasion on the protein metabolism and cellular immunity of rabbits.....	7
<i>Voloshchuk O. M., Luchyk T. V., Kopylchuk G. P.</i> Indicators of immunoreactivity in rats under conditions of different nutrition regimen.....	12
<i>Salyha N. O.</i> L-glutamic acid effect on changes in biochemical parameters of rats intoxicated by carbon tetrachloride.....	18
<i>Kornyat S., Sharan M., Ostapiv D., Korbeckij A., Jaremchuk I., Andrushko O.</i> Quality of deconserved bull sperm for the action of nanosuccinates Zn, Cu and Mn in the diluents.....	23
<i>Stronskyi I. Y., Simonov M. R., Stronskyi Y. S., Akymyshyn M. M.</i> The impact of stress on the quality of pork	30
<i>Karaman M. A.</i> Influence of <i>Streptomyces levoris</i> CNMN-Ac-01 on meat productivity and chemical parameters of rabbit meat	34
<i>Stapai P. V., Stakhiv N. P., Tkachuk V. M., Smolianinova O. O.</i> The relationship between structural lipids of sheep wool with its individual macrostructural components, chemical composition and physical indicators	38
<u>Minireview</u>	
<i>Xu Ping</i> Research progress on the dairy cow mastitis	44
<u>Review</u>	
<i>Матвієнко Н. М., Мандигра М. С.</i> Рецензія на монографію О. Г. Коваленка та С. В. Афонської (Дроботько) «Відданість науковій істині» (К.: Наукова Думка., 2018, 232 с.).....	47



The analysis of the condition of colostral immunity of sows after vaccination against porcine epidemic diarrhea virus

O. Y. Ayshpur, I. Y. Mushtuk, L. M. Muzykina, O. A. Tarasov,
O. M. Yermolenko, V. V. Gumeniuk, M. M. Derevyanko

olenaayshpur@gmail.com, mushtuk0104@gmail.com

The Institute of Veterinary Medicine NAAS,
30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

Porcine epidemic diarrhea (PED) is an acute, highly contagious viral disease of pigs of all age groups, but it is manifested by particularly high mortality of newborn piglets and characterized by vomiting, diarrhea, and lack of appetite. Porcine epidemic diarrhea (PED) remains a problem for pig farms in many countries, including Ukraine. Specific prophylaxis PED had proven to be a difficult task and despite many studies, the problem of PED remains unresolved. Since piglets get infected during the first days after birth, their protection can only be provided by colostral antibodies of immunized sows. Therefore, the urgent task of veterinary medicine scientists is to develop effective methods of preventing the disease, which is to use local strains of the pathogen. The article presents the results of studies of colostral immunity of piglets by determining the presence of antibodies against the PED virus in the colostrum of sows who were immunized with a vaccine inactivated against PED from the intestinal virus of artificially infected suckling piglets. Infectious activity of matrix broods of the virus for the production of the preparation was determined by RT-PCR. According to the results of research, material was selected for the manufacture of the vaccine. Subsequently, the drug was monitored according to technological regulations, including the infectious activity of the virus, which ranged from 1.96×10^{-8} to 3.16×10^{-9} . We conducted a comparative study of the presence of antibodies to the PED virus in the colostrum of sows in the treatment of animals by "back-feeding" and vaccination of sows with inactivated preparation. Samples of colostrum from sows were taken within 1–4 hours after farrowing. The article presents research results that allow us to conclude that both methods of treatment of sows create immunity in newborn piglets. Thus, the presence of antibodies to the PED virus in colostrum in the first hours after birth provide protection against infection and death.

Keywords: porcine epidemic diarrhea virus, pigs, colostral immunity, colostrum

Swine epidemic diarrhea virus (PEDV) is the RNA-containing virus that belongs to the *Coronaviridae* family, a subgenus of *Coronavirinae*, of the genus *Alphacoronavirus* [4]. PEDV was first found in piglets and fattening pigs in England and was identified and recognized as the causative agent of epidemic diarrhea of pigs in 1978 [9]. The main clinical sign of PED was profuse diarrhea with 100% morbidity and 50–100% death of newborns and piglets under one-week age with a decrease in the incidence of piglets and pigs of older age groups. PED outbreaks were reported from various countries in Europe and Asia, including Japan, China, South Korea, and Thailand [8]. Since 2010, an increase of this disease outbreaks has

been reported by several provinces in China, which cause significant economic losses. The reason for this situation was the new strains of the PED virus, confirmed by isolation and characterization of virus [7].

PEDV was initially found in the eastern region of the Midwest USA in April 2013 [2]. The rapid dissemination of the virus was confirmed by virus isolation in diagnostic laboratories. During the period of 4–8 weeks after the virus was detected in first time, the number of states with PED outbreaks increased from 6 to 12. The greatest number of positive results were obtained in the states of Iowa and Oklahoma. Subsequently, the PED virus was spreading extremely rapidly and was detected in June 2014 in 30 states of the United States [2].

In the summer of 2014, the first outbreak was registered in Ukraine. And in 2015, an outbreak of PED with a high incidence and mortality rate was also recorded at a large complex for growing pigs in Ukraine [1]. The virus was identified as the American type and unlike the European one, it has the highest pathogenicity.

The aim of our study was to study the status of colostrum immunity of pigs by determining the presence of antibodies against the PED virus in the colostrum of sows immunized with an inactivated vaccine against PED on the basis of viral antigen obtained with infected dairy pigs [3, 5, 6].

Materials and Methods

An experimental series of inactivated vaccines against PED with viral antigen obtained from infected dairy pigs were manufactured at the Institute of veterinary medicine NAAS in accordance with the developed process regulations. Infected intestines as a raw material for the manufacture of vaccines were obtained from a specialized diagnostic laboratory in compliance with all the rules for the delivery of such material. The level of antibodies in the colostrum of grafted sows was determined using the AntiGen PED IgA ELISA test kit.

Infectious activity of matrix rospend virus to produce the drug was determined by real-time PCR.

Results and Discussion

The infectious activity of virus culture matrix for the vaccine production was determined by real time PCR.

The results of studies on the RNA titer of swine endemic diarrhea virus (EMF) (table 1).

According to the results of research, biological material was selected to produce vaccine. The vaccine was controlled according to the technological regulations, including the infectious activity of the virus, which ranged from 1.96×10^{-8} to 3.16×10^{-9} .

It was carried out a comparative study of PED antibodies prevalence in the colostrum of sows treated with standard approaches and sows immunized with inactivated vaccines against PED. Colostrum from sows was collected within 1–4 hours after farrowing.

The titer of maternal antibodies in sows' colostrum (table 2).

The results of our research suggested that both methods of treating sow able to create protective immunity of newborn piglets. Thus, the presence of antibodies to the PED virus in colostrum from the first hours after farrow provides protection against PED infection and death of piglets. So, despite the high contagiousness of the disease and the variability of the PED virus, the choice of the preventing means and

Table 1. Infectious activity of virus culture matrix for the vaccine production (using real-time PCR)

No.	Biological material	Results
		Titer of PED virus RNA, G.U. in 1 ml of biological material
1.	Pig intestinal suspension	1.96×10^{-8}
2.	Pig intestinal suspension	5.06×10^{-8}
3.	Pig intestinal suspension	1.09×10^{-9}
4.	Pig intestinal suspension	1.51×10^{-9}
5.	Pig intestinal suspension	3.96×10^{-8}
6.	Pig intestinal suspension	9.33×10^{-8}
7.	Pig intestinal suspension	6.46×10^{-8}
8.	Pig intestinal suspension	3.16×10^{-9}
9.	Pig intestinal suspension	1.00×10^{-9}
10.	Pig intestinal suspension	4.67×10^{-8}

Table 2. The results of studies of the titers of maternal antibodies (IgA) in the colostrum of sows with different methods of prophylaxis treatment

No.	No. of sow, no. of farm	Treatment	Colostrum antibody titer	
			Optical density	Result
1.	1, farm no. 1	reverse feeding method	0.309	Negative
2.	2, farm no. 1	reverse feeding method	0.842	Positive
3.	3, farm no. 1	reverse feeding method	1.090	Positive
4.	4, farm no. 1	reverse feeding method	0.486	Positive
5.	5, farm no. 1	reverse feeding method	2.196	Positive
6.	1, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	0.570	Positive
7.	2, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	0.084	Negative
8.	3, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	1.689	Positive
9.	4, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	2.256	Positive
10.	5, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	0.097	Negative
11.	6, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	0.912	Positive
12.	7, farm no. 2	immunization with inactivated vaccine	1.116	Positive

Note. Here and further: Positive — $>0,374 K \llcorner + \gg$ — 0.932; 0.995; Negative — $<0,374 K \llcorner - \gg$ — 0.013; 0.019; 0.041 = 0.024.

disease control should be balanced and grounded on the objective premises. Usually inactivated vaccines have the advantage, reducing the likelihood and subsequently negating the possibility of the circulation of the PED virus in the pig population. In the same two farms, an experiment to determine the presence of antibodies to the PED pathogen in the sow's colostrum in dynamics was conducted. An experimental sample of the inactivated vaccine was used. Samples of colostrum were collected in 1 hour, 4 hours and 10 hours after farrowing (table 3).

Table 3. The results of studies of maternal antibodies titers (IgA) in the colostrum of sows in the dynamics

No.	No. of sow, no. of farm	Time after farrow, hours	Colostral antibody titer	
			Optical density	Result
1.	inv. no. 7598, farm no. 1	1 hr	0.745	Positive
2.	inv. no. 7598, farm no. 1	4 hr	0.343	Negative
3.	inv. no. 7598, farm no. 1	10 hr	0.495	Positive
4.	inv. no. 7954, farm no. 1	1 hr	0.064	Negative
5.	inv. no. 7954, farm no. 1	4 hr	0.276	Negative
6.	inv. no. 7954, farm no. 1	10 hr	0.204	Negative
7.	inv. no. 7874, farm no. 1	1 hr	0.229	Negative
8.	inv. no. 7874, farm no. 1	4 hr	0.212	Negative
9.	inv. no. 7874, farm no. 1	10 hr	1.168	Positive
10.	inv. no. 9152, farm no. 2	1 hr	0.467	Positive
11.	inv. no. 9152, farm no. 2	4 hr	0.477	Positive
12.	inv. no. 9152, farm no. 2	10 hr	0.484	Positive
13.	inv. no. 2518, farm no. 2	1 hr	0.503	Positive
14.	inv. no. 2518, farm no. 2	4 hr	0.142	Negative
15.	inv. no. 2518, farm no. 2	10 hr	0.018	Negative
16.	inv. no. 5672, farm no. 2	1 hr	0.316	Negative
17.	inv. no. 5672, farm no. 2	4 hr	0.180	Negative
18.	inv. no. 5672, farm no. 2	10 hr	0.275	Negative

Conclusion

Epidemic diarrhea of pigs remains a problem for pig industry in many countries around the world, including Ukraine. Since the efficacy of the commercially available PED vaccines has not been confirmed, our developed preparation remains an effective method of preventing the disease with advantage in using local strains of the pathogen.

Prospects of Further Research

The research results proved the effectiveness of the inactivated vaccine against PED on the base of the intestinal virus antigens infected dairy-free piglets. It was detected the presence of maternal antibodies against PED pathogen in colostrum during the first hours after farrowing. The absence of antibodies in some test samples of sow colostrum was associated with the individual physiological condition of the organism, the possibility of their appearance at a longer period after farrowing, which is the task of further research.

- Carr J, Howells M. Virulent PEDV in Ukraine — what happened on farm. *Pig Progress*. 2015; 31 (3): 8–11.
- Chen Q, Li G, Stasko J, Thomas JT, Stensland WR, Pillatzki AE, Gauger PC, Schwartz KJ, Madson D, Yoon KJ, Stevenson GW, Burrough ER, Harmon KM, Main RG, Zhang J. Isolation and characterization of porcine epidemic diarrhea viruses associated with the 2013 disease outbreak among swine in the United States. *J. Clin Microbiol*. 2014; 52 (1): 234–43. DOI: 10.1128/JCM.02820-13.
- Dee S. Control and eradication of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Compend Cont Educ Pract Vet*. 2000; 22: 27–35.
- Havrylenko AV, Nedosykov VV. Epidemic diarrhea of pigs: approaches to prevention and control. *Veterinary Medicine of Ukraine*. 2015; 8 (234): 7–10. Available at: <http://base.dnsgb.com.ua/files/journal/Veterinarna-medicina-Ukrainy/VMU-2015-08/2.pdf> (in Ukrainian)
- Meier WA, Wheeler J, Husmann RJ, Osorio FA, Zuckermann FA. Characteristics of the immune response of pigs to wild-type PRRS virus or to commercially available vaccines: an unconventional response. *Proc. Am. Assoc. Swine Practition*. Indianapolis, Indiana, USA; 2000: 415–418.
- Nedosekov V. Infectious animal pathology: problems and prospects. *Earth Biores. Qual. Life*. 2012; 1. Available at: <https://gchera-ejournal.nubip.edu.ua/index.php/ebql/article/view/14>
- Orljankin BG. Antiviral immunity and a strategy for the specific prevention of viral diseases of pigs. *Materials Intern. Scientific conf.; Federal state institute*. Vladimir, ARRIAH: 2008; 129–145. (in Russian)
- Swine Enteric Coronavirus Disease Testing Summary Report. *NAHLN Labs*, 2014. Available at: https://www.aasv.org/pedv/SECoV_weekly_report_140604.pdf
- Wang L, Byrum B, Zhang Y. New variant of porcine epidemic diarrhea virus. *Emerg. Infect. Diseases*. 2014; 20 (5): 917–919. DOI: 10.3201/eid2005.140195.

Аналіз стану колострального імунітету поросят за імунізації свиноматок проти вірусу епідемічної діареї свиней

О. Є. Айшпур, І. Ю. Муштук, Л. М. Музикіна, О. А. Тарасов, О. М. Єрмоленко, В. В. Гуменюк, М. М. Дерев'янку
olenaayshpur@gmail.com, mushtuk0104@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

Епідемічна діарея свиней (ЕДС) — гостре, надзвичайно контагіозне вірусне захворювання свиней усіх вікових груп, яке характеризується рвотою, діареєю і відсутністю апетиту і спричиняє особливо високу смертність серед новонароджених поросят. ЕДС залишається проблемою для господарств-виробників свинини у багатьох країнах світу, зокрема в Україні. Специфічна профілактика ЕДС виявилася важким завданням, яке, попри численні дослідження, і надалі залишається невирішеним. Оскільки поросята хворіють у перші дні після народження, їхній захист може бути забезпечений тільки колостральними антитілами від імунізованих свиноматок. Отже, нагальним завданням науковців ветеринарної медицини є розробка ефективних методів профілактики захворювання, що полягає у використанні місцевих штамів збудника. Представлені результати досліджень колострального імунітету поросят визначенням наявності антитіл проти вірусу ЕДС в молозиві свиноматок, імунізованих вакциною, інактивованою проти ЕДС з кишкового вірусу штучно заражених безмолозивних поросят. Інфекційну активність матричних розплодок вірусу для виробництва препарату визначали методом ПЛР-РЧ. За результатами досліджень відбирали матеріал для виготовлення вакцини. Надалі препарат контролювали згідно з технологічним регламентом, зокрема інфекційну активність вірусу, яка становила від $1,96 \times 10^{-8}$ до $3,16 \times 10^{-9}$. Ми провели порівняльне дослідження наявності антитіл до вірусу ЕДС в молозиві свиноматок методом «зворотнього згодовування» і вакцинації свиноматок інактивованим препаратом. Зразки молозива від свиноматок відбирали впродовж 1–4 год. після опоросу. Результати засвідчили, що обидва методи обробки свиноматок створюють імунітет у новонароджених тварин. Наявність антитіл до вірусу ЕДС в молозиві вже у перші години після народження забезпечує захист від інфікування та загибелі поросят.

Ключові слова: вірус, ЕДС, свині, колостральний імунітет, молозиво



Вплив цистицеркозної інвазії на показники протеїнового обміну та клітинний імунітет кролів

Ю. В. Дуда

dudajulia1976@gmail.com

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
вул. С. Єфремова, 25, м. Дніпро, 49009, Україна

Склад протеїнів крові організму змінюється залежно від функціонального стану тварин, а також від різних патологій. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначення впливу збудника *Cysticercus pisiformis* на протеїновий обмін і клітинний імунітет кролів. Після візуального визначення наявності цистицеркозних міхурів у кролів їх поділили на дві групи: здорові (контрольна) та хворі (дослідна). Біохімічні дослідження крові проводили з використанням наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Спонтанна цистицеркозна інвазія у кролів-самців спричинила зміни показників протеїнового обміну. У заражених тварин вміст загального протеїну був на 8,79% ($P < 0,05$) вищим, ніж у контролі. При цьому збільшення вмісту загального протеїну відбулось за рахунок глобулінової фракції, яка в 1,50 раза ($P < 0,05$) перевищувала значення у хворих тварин за абсолютним показником, ніж у здорових кролів. Зокрема це підвищення відбулося внаслідок зростання вмісту γ -глобулінів як в абсолютному значенні — в 1,69 раза ($P < 0,05$), так і у відсотковому — в 1,51 раза ($P < 0,05$). Вміст альбумінів крові, синтезованих печінкою, був вірогідно нижчим на 10,08% ($P < 0,05$) у хворих на цистицеркоз кролів. При цьому протеїновий коефіцієнт у дослідних тварин був нижчим на 43,89% ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Концентрація сечової кислоти в інвазованих тварин була нижчою на 34,09% ($P < 0,05$), ніж у здорових. У заражених тварин спостерігали високу кількість Т-, В-лімфоцитів і Т-хелперів, особливо двох останніх показників, які були вищі, відповідно, в 1,54 ($P < 0,01$) і 1,36 ($P < 0,05$) раза на тлі низької кількості Т-супресорів і О-лімфоцитів — майже в 5 разів ($P < 0,001$). Таким чином, зміни в протеїнограмі та клітинному імунітеті свідчать, на нашу думку, про інтенсивний розвиток імунної відповіді на пошкодження тканин в організмі кролів під час міграції збудника *Cysticercus pisiformis*.

Ключові слова: цистицеркозна інвазія, протеїновий обмін, Т- і В-лімфоцити, *Cysticercus pisiformis*, глобулінові фракції, кролі

Одним із поширених інвазійних захворювань у кролівництві є цистицеркоз пізіформний, збудником якого є *Cysticercus pisiformis*. Це цестодозне захворювання, що виникає внаслідок заковтування з кормом або водою яєць *Taenia pisiformis* — ціп'яка, який паразитує в тонкому відділі кишечника собак та інших м'ясоїдних. У травному каналі кролів з яєць звільняються зародки (онкосфери), які проникають до кровоносних судин слизової оболонки кишечника. Потім з потоком крові у воротній вені або лімфатичних судинах потрапляють у печінку, рідше в інші органи, де перетворюються на молодих паразитів. Через 26 діб більшість цистицерків проникають через серозний покрив печінки і випадають у черевну порожнину, прикріплюються до попере-

кової або тазової частини прямої кишки, сальника, очеревини, плеври, де досягають інвазійної стадії [5, 15].

Дослідниками встановлено [5, 8], що цистицеркозом пізіформним може бути уражено 41,6% кролів і 21,7% зайців. Інтенсивність інвазії у кролів коливається від 3 до 121, у зайців — від 7 до 48 [8] і навіть до 600 міхурів [21].

Це захворювання негативно впливає на м'ясну продуктивність кролів [19, 23], призводячи до значних економічних збитків на кролівничих фермах [16, 17]. Щоб уникнути поширення хвороби, потрібно вчасно діагностувати захворювання.

Збудники інвазійних хвороб впливають як на протеїновий обмін, так і на імунну систему організму тва-

рини [9, 10, 25, 29]. Визначення протеїнових фракцій крові та клітинного імунітету є показовими, оскільки мають суттєве значення для діагностики багатьох захворювань [1, 27].

Тому метою наших досліджень було вивчити вплив збудника *Cysticercus pisiformis* на показники протеїнового обміну та клітинного імунітету кролів.

Матеріали і методи

Роботу виконували впродовж 2016 р. Дослідження проведено на кролях-самцях каліфорнійської породи 3–4-місячного віку, масою тіла 3,5–4,0 кг, відібраних за принципом аналогів у кролівницькому господарстві ТОВ «Олбест» Дніпровської обл. Кров у кролів брали вранці з крайової вушної вени. Після взяття крові проводили забій та візуально визначали наявність цистицеркозних міхурів у кролів, яких потім поділили на дві групи: здорові (контроль) та хворі тварини (дослідна група). Тварини контрольної групи отримували збалансований стандартний гранульований комбікорм і воду без обмеження; дослідної — крім стандартного гранульованого комбікорму з водою, додатково споживали сіно. Тварин утримували в сітчастих одноярусних клітках у приміщенні, згідно з чинними ветеринарно-санітарними нормами.

Лабораторні дослідження проводили в лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Біохімічні дослідження крові проводили з використанням наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). Спектрофотометричним методом у крові тварин визначали такі показники: вміст загального протеїну біуретовим методом, альбумінів — з індикатором бромкрезоловим зеленим, глобулінів (розрахунковий показник) дорівнює різниці загального протеїну та альбумінів, глобулінові фракції — методом осадження, протеїновий коефіцієнт (розрахунковий показник) обчислювали як співвідношення альбумінів до глобулінів; сечовину — діацетилмонооксимним методом, сечову кислоту — фосфорновольфрамним методом, креатинін — методом Яффе-Поппера [9, 24].

Загальну кількість Т-лімфоцитів визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана [2, 18, 28]. Число Т-клітин з переважно супресорною активністю (ТФЧ) визначали відніманням числа теофілінрезистентних Т-клітин (ТФР) від загального числа Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) розраховували як співвідношення теофілінрезистентних Т-клітин до теофілінчутливих. Визначення кількості В-лімфоцитів проводили методом комплементарного розеткоутворення [2, 28]. Число О-клітин підраховували відніманням від 100% суми загальної кількості Т- і В-лімфоцитів.

Під час роботи з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребет-

них тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.). Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) здійснювали з використанням програми *Microsoft Excel-07*.

Результати й обговорення

Рівень ураженості кролів визначали візуально після забою за кількістю цистицеркозних міхурів. Цистицерків знаходили тільки на тазовій частині прямої кишки. Інтенсивність інвазії у хворих тварин становила від 2 до 10 міхурів в одній тварині. Проведеними дослідженнями встановлено, що збудник *Cysticercus pisiformis* впливав на показники протеїнового обміну та клітинного імунітету кролів. Зокрема виявлені істотні відмінності як загального протеїну, так і в співвідношенні протеїнових фракцій крові у хворих тварин порівняно зі здоровими (табл. 1).

У заражених тварин був на 8,79% ($P < 0,05$) більший вміст загального протеїну, ніж в контролі. Збільшення вмісту загального протеїну відбулось за рахунок глобулінової фракції, яка в 1,50 раза ($P < 0,05$) перевищувала значення у заражених збудником *Cysticercus pisiformis* тварин за абсолютним показником, ніж у здорових кролів, а за відсотковим — в 1,35 раза ($P < 0,05$). Вміст альбумінів крові, синтезованих печінкою, був вірогідно нижчим на 10,08% ($P < 0,05$) у хворих на цистицеркоз кролів і становив $30,65 \pm 1,12$ г/л порівняно з цим показником у здорових — $33,74 \pm 0,69$ г/л. Інші науковці теж спостерігали вірогідне зниження альбуміну [3, 13]. Деякі з них пояснювали цей факт тим, що внаслідок паразитування *Cysticercus pisiformis* виникає синдром печінкової недостатності [3]. Протеїновий коефіцієнт у хворих тварин був нижчим на 43,89% ($P < 0,05$) порівняно зі здоровими. Низький вміст альбумінів на тлі високого вмісту загального протеїну та глобулінів у крові хворих тварин, на нашу думку, може вказувати на пошкодження паренхіми печінки. Наші припущення підтверджує І. М. Дубина у своїй роботі, в якій розкриває, що внаслідок тривалого запалення печінки, спричиненого мігруючими цистицерками, порушується її мікроциркуляція, що призводить до генералізованої гіпоксії і, як наслідок, до дистрофії і некрозу печінкових клітин [6].

Протеїни сироватки крові кролів розділяли методом осадження на фракції: альбуміни, α_1 -, α_2 -, β -, γ -глобуліни [1, 11, 30]. Під час проведення дослідів ми помітили тенденцію до збільшення у хворих кролів вмісту α_2 - і β -глобулінів порівняно з контролем. Зокрема, зростання вмісту γ -глобулінів як в абсолютному значенні — в 1,69 раза ($P < 0,05$), так і в відсотковому — в 1,51 раза ($P < 0,05$) може бути зумовлене їхньою участю у механізмах захисту організму хворої тварини [24, 26]. За цистицеркозу пізіформного

I. М. Дубина та М. Ф. Карасьов спостерігали імунно-запальний синдром із характерним підвищенням рівня γ -глобулінів у сироватці крові [7].

Водночас цистицеркозна інвазія призвела до змін інших показників протеїнового обміну — вмісту сечової кислоти, сечовини та креатиніну, які у дослідних групах виявились нижчими порівняно з контролем. Встановлено, що концентрація сечової кислоти в інвазованих тварин була нижчою на 34,09% ($P < 0,05$), ніж у здорових. Відомо, що сечова кислота — один з продуктів, які виробляє печінка [12], за структурних змін органу ця функція порушується, що й призводить до вірогідного зниження її концентрації у хворих кролів.

Таким чином, у крові тварин, спонтанно заражених збудником *Cysticercus pisiformis*, відбулися значні зміни у протеїнограмі та знизилася вироблення сечової кислоти. На нашу думку, це свідчить про запальні процеси у печінці, які виникають внаслідок механічної і токсичної дії гельмінта.

У наших дослідженнях встановлено, що у спонтанно заражених збудником *Cysticercus pisiformis* кролів відбуваються істотні зміни клітинного імунітету, зокрема кількості популяцій Т- і В-лімфоцитів (табл. 2).

Розвиток запального процесу у печінці супроводжувався передусім значними змінами в системі імунітету. Ми встановили, що у периферійному руслі крові хворих на цистицеркоз кролів загальний відсоток Т-лімфоцитів був вірогідно вищим і сягав $59,93 \pm 1,04\%$ ($P < 0,05$) порівняно зі здоровими — $55,74 \pm 1,14\%$. Щодо другої ланки імунної системи, яку складають В-лімфоцити, то інвазовані тварини мали подібну до Т-лімфоцитів картину збільшення як у відсотковому — $36,00 \pm 1,11\%$ проти $23,52 \pm 1,52\%$ ($P < 0,001$), так і в кількісному значенні — $2,16 \pm 0,21$ Г/л проти $1,40 \pm 0,14$ Г/л ($P < 0,01$), тобто в 1,54 раза. Значні зміни відбувалися серед Т-хелперів, основна функція яких полягає у стимулюванні трансформації В-лімфоцитів у клітини плазматичного ряду [2]. Кількість Т-хелперів у заражених збудником *Cysticercus pisiformis* кролів була більшою в 1,36 раза ($P < 0,05$) порівняно зі здоровими. Такі вірогідні зміни спостерігали і в відсотковому значенні цих клітин, яке було вищим на 13,11% ($P < 0,001$). Водночас у крові дослідної групи реєстрували низький показник як абсолютної, так і відносної кількості Т-супресорів проти контрольної групи тварин: $0,73 \pm 0,10$ Г/л проти $1,10 \pm 0,10$ Г/л ($P < 0,05$) і $11,86 \pm 1,23\%$ проти $19,17 \pm 0,91\%$ ($P < 0,001$) відповідно. У хворих кролів кількість О-лімфоцитів значно нижча — майже в 5 разів ($P < 0,001$), ніж у здорових. Такий перерозподіл лімфоцитів, висока кількість Т- і В-лімфоцитів та функціонально спеціалізованих клітинних популяцій (Т-хелперів) на тлі низької кількості О-лімфоцитів, Т-супресорів свідчать про імунну відповідь на пошкодження тканин під час міграції збудника *Cysticercus pisiformis*. Деякі вчені теж показали, що у відповідь на подразнення цистицерками організм хазяїна модулює імунну відповідь за Th2-типом [20, 22, 31].

Таблиця 1. Показники протеїнового обміну крові кролів за впливу збудника *Cysticercus pisiformis* ($M \pm m$)

Table 1. Protein metabolism parameters of rabbits under the influence of *Cysticercus pisiformis* ($M \pm m$)

Показники Parameters	Групи тварин / Animal groups		
	Здорові, контроль Healthy, control (n=24)	Хворі, дослід Diseased, experiment (n=14)	
Загальний протеїн, г/л Total protein, g/l	48,47±0,85	52,73±1,06*	
Альбуміни Albumins	г/л / g/l	33,74±0,69	
	%	70,00±1,70	
Глобуліни Globulins	г/л / g/l	14,73±1,02	
	%	29,99±1,70	
Глобулінові фракції Globulin fractions	α_1	г/л / g/l	1,21±0,16
		%	2,50±0,32
	α_2	г/л / g/l	2,55±0,35
		%	5,27±0,74
	β	г/л / g/l	2,19±0,24
		%	4,49±0,49
	γ	г/л / g/l	8,79±0,88
		%	17,73±1,55
Протеїновий коефіцієнт Protein ratio	2,59±0,21	1,80±0,28*	
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/l	6,92±1,22	6,79±0,75	
Сечова кислота, мкмоль/л Uric acid, μ mol/l	92,05±9,01	68,65±5,27*	
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μ mol/l	150,66±5,15	143,98±6,36	

Примітка. У цій і наступних таблицях: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ порівняно зі здоровими тваринами.

Note. In this and following tables: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ compared to healthy animals.

Таблиця 2. Показники клітинного імунітету кролів за впливу збудника *Cysticercus pisiformis* ($M \pm m$)

Table 2. Cellular immunity parameters of rabbits under the influence of *Cysticercus pisiformis* ($M \pm m$)

Показники Parameters	Групи тварин / Animal groups	
	Здорові, контроль Healthy, control (n=24)	Хворі, дослід Diseased, experiment (n=14)
Т-лімфоцити T-lymphocytes	Г/л / G/l	3,27±0,26
	%	59,93±1,04*
В-лімфоцити B-lymphocytes	Г/л / G/l	1,40±0,14
	%	23,52±1,52
Т-хелпери T-helpers	Г/л / G/l	2,08±0,20
	%	34,96±1,91
Т-супресори T-suppressors	Г/л / G/l	1,10±0,10
	%	19,17±0,91
ІРІ	1,98±0,19	4,99±0,78**
Т-активні T-active	Г/л / G/l	2,50±0,18
	%	45,13±2,29
О-лімфоцити O-lymphocytes	Г/л / G/l	1,21±0,21
	%	20,74±2,40

Висновки

Спонтанна цистицеркозна інвазія у кролів-самців спричинила зміни показників протеїнового обміну: збільшення вмісту загального протеїну, глобулінової фракції, γ -глобулінів на тлі зниження вмісту альбумінів і сечової кислоти внаслідок тривалого запалення печінки.

У заражених тварин спостерігали високу кількість Т-, В-лімфоцитів і Т-хелперів на тлі низької кількості Т-супресорів і О-лімфоцитів, що свідчить про інтенсивний розвиток клітинної імунної відповіді на пошкодження тканин під час міграції збудника *Cysticercus pisiformis*.

Перспективи подальших досліджень

Вивчення ензимної активності трансаміназ, лейкоформули і гуморального імунітету за спонтанного цистицеркозу кролів, а також визначення протеїнового обміну та імунної реактивності за цистицеркозної інвазії кролів на тлі антигельмінтної терапії із застосуванням різних продуктів переробки амаранту.

- Azim W, Azim S, Ahmed K, Shafi H, Rafi T, Luqman M. Diagnostic significance of serum protein electrophoresis. *Biomed. Biochim. Acta*. 2004; 20: 40–44. Available at: <http://thebiomedicapk.com/articles/2.pdf>
- Cheredeev AN. *Quantitative and functional assessment of T- and B-systems of human immunity. General questions*. Moscow, VINITI, 1976; 4: 126–160. (in Russian)
- Dubina IN. Cysticercosis pisiform in rabbits (epizootology, pathogenesis, symptoms and control measures). Author. diss. ... cand. vet. sciences: 03.00.19. Vitebsk, 2002: 24 p. (in Russian)
- Dubina IN. Pathological changes in cysticercosis pisiform in rabbits. *Actual problems of pathology of farm animals: materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 70th anniversary of the establishment of BelNIIEV named after S. N. Vyshesleskiy, Minsk, October 5–6, 2000*. Academy of Agrarian Sciences of the Republic of Belarus, Belarusian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine. S. N. Vyshesleskiy. Minsk, Khata, 2000: 366–368. (in Russian)
- Dubina IN. *Pisiformis cysticercosis* of rabbits (epizootology, pathogenesis, symptomatology and measures of struggle). Extended abstract of candidate's thesis, Vitebsk, 2002: 15 p. (in Russian)
- Dubina IN. Some questions of the pathogenesis of pisiform cysticercosis. *Agricultural biotechnology: materials of the II International scientific-practical conference*. Gorki, 2002: 380–382. (in Russian)
- Dubina IN, Karasyov NF. Scheme of the main links of the pathogenesis of cysticercosis of serous integuments. *Epidemiology, diagnosis, treatment and prevention of parasitic human diseases: proceedings of the III International Scientific and Practical Conference*. Vitebsk State Medical University, 2002: 146–148. (in Russian)
- Dubina IN, Subbotin AM. Epizootology of Taenia pisiformis and its larval stage *Cysticercosis pisiformis*. *Maintain Academy of Agrarian Sciences of Belarus*, 2000; 1: 71–74. (in Russian)
- Duda YV, Kuneva LV, Shevchik RS. Effect of *Treponema cuniculi* on protein metabolism of rabbits. *1st International gap agriculture and livestock congress* (Turkey). 2018: 439.
- Eltohamy MM, Eldeghedy N. Biochemical and physiological changes in the rabbits due to coccidial infection. *Indian J. Anim. Sc.* 1985; 55 (6): 395–397.
- Georgieva TM, Georgiev IP, Iliev Y, Petrov VS, Vachkov A, Kanelov I, Zapryanova D, Pavlova AI, Eckersall D. Blood serum concentrations of total proteins and main protein fractions in weaning rabbits experimentally infected with *E. coli*. *Rev. Méd. Vét.* 2008; 159: 431–436.
- Hozawa A, Folsom AR, Ibrahim H, Nieto FJ, Rosamond WD, Shahar E. Serum uric acid and risk of ischemic stroke: the ARIC study. *Atherosclerosis*. 2006; 187 (2): 401–407. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.09.020.
- Jori MM. The effect of *Cysticercus pisiformis* on the haematological and biochemical parameters of rabbits in Basrah province. *LSA*. 2016; 2 (2): 458–463. Available at: <http://www.jpsscscientificpublications.com/jpsadmin/uploads/attachments/9287106949ac2ebb789dea8eb4ad0c5.pdf>
- Kondrahin IP, Kurilov NV, Malahov AG. *Clinical laboratory diagnostics in the sphere of veterinary medicine. A reference book*. Moscow, Agropromizdat, 1985: 287 p. (in Russian)
- Kornienko LE, Dombrovsky OB, Ponomar SI, Antipov AA. *Infectious and invasive rabbit diseases*. Bila Tserkva, 2003: 288 p. (in Ukrainian)
- Kotsiubenko GA. *Scientific and practical methods for raising the productivity of rabbits*. Mykolaiv, MNAU, 2013: 191 p. (in Ukrainian)
- Lucin IS. *Theoretical bases and practical substantiation of the technology of intensive production of rabbit meat*. Autoref. of PhD thesis in agric. sci., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2017: 40 p. (in Ukrainian)
- Lymphocytes: methods*. A reference book. Ed. by. Dzh. Klaus. Moscow, Mir, 1990: 393 p. (in Russian)
- Mazzone G, Vignola G, Giammarco M, Manetta AC, Lambertini L. Effects of loading methods on rabbit welfare and meat quality. *Meat Sci.* 2010; 85 (1): 33–39. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.11.019.
- McSorley HJ, Blair NF, Smith KA, McKenzie ANJ, Maizels RM. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. *Mucosal Immunol.* 2014; 7: 1068–1078. DOI: 10.1038/mi.2013.123.
- Melillo A. Rabbit clinical pathology. *J. Exot. Pet. Med.* 2007; 16 (3): 135–145. DOI: 10.1053/j.jepm.2007.06.002.
- Nowacki FC, Swain MT, Klychnikov OI, Niazi U, Ivens A, Quintana JF, Hensbergen PJ, Hokke CH, Buck AH, Hoffmann KF. Protein and small non-coding RNA-enriched extracellular vesicles are released by the pathogenic blood fluke *Schistosoma mansoni*. *J. Extracell Vesicles*. 2015; 4 (1): 28665. DOI: 10.3402/jev.v4.28665.
- Osman AMA. Effect of reducing feeding time on the growth performance, carcass traits and meat quality of growing rabbits. *Arch. Geflügelk.* 1991; 55 (5): 196–200. Available at: <https://www.european-poultry-science.com/Effect-of-reducing-feeding-time-on-the-growth-performance-carcass-traits-and-meat-quality-of-growing-rabbits,QUIEPTU0OTAxNzgmTUIEPT2MTAxNA.html>
- Popov B, Dobрева Z, Georgieva S, Stanilova S. Enhancement of anti-KLH IgG antibody production in rabbits after treatment with *Haberlea rhodopensis* extract. *Trakia J. Sci.* 2010; 8 (2): 92–97. Available at: <http://www.uni-sz.bg/tsj/vol8,Suppl.2,2010/B.Popov.pdf>
- Roche M, Rondeau P, Singh RN, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*. 2008; 582 (13): 1783–1787. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.04.057.
- Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125 (2): S41–S52. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.046.
- Shendrik LI, Korolenko LS, Shulga OV, Matsenko OO. *Immune-molecular technologies in the diagnosis of invasive animal diseases*. Dnipropetrovsk, DDAU, 2003: 32 p. (in Ukrainian)

28. Sitaylo SG, Elchaninova TI, Vasilenko YI. Modern methods of assessing the immune status, Kryvyi Rig, 2000: 40 p. (in Ukrainian)
29. Stibel VV, Priyma OB, Ponomar SI. The study of the number of T- and B-lymphocytes for the action of invasion *Toxocara canis*. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 2014; 16 (3, 1): 330–334. (in Ukrainian)
30. Van Leuven F. Human α_2 -macroglobulin: structure and function. *Trends. Biochem. Sci.* 1982; 7 (5): 185–187. DOI: 10.1016/0968-0004(82)90135-9.
31. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory methods of research in biology, livestock and veterinary medicine*. A reference book. Ed. by V. V. Vlizlo. Lviv, Spolom, 2012: 764 p. (in Ukrainian)
32. Wang LQ, Liu TL, Liang PH, Zhang SH, Li TS, Li YP, Liu GX, Mao L, Luo XN. Characterization of exosome-like vesicles derived from *Taenia pisiformis cysticercus* and their immunoregulatory role on macrophages. *Parasit. Vect.* 2020; 13: 318. DOI: 10.1186/s13071-020-04186-z.

The effect of cysticercosis invasion on the protein metabolism and cellular immunity of rabbits

Y. V. Duda

dudajulia1976@gmail.com

Dnipro State Agrarian and Economic University,
25 S. Efremov str., Dnipro, 49009, Ukraine

The composition of blood proteins depends on the functional state of animals, as well as on various pathologies. The goal of the work was to establish the effect of cysticercosis invasion on the protein metabolism and cellular immunity of rabbits. Rabbits were divided into two groups after visual identification of the larval cysts presence: healthy (control) and diseased (experimental). Biochemical blood tests were performed using reagent sets produced by "Filisit-Diagnostika" (Ukraine). Spontaneous cysticercosis invasion of male rabbits caused changes in protein metabolism. The content of total protein in infected animals was higher by 8.79% ($P < 0.05$) than in control. The increase in the total protein content was due to the globulin fraction, which was 1.50 times ($P < 0.05$) higher in affected animals than in healthy rabbits. This rise occurred as a result of a high content of γ -globulins, both in absolute value by 1.69 times ($P < 0.05$), and in percentage by 1.51 times ($P < 0.05$). The albumins, which are completely synthesized by liver, were lower by 10.08% ($P < 0.05$) in rabbits with cysticercosis. The protein coefficient of experimental animals was lower by 43.89% ($P < 0.05$) compared with the control. The concentration of uric acid in diseased rabbits was lower by 34.09% ($P < 0.05$) than in healthy ones. We have observed a high number of T-, B-lymphocytes and T-helper cells, especially the last two indicators, which increased respectively 1.54 times ($P < 0.01$) and 1.36 times ($P < 0.05$) against the background of a low number of T-suppressors and O-lymphocytes — almost 5 times ($P < 0.001$) in affected animals than in healthy rabbits. In our opinion, such changes in the proteinogram and cellular immunity indicate the intensification of immune reactions in the body of rabbits infected with the *Cysticercus pisiformis* as a result of inflammatory processes that occur in the liver under the action of a mechanical, toxic effect of the helminths.

Key words: cysticercosis invasion, protein metabolism, *Cysticercus pisiformis*, albumins, globulin fractions, rabbits



Показники імунореактивності у щурів за умов різних режимів харчування

О. М. Волощук, Т. В. Лучик, Г. П. Копильчук

o.voloschuk@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58002, Україна

Досліджені інтегральні гематологічні показники як маркери імунореактивності та фагоцитарна активність нейтрофілів у тварин за умов нутрієнтного дисбалансу. Дослідження проводили на чотирьох групах тварин: I — інтактні тварини (К); II — щури, які впродовж 28 днів перебували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті (НПР); III — щури на високосахарозному раціоні (ВС); IV — щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон (НПР/ВС). Встановлено, що для тварин, яких утримували за умов аліментарного дефіциту протеїну, характерне зниження індексу імунореактивності та підвищення індексу співвідношення нейтрофілів і лейкоцитів за відсутності змін індексу зсуву лейкоцитів крові та фагоцитарної активності нейтрофілів. Водночас для тварин вказаної експериментальної групи характерна компенсація ендотоксикозу та зниження індексу адаптації, що вказує на сповільнення адаптивних механізмів. Аналогічні зміни досліджуваних інтегральних гематологічних індексів характерні для тварин, яких утримували за умов раціону ВС. Показано, що для тварин, які споживали раціон НПР/ВС, характерна низька імунологічна реактивність, про що свідчить зниження індексу імунореактивності у 3,4 раза та підвищення індексу зсуву лейкоцитів крові в 1,5 раза, підвищення індексу співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів та вірогідне зниження фагоцитарного індексу, що вказує на неефективність імунних реакцій за участі нейтрофілів. Водночас виявлено напруження адаптивних механізмів на тлі підвищення індексу реактивної відповіді нейтрофілів утричі, що є маркером стадії субкомпенсації ендотоксикозу. Отже, досліджувані інтегральні гематологічні показники можуть бути використані як додаткові ранні діагностичні маркери порушення імунореактивності та ендотоксикозу у тварин за умов різної забезпеченості раціону харчовим протеїном і сахарозою.

Ключові слова: імунореактивність, інтегральні гематологічні індекси, фагоцитарна активність, низькопротеїновий раціон, високосахарозна дієта

Питання аліментарно-обумовлених порушень імунітету на сьогодні залишається актуальним [7]. Відомо, що збалансоване надходження нутрієнтів є важливим фактором нормального розвитку та функціонування імунної системи: підтримання цілісності шкіри та слизових оболонок, забезпечення роботи клітин, задіяних у специфічному та неспецифічному захисті. Достатнє надходження усіх нутрієнтів є необхідною умовою для правильної диференціації Т- і В-лімфоцитів, формування рецепторів, вироблення антитіл та лімфокінів [5]. Загалом харчування разом зі спадковістю виокремлюють як головний фактор у формуванні імунного статусу [8]. Активно вивчають взаємозв'язок між імунореактивністю організму та харчуванням [15], оскільки знання

механізмів порушення імунної відповіді за таких умов дозволить визначити можливі причини імунодефіцитних станів, виявити адаптаційні резерви організму та розробити профілактичні заходи щодо запобігання розвитку імунної недостатності.

Для оцінки стану імунної системи організму, що відображає перебіг патологічного процесу, використовують інтегральні лейкоцитарні індекси, в яких використані параметри лейкоцитарної формули. За зміною лейкоцитарних індексів можна робити висновки щодо вираженості запального процесу, ступеня тяжкості захворювання і загального стану імунної системи [10]. Окрім того, використання комплексу гематологічних індексів дозволяє оцінити загальний стан адаптаційного потенціалу, ступінь ендотоксикозу та імуно-

реактивність організму [6]. Одним із основних критеріїв оцінки імунного стану також вважають активність фагоцитозу, оскільки цей процес є фундаментальною складовою імунного захисту організму [4]. За патологічних станів, які призводять до порушення імунітету, спостерігається зниження фагоцитарної здатності мононуклеарних фагоцитів і гранулоцитів.

Оскільки питання особливостей імунореактивності організму за умови дефіциту або надлишку окремих нутрієнтів у харчовому раціоні залишається відкритим, то метою роботи стало дослідження інтегральних гематологічних показників як маркерів імунореактивності у тварин за умови нутрієнтного дисбалансу.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах віком 2–2,5 місяця, масою 100–120 г. Всі маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до вимог міжнародної конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей.

Згідно з моделлю дослідження, тварин розділили на чотири групи по дев'ять особин у кожній: I група — інтактні тварини (К); II група — щури, які протягом 28 діб перебували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті (НПР); III група — щури, які перебували на високосахарозному раціоні (ВС); IV група — щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон (НПР/ВС).

Тварини I групи отримували раціон, який містив 14% протеїну (у вигляді казеїну), 10% жирів, 76% вуглеводів, збалансований за всіма нутрієнтами. Тварини II групи отримували ізоенергетичний раціон, який містив 4,7% протеїну, 10% жирів та 85,3% вуглеводів, розрахований згідно з рекомендаціями *American Institute of Nutrition* [13]. Тварини III групи отримували високосахарозний раціон, який містив 40% сахарози і був збалансованим за всіма іншими нутрієнтами. Тварини IV групи отримували раціон з вмістом 1/3 добової потреби білка, який становив 4,7% дієти, і 40% сахарози та був збалансований за кількістю інших нутрієнтів [17]. Щурів утримували по одному в пластикових клітках із піщаною підстилкою, доступ до води *ad libitum*. Цервікальну дислокацію тварин здійснювали під легким ефірним наркозом на 29-у добу експерименту.

Приготування мазків крові, їхню фіксацію та фарбування проводили загальноприйнятим методом. Підрахунок співвідношення різних видів лейкоцитів у зафарбованих мазках крові проводили стандартним методом за допомогою лейкоцитарного лічильника та мікроскопа (окуляр $\times 7$, об'єктив $\times 90$), попередньо нанісши на скло краплю імерсійної олії. Фагоцитарний індекс визначали за кількістю нейтрофілів, які беруть участь у фагоцитозі *Sacharomyces cerevisiae* [3].

Індекс імунореактивності (ІІР) розраховували за формулою:

$$\text{ІІР} = \frac{\text{Л} + \text{Е}}{\text{М}},$$

де Л — кількість лімфоцитів, %;
Е — кількість еозинофілів, %;
М — кількість моноцитів, %.

Індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК) розраховували за формулою:

$$\text{ІЗЛК} = \frac{\text{Е} + \text{Б} + \Sigma\text{Н}}{\text{М} + \text{Л}},$$

де Е — кількість еозинофілів, %;
Б — кількість базофілів, %;
 $\Sigma\text{Н}$ — сума нейтрофілів крові, %;
М — кількість моноцитів, %;
Л — кількість лімфоцитів, %.

Індекс співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів (ІСНЛ) розраховували за формулою:

$$\text{ІСНЛ} = \frac{\text{П} + \text{С}}{\text{Л}},$$

де П — кількість паличкоядерних нейтрофілів, %;
С — кількість сегментоядерних нейтрофілів, %;
Л — кількість лімфоцитів, %.

Індекс адаптації за Гаркаві (СПНР) розраховували за формулою:

$$\text{СПНР} = \frac{\text{Л}}{\text{С}},$$

де Л — кількість лімфоцитів, %;
С — кількість сегментоядерних нейтрофілів, %.

Індекс реактивної відповіді нейтрофілів за Т. Ш. Хабіровим (РВН) розраховували за формулою:

$$\text{РВН} = \frac{\text{П} \times \text{С}}{(\text{Л} + \text{М}) \times \text{Е}},$$

де П — кількість паличкоядерних нейтрофілів, %;
С — кількість сегментоядерних нейтрофілів, %;
Л — кількість лімфоцитів, %;
М — кількість моноцитів, %;
Е — кількість еозинофілів, % [12, 14].

Статистичну обробку одержаних даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми *Microsoft Excel*. Результати представляли як середнє значення 9 незалежних визначень \pm похибка середнього. Статистичну значимість різниці середніх показників

оцінювали, використовуючи стандартний *t*-критерій Стьюдента.

Результати й обговорення

Результати проведених досліджень показали вірогідне зниження у всіх дослідних групах тварин індексу імунореактивності, який є маркером активності клітин, що продукують цитокіни, та дисбалансу у цитокіновому профілі. У тварин, яких утримували на низькопротеїновому або високосахарозному раціоні, індекс імунореактивності знижується практично вдвічі (рис. 1). Проте максимальне зниження індексу імунореактивності виявлено у тварин, які споживали низькопротеїновий/високосахарозний раціон — у 3,4 раза порівняно з показниками контрольної групи тварин. Отримані результати вказують на низьку імунологічну реактивність організму тварин та дефіцит протизапальних цитокінів, що, ймовірно, може бути пов'язане зі зниженням вмісту лімфоцитів як імунокомпетентних клітин і вказує на несприятливу динаміку імунних реакцій, оскільки наслідком встановлених змін буде порушення адекватної імунної відповіді. Окрім того, прогресивне зниження кількості лімфоцитів свідчить про розвиток і посилення стресорних реакцій [9].

Водночас про порушення імунологічної реактивності у тварин, яких утримували на НПР/ВС раціоні, може свідчити встановлене у наших дослідженнях значне підвищення індексу зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК). Аналіз результатів досліджень показав, що індекс зсуву лейкоцитів крові у тварин вказаної експериментальної групи підвищується в 1,5 раза порівняно з контролем (рис. 2). Встановлені зміни пов'язані з підвищенням вмісту в крові сегментоядерних та паличкоядерних нейтрофілів та зниженням кількості еозинофілів. Підвищення ІЗЛК свідчить про активний запальний процес та порушення імунологічної реактивності у тварин, утримуваних за умов нутрієнтного дисбалансу. Отже, одночасне зниження ІІР та підвищення ІЗЛК свідчать про порушення балансу між гуморальною та клітинною ланками імунної відповіді. Слід зазначити, що у тварин, яких утримували на низькопротеїновому або високосахарозному раціоні, вірогідних змін індексу зсуву лейкоцитів крові не виявлено, що вказує на відсутність вираженого запального процесу.

Водночас результати проведених досліджень показали, що у тварин, яких утримували за умов аліментарної депривації протеїну або надлишкового уживання сахарози, спостерігали вірогідне підвищення індексу співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (ІСНЛ), при цьому максимально виражене підвищення досліджуваного показника — в 1,7 раза — характерне для тварин, які споживали НПР/ВС раціон (рис. 3). Виявлені зміни, ймовірно, можуть свідчити про порушення механізмів гуморальної імунної від-

повіді у тварин, утримуваних за умов нутрієнтного дисбалансу, на тлі підвищення вмісту клітин неспецифічного імунного захисту. Це може свідчити про високий рівень ендогенної інтоксикації [2]. Такі зміни можуть супроводжуватися порушеннями в утворенні клітин пам'яті, що, у свою чергу, зумовить формування системних порушень в імунному захисті.

Проте підвищення кількості нейтрофілів не обов'язково вказує на активацію неспецифічних захисних механізмів. Одним із основних критеріїв ефективності імунного нагляду вважається фагоцитарна активність нейтрофілів. Фагоцитарна ланка системи імунітету — невід'ємний елемент оцінки імунного статусу, що змінюється за багатьох патологічних станів [1]. Нині оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів крові як основної ланки фагоцитарної системи організму є цінним діагностичним критерієм як у лабораторно-клінічній практиці, так і за масового імунологічного скринінгу.

Порушення фагоцитарних функцій суттєвим чином послаблює всю систему захисних механізмів. Оцінку активності професійних фагоцитів — нейтрофілів та їхньої здатності поглинати інфекційні фактори визначають за фагоцитарним індексом (ФІ, %), тобто кількістю нейтрофілів, які беруть участь у фагоцитозі. ФІ відображає саме кількість активних нейтрофілів, здатних поглинати ту чи іншу тестову мікробну культуру [16]. Результати проведених досліджень показали, що у тварин, утримуваних на НПР/ВС раціоні, спостерігається вірогідне зниження фагоцитарного індексу (рис. 4), що вказує на неефективність імунних реакцій за участі нейтрофілів.

Оскільки фагоцитарна активність нейтрофілів вважається фундаментальною складовою імунного захисту організму та є одним з критеріїв оцінки стану імунної системи, то виявлене нами зниження фагоцитарного індексу у тварин, яких утримували за умови нутрієнтного дисбалансу, вказує на зниження ефективності неспецифічних захисних механізмів, незважаючи на компенсаторне підвищення загальної кількості нейтрофілів. Наслідком встановлених змін може стати порушення адаптаційних можливостей організму. Відомо, що причиною зміни співвідношення лейкоцитів є загальна мобілізація захисних механізмів організму, що використовується для оцінки неспецифічної реакції адаптації. Адаптаційний показник визначають методом, розробленим Л. Х. Гаркаві зі співавт. (1990), розрахунком індексу адаптації, який відображає співвідношення кількості лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів.

Результати досліджень показали, що у тварин усіх дослідних груп відбулося зниження індексу адаптації, проте максимального зниження досліджуваного показника досягав у тварин, утримуваних на НПР/ВС раціоні (рис. 5). Отримані дані свідчать про напруження механізмів, які беруть участь у формуванні адаптаційної відповіді. Відомо, що підвищення індексу адаптації вказує на активацію адаптивних меха-

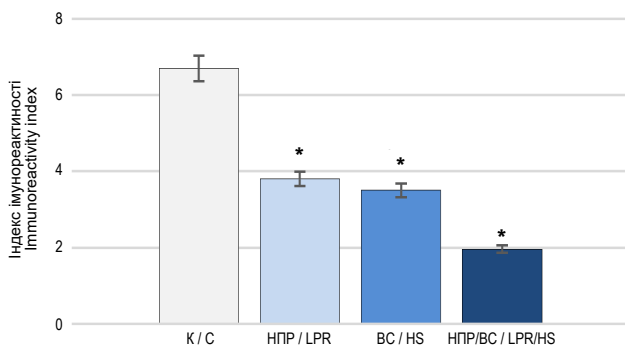


Рис. 1. Значення індексу імунореактивності (IIP) у щурів за умов різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 1. The value of the immunoreactivity index in rats under conditions of different dietary supply of sucrose and protein

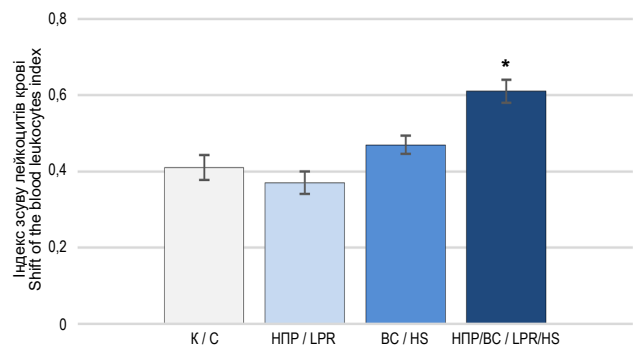


Рис. 2. Значення індексу зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК) у щурів за умов різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 2. The value of the shift of the blood leukocytes index in rats under different dietary supply of sucrose and protein

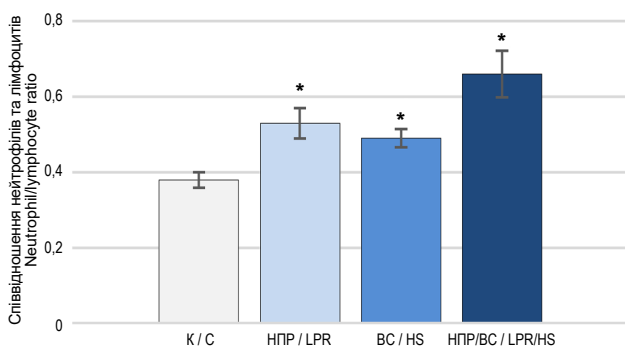


Рис. 3. Значення індексу співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів (ІСНЛ) у щурів за умови різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 3. The value of the neutrophil/lymphocyte ratio in rats under different dietary supply of sucrose and protein

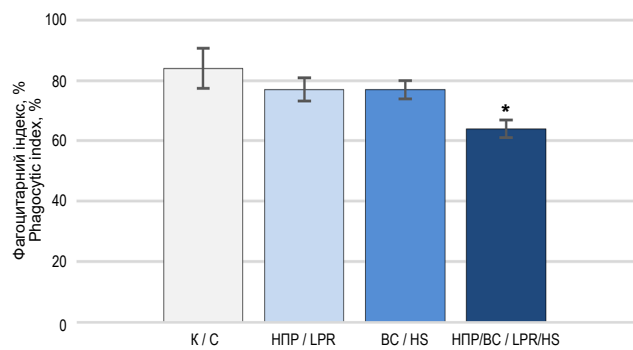


Рис. 4. Значення фагоцитарного індексу у щурів за умови різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 4. The value of phagocytic index in rats under different dietary supply of sucrose and protein

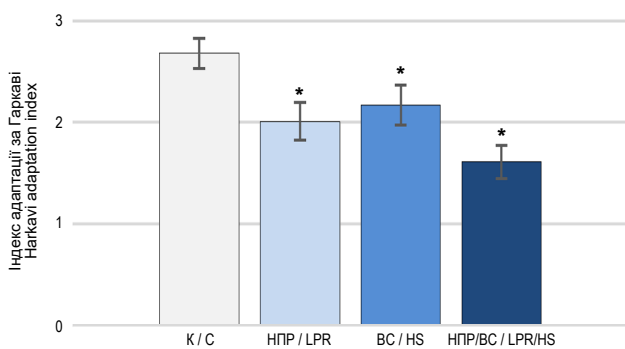


Рис. 5. Значення індексу адаптації за Гаркаві у щурів за умови різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 5. The value of the Harkavi adaptation index in rats under different dietary supply of sucrose and protein

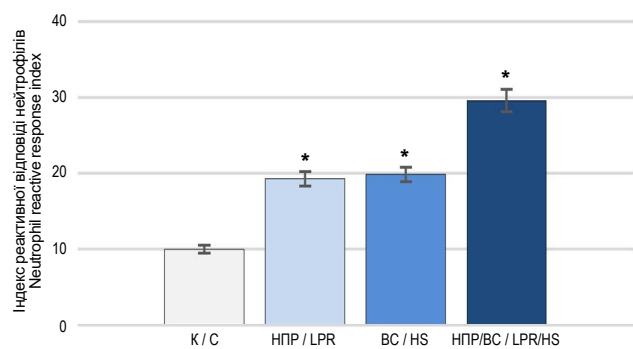


Рис. 6. Значення індексу реактивної відповіді нейтрофілів (ІРВН) за Т. Ш. Хабировим у щурів за умов різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 6. The value of the neutrophil reactive response index according to T. Sh. Khabirov in rats under different dietary supply of sucrose and protein

Примітка. К — тварини, які отримували повноцінний напівсинтетичний раціон (контроль); НПП — тварини, які перебували на низькопротеїновій дієті; ВС — щури, які перебували на високосахарозному раціоні; НПП/ВС — щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон. * — P≤0,05 — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем.

Note. C — animals receiving full-value semi-synthetic ration (control group); LPR — animals receiving low-protein ration; HS — animals receiving high-sucrose diet; LPR/HS — animals receiving low-protein/high-sucrose diet. * — P≤0.05 — significantly different from the control.

нізмів, тоді як зниження цього показника свідчить про формування стресу та зниження адаптаційної здатності організму. Отже, зниження індексу адаптації свідчить про сповільнення активності реакцій імунної системи на подразники, що може призвести до системних порушень в імунитеті та знизити стійкість організму до стресових факторів [11]. Встановлені зміни імунореактивності організму тварин за умов нутрієнтного дисбалансу можуть супроводжуватися формуванням стану ендогенної інтоксикації.

Для підтвердження цього припущення було розраховано за Т. Ш. Хабіровим індекс реактивної відповіді нейтрофілів, який на сьогодні розглядають як доступний, достатньо інформативний та чутливий показник ендогенної інтоксикації [12]. Встановлене нами підвищення удвічі порівняно з контролем індексу реактивної відповіді нейтрофілів у тварин за аліментарної депривації протеїну або надлишкового вживання сахарози (рис. 6) вказує на стадію компенсації ендотоксикозу, коли системи виведення або нейтралізації можуть впоратися зі зростанням концентрацій метаболітів, які підлягають виведенню. Водночас для тварин, утримуваних на НПР/ВС раціоні, характерне підвищення індексу реактивної відповіді нейтрофілів утричі (рис. 6), що вказує на стадію субкомпенсації ендотоксикозу, тобто швидкість продукування ендотоксинів за досліджуваних експериментальних умов уже перевищує максимальну швидкість їх виведення і концентрація токсинів у крові збільшується.

Отже, інтегральні гематологічні показники можуть бути використані як додаткові ранні діагностичні маркери порушення імунореактивності та ендотоксикозу у тварин за умов різної забезпеченості раціону харчовим протеїном та сахарозою.

Висновки

1. Для тварин, яких утримували за умови аліментарного дефіциту протеїну, характерне зниження індексу імунореактивності та підвищення індексу співвідношення нейтрофілів і лейкоцитів за відсутності змін індексу зсуву лейкоцитів крові та фагоцитарної активності нейтрофілів. Водночас для них характерна компенсація ендотоксикозу і зниження індексу адаптації, що вказує на сповільнення адаптивних механізмів. Аналогічні зміни досліджуваних інтегральних гематологічних індексів характерні для тварин, яких утримували на високосахарозному раціоні.

2. Для тварин, які споживали низькопротеїновий/високосахарозний раціон, характерна низька імунологічна реактивність, на що вказує зниження індексу імунореактивності в 3,4 раза та підвищення індексу зсуву лейкоцитів крові в 1,5 раза, підвищення індексу співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів та вірогідне зниження фагоцитарного індексу, що вказує на неефективність імунних реакцій за участі

нейтрофілів. Водночас виявлено напруження адаптивних механізмів на тлі підвищення індексу реактивної відповіді нейтрофілів утричі, що є маркером стадії субкомпенсації ендотоксикозу.

3. Досліджувані інтегральні гематологічні показники можуть бути використані як додаткові ранні діагностичні маркери порушення імунореактивності та ендотоксикозу у тварин за умови різної забезпеченості раціону харчовим протеїном та сахарозою.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати відкривають перспективи для розробки стратегії корекції порушень імунореактивності у тварин з нутрієнтним дисбалансом.

1. Adams DH, Ju C, Ramaiah SK, Uetrecht J, Jaeschke H. Mechanisms of immune-mediated liver injury. *Toxicol. Sci.* 2010; 115 (2): 307–321. DOI: 10.1093/toxsci/kfq009.
2. Akimova V, Lapovets L. The adaptation reactions and integral hematological indexes of nonspecific immunity in acute and chronic inflammation of the abdominal cavity. *Bulletin Probl. Biol. Med.* 2015; 1 (122): 79–82. (in Ukrainian)
3. Baskic D, Acimovic L, Djukic A, Djurdjevic P, Popovic S, Milicic B, Labovic I, Arsenijevic NN. Phagocytic activity and nitric oxide production of circulating polymorphonuclear leukocytes from patients with peritoneal carcinomatosis. *Acta Oncologica.* 2003; 42 (8): 846–851. DOI: 10.1080/02841860310011087.
4. Dewangan G, Hirpurkar SD, Giri DK, Kashyap DK. Assessment of innate immunity by phagocytic activity in non-descript and sahiwal cattle in Chhattisgarh. *Vet. World.* 2014; 7 (11): 943–947. DOI: 10.14202/vetworld.2014.943-947.
5. Ganten D, Ruckpaul K. *Immunsystem und Infektiologie.* Berlin, Heidelberg: Springer, 2013. 428 p. ISBN 978-3-662-07865-5. (in German)
6. Gerasymchuk MR. The role of leukocytes and their indexes in the evaluation of endogenous intoxication at an experimental abdominal pathology. *Bull. Vinnytsia Nat. Med. University.* 2014; 18 (2): 350–353. Available at: https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/vnmu/visn_univ_2014-2.pdf (in Ukrainian)
7. Ibrahim KS, El-Sayed EM. Potential role of nutrients on immunity. *Internat. Food Res. J.* 2016; 23 (2): 464–474. Available at: [http://ifrrj.upm.edu.my/23%20\(02\)%202016/\(3\).pdf](http://ifrrj.upm.edu.my/23%20(02)%202016/(3).pdf)
8. Ingvarsen KL, Moyes K. Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Anim. Conserv.* 2013; 7 (1): 112–122. DOI: 10.1017/S175173111200170X.
9. Levchenko KF, Kyvshunov DY. Adaptive potential at patients of breast cancer and the possibility of its assessment. *NNU Bulletin. Series: Biology, clinical medicine.* 2009; 1: 103–106. (in Russian)
10. Matolych UD. Diagnostic value indices of hematological indexes at phlegmons of maxillofacial area and neck. *Sci. Bull. Uzhhorod Univer., Series "Medicine".* 2016; 1 (53):108–110. Available at: <https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/handle/lib/17177> (in Ukrainian)
11. Radsikhovskii N, Goralskii L, Borissevich B, Dyshkant O. Integral indexes of intoxication in caninae coronaviridae enteritis. *Sci. Bull. Vet. Med.* 2018; 2: 13–19. DOI: 10.33245/2310-4902-2018-144-2-13-19. (in Ukrainian)
12. Raznatovska EN. Integral indices of endogenous intoxication in patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci. Pract.* 2012; 2 (9): 119–120. Available at: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/5383> (in Russian)
13. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutri-

- tion *ad hoc* writing committee on the reformulation of the AIN-76a rodent diet. *J. Nutr.* 1993; 123 (11): 1939–1951. DOI: 10.1093/jn/123.11.1939.
14. Romavova EB, Shapovalova KV, Ryabinina ES, Gelashvili DB. Leukocytic indices and micronucleus in erythrocytes as population markers of the immune status of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (*Amphibia: Ranidae*) living in various biotopic conditions. *Povolzhskiy J. Ecol.* 2018; 1: 60–75. DOI: 10.18500/1684-7318-2018-1-60-75. (in Russian)
 15. Saeed F, Nadeem M, Ahmed RS, Nadeem MT, Arshad MS, Ullah A. Studying the impact of nutritional immunology underlying the modulation of immune responses by nutritional compounds. *Food Agricult. Immunol.* 2016; 27 (2): 205–229. DOI: 10.1080/09540105.2015.1079600.
 16. Tatarczuch L, Bischof RJ, Philip CJ, Lee CS. Phagocytic capacity of leucocytes in sheep mammary secretions following weaning. *J Anat.* 2002; 201 (5): 351–361. DOI: 10.1046/j.0021-8782.2002.00104.x.
 17. Voloshchuk ON, Kopylchuk GP, Holinei TY. Biochemical markers of the functional state of liver in rats fed diets with different protein and sucrose content. *Probl. Nutr.* 2019; 88 (6): 61–67. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10065. (in Russian)

Indicators of immunoreactivity in rats under conditions of different nutrition regimen

O. M. Voloshchuk, T. V. Luchyk, G. P. Kopylchuk
o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Chernivtsi national university named by Yurii Fedkovych, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources,
2 Kotsyubinskogo str., Chernivtsi, 58002, Ukraine

The research deals with the integral haematological indices such as markers of immunoreactivity and phagocytic activity of neutrophils in animals kept in conditions of a nutrient imbalance. The animals were divided into four experimental groups: I — animals receiving full-value semi-synthetic ration (control group); II — animals receiving low-protein ration (LPR); III — animals receiving high-sucrose diet (HS); IV — animals receiving low-protein/high-sucrose diet (LPR/HS). It has been found that in animals kept in conditions of nutritional protein deficiency there was a disturbance of the specific immune response, as evidenced by a decrease in the immunoreactivity index and an increase in the index of neutrophils and leukocytes ratio. At the same time, no significant changes in the index of blood leukocytes shift and phagocytic activity of neutrophils were found, indicating the preservation of the non-specific immune response activity. However, in animals of this experimental group compensation of endotoxemia and a decrease in the adaptation index were observed, indicating an inhibition of the adaptive mechanisms. Similar changes in the integral haematological indices were observed in animals kept on a high-sucrose ration. It has been shown that animals consuming a low protein/high-sucrose ration have low immunological reactivity, as evidenced by a 3.4-fold decrease in the immunoreactivity index and a 1.5-fold increase in the blood leukocyte shift index, and disturbances in specific immune response (marker is an increase in the neutrophils and lymphocytes ratio), as well as a significant decrease in the phagocytic index, indicating the ineffectiveness of immune reactions involving neutrophils. At the same time, the intensification of the adaptive mechanisms and a three-fold increase in the reactive neutrophil response index indicates the subcompensation stage of endotoxemia. It is concluded that studied integral haematological parameters can be used as additional early diagnostic markers of impaired immunoreactivity and endotoxemia in animals kept in conditions of different protein and sucrose content in the diet.

Key words: immunoreactivity, integral hematological indices, phagocytary activity, low protein diet, high-sucrose diet



Дія L-глутамінової кислоти на зміни біохімічних показників щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном

Н. О. Салига

ynosyt@yahoo.com

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Наведено результати досліджень впливу введення L-глутамінової кислоти (L-Glu) на динаміку окремих біохімічних показників організму щурів за їх інтоксикації тетрахлорметаном (CCl₄). У тканинах і крові щурів досліджували зміни активностей аланін- та аспартат-амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ). У крові дослідних тварин також визначали концентрації креатиніну, триацилгліцеролу та холестеролу. Внутрішньоочеревинне введення щурам дослідних груп CCl₄ призвело до змін у крові тварин досліджуваних показників — підвищення активностей амінотрансфераз, триацилгліцеролу та холестеролу. Водночас спостерігали зниження активностей АлАТ у тканинах міокарда та селезінки інтоксикованих тварин, АсАТ — у їхньому мозку, встановлено підвищення активності АлАТ у тканинах легень та підвищення активності АсАТ у тканинах селезінки. У свою чергу, за додаткового введення L-Glu тваринам, інтоксикованим тетрахлорметаном, спостерігали пом'якшення або відсутність змін більшості досліджуваних показників, а саме у крові активність АсАТ коливалася у межах контрольних значень, а концентрації триацилгліцеролу та холестеролу L-Glu не змінювались порівняно з контролем. Також за дії досліджуваної амінокислоти не було виявлено змін в активностях АлАТ у тканинах легень та АсАТ у тканинах селезінки. Отримані результати вказують на корегуючий вплив L-Glu на фізіолого-біохімічні параметри організму щурів за їх інтоксикації тетрахлорметаном.

Ключові слова: L-глутамінова кислота, щурі, кров, CCl₄, АлАТ, АсАТ

Потенційна небезпека для організму ссавців від впливу техногенних чинників зумовлена, зокрема, активацією вільнорадикальних реакцій, виникненням тканинної гіпоксії та порушенням детоксикаційної функції печінки. Тетрахлорметан (CCl₄) — токсична органічна речовина штучного походження, добре відома у науковій практиці як модельна сполука для вивчення ураження паренхіматозних клітин печінки [7, 10, 12, 13]. За структурою це хлорований вуглеводень. Механізми токсичності CCl₄ значною мірою полягають в активізації процесів пероксидного окиснення ліпідів, інтенсивного утворення вільних радикалів і, як наслідок, порушення про-/антиоксидантної рівноваги [2, 15]. Вільні радикали зв'язуються з антиоксидантними ензимами, зокрема сульфгідрильними групами GSH. Зрештою вони призводять до пошкодження клітин, виснаження клітинного АТФ, гепатотоксичних пошкоджень, порушення гомеостазу кальцію, запалення, фіброзу тощо [5, 8].

Відомо, що CCl₄ метаболізується у печінці за допомогою цитохрому P450, перетворюючись на трихлор-

метильний радикал (CCl₃) [3, 6, 21, 22]. Згодом цей радикал реагує з нуклеїновими кислотами, протеїнами та ліпідами, тим самим впливаючи на ключові клітинні процеси. Внаслідок цього порушується ліпідний обмін, що може проявлятися у формі жирової дистрофії та стеатозу, відбувається зниження кількості протеїну [14, 18].

Впродовж останніх десятиліть досягнуто значного прогресу та отримано нові дані про важливу роль глутамінової кислоти у контролі різних клітинних функцій. L-Glu відіграє центральну роль в амінокислотному обміні, бере активну участь у метаболічних та біосинтетичних шляхах усіх живих організмів [11, 19, 20, 23]. Ця амінокислота є ключовим метаболітом клітинного енергетичного обміну [1, 4, 9, 16]. L-Glu необхідна для виведення надлишку аміаку, модуляції експресії генів, імунних реакцій, регулювання рівня глюкози в крові, сигналізації клітин, видалення надлишку азоту. З іншого боку, глутамінова кислота є попередником великої кількості біологічно активних компонентів — таких, як пуринові та піримідинові нуклео-

тиди, γ -аміномасляна кислота, відновлений глутатіон. Гомеостаз відновленого глутатіону (GSH) життєво важливий для клітинного захисту від оксидативного стресу, оскільки GSH регулює окисно-відновний стан клітин і бере участь у процесі детоксикації у всіх типах клітин [11, 17]. Попри велику кількість робіт та отриманих нових даних щодо різних аспектів дії L-Glu, багато питань щодо впливу цієї амінокислоти залишаються недослідженими. Тому вивчення впливу L-Glu на організм тварин з метою пом'якшення наслідків дії CCl_4 було предметом наших досліджень.

Матеріали і методи

Дослідження було проведено на самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар масою 200–220 г. Тварин утримували в клітках за стандартизованих лабораторних умовах з 12-годинним циклом освітлення. Всім щурам було забезпечено вільний доступ (*ad libitum*) до стандартного збалансованого гранульованого корму для гризунів і води. Через 1 тиждень акліматизації щурів розподілили на три групи — дві експериментальні й одну контрольну. Тривалість періоду дослідження становила 24 год. Тваринам першої (Д1) та другої (Д2) дослідних груп внутрішньоочеревинно вводили CCl_4 в дозі 3,5 мг/кг. Після цього щурі другої дослідної групи додатково отримували внутрішньоочеревинно водний розчин L-Glu в дозі 750 мг/кг. Щурам контрольної групи вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Після закінчення експериментального періоду здійснювали евтаназію, після чого тварин декапітували. Протягом проведення усіх досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Матеріалом для досліджень були кров та тканини нирок, селезінки, мозку, печінки, легень і міокарду лабораторних щурів. У плазмі/сироватці крові визначали концентрацію загального протеїну, креатиніну, триацилгліцеролу, холестеролу, що здійснювали за допомогою біохімічного аналізатора *Humalyzer 2000*. Активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) (КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансферази (АлАТ) (КФ 2.6.1.2) у тканинах визначали уніфікованим динітрофенілгідрозинним методом Райтмана-Френкеля, застосовуючи стандартні набори реактивів фірми *Simko Ltd.* (Чехія). Цей метод базується на тому, що після додавання до сироватки крові 2,4-дифенілгідрозинового реактиву відбувається переамінування, утворення глутамінової та піровиноградної кислот (АсАТ) або глутамінової та щавлевооцтової кислот (АлАТ) і субстрат забарвлюється у відповідний колір, інтенсивність якого пропорційна активності ензиму. Інтенсивність забарвлення

субстрату визначали за допомогою спектрофотометра *Unico* (США).

Отримані експериментальні дані були проаналізовані з використанням статистичних методів ANOVA. У всіх випадках вірогідні відмінності розглядалися за значенням $P < 0,05$.

Результати й обговорення

АлАТ та АсАТ є основними ензимами, які беруть участь у протеїновому обміні. Водночас їх також вважають важливою ланкою між вуглеводневими та протеїновими обмінними процесами. Амінотрансферази каталізують взаємоперетворення амінокислот і α -кетокислот переносом аміногрупи. L-Glu посідає центральне місце у цих взаємоперетвореннях, оскільки ця амінокислота у тканинах ссавців може найшвидше піддаватися окиснювальному дезамінуванню. Про функціональний стан печінки можна судити, зокрема, за змінами активності АлАТ. Цей ензим каталізує реакцію між L-аланіном і 2-оксоглутаратом, у результаті якої вони перетворюються в L-глутамат і сіль піровиноградної кислоти.

Як видно з отриманих результатів (рис. 1), активність АлАТ у тканинах селезінки тварин Д1 була нижчою ($P \leq 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. Варто відзначити вірогідне підвищення активності цього ензиму у тканині легень тварин цієї ж дослідної групи, яка зазнала інтоксикації CCl_4 без додаткового застосування L-Glu.

АсАТ є одним з важливих маркерів функціонального стану серцевого м'яза. Як видно з результатів наших досліджень, представлених на рис. 2, активність АсАТ, яка каталізує реакцію між L-аспартатом і 2-оксоглутаратом, у результаті якої вони перетворюються в L-глутамат і оксалоацетат, також зазнала вірогідних змін у відповідь на введення досліджуваного токсиканту. Зокрема, активність АсАТ знижувалась у тканинах мозку тварин обох дослідних груп ($P \leq 0,05$). При гострих ураженнях тканин печінки АсАТ швидко зростає. Проте через 24–48 год., особливо якщо патологічний процес продовжує травмувати печінку, рівень АлАТ стає вищим, ніж АсАТ, через тривалий період його напіввиведення. Зниження активності АсАТ може бути пов'язане зокрема з дефіцитом вітаміну B_6 , який активно використовується, коли організм зазнає оксидативного стресу. Варто зауважити вірогідне зростання ($P \leq 0,05$) активності цього ензиму в тканині селезінки тварин CCl_4 -інтоксикованої групи порівняно з контролем. Підвищений рівень АсАТ за стресу може бути ознакою інтенсифікації шляхів перетворення токсичних метаболітів у циклі трикарбонних кислот. Що стосується тварин Д2, які додатково отримували L-Glu, активність АсАТ у їхніх тканинах була практично на одному рівні з контрольною групою тварин. Можна припустити, що досліджувана амінокислота допомагає згладити негативний

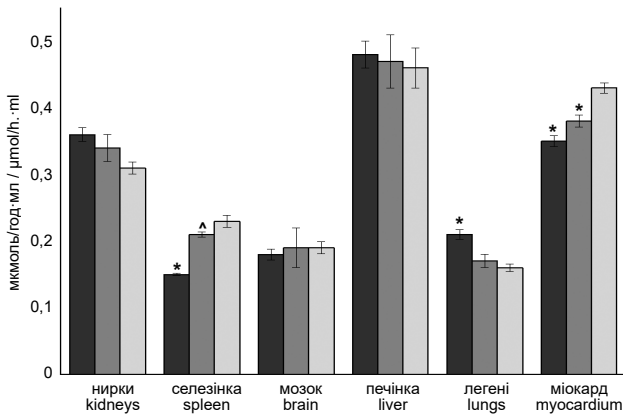


Рис. 1. Вплив L-Glu на активність АлАТ у тканинах щурів за дії CCl₄
Fig. 1 Effect of L-Glu on the ALAT activity in tissues of rats treated with CCl₄

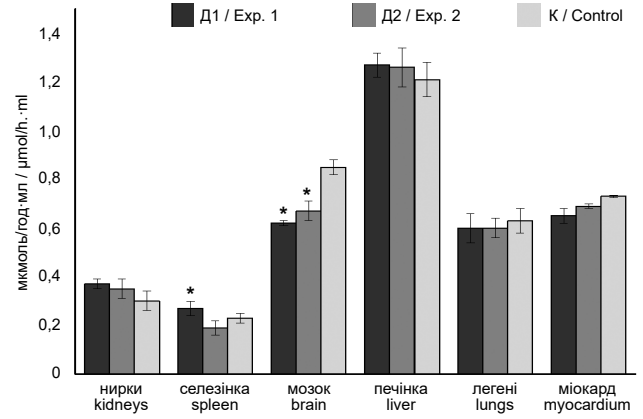


Рис. 2. Вплив L-Glu на активність АсАТ у тканинах щурів за дії CCl₄
Fig. 2 Effect of L-Glu on the ASAT activity in tissues of rats treated with CCl₄

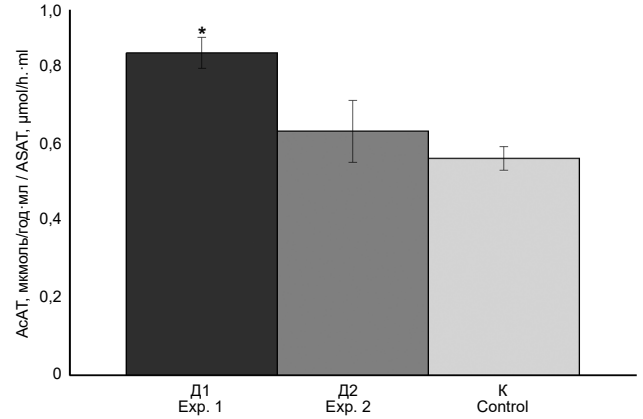
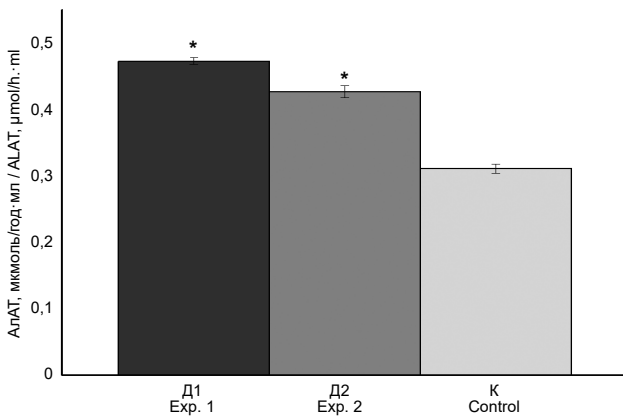


Рис. 3. Вплив L-Glu на активність АлАТ та АсАТ у крові щурів за дії CCl₄
Fig. 3 Effect of L-Glu on the ALAT and ASAT activity in the blood of rats treated with CCl₄

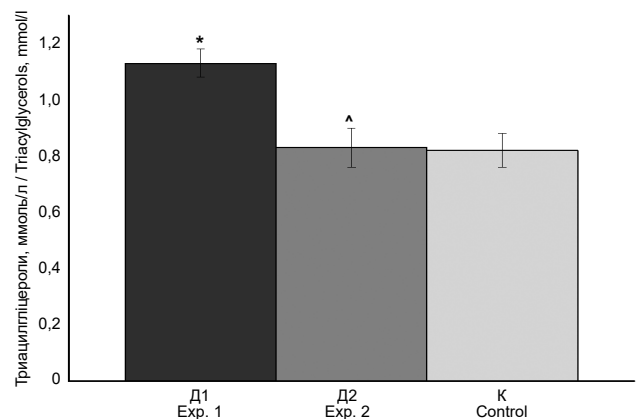
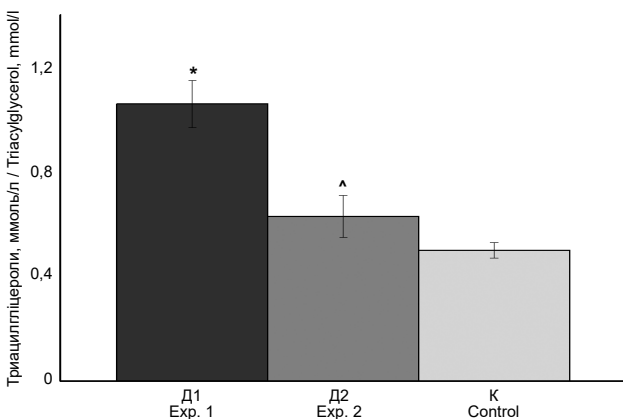


Рис. 4. Вплив L-Glu на концентрацію триацилгліцеролу та холестеролу у крові щурів за дії CCl₄
Fig. 4. Effect of L-Glu on the concentration of triacylglycerol and cholesterol in the blood of rats treated with CCl₄

Примітка. * — вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною та дослідними групами тварин (P<0,05);
 ^ — вірогідність відмінностей у значеннях показників між першою дослідною та дослідними групами тварин (P<0,05).
Note. * — significantly different from the respective control group with P<0.05;
 ^ — significantly different from the respective first experimental group with P<0.05.

вплив CCl_4 . Варто вказати на відсутність змін активностей АлАТ і АсАТ у тканинах печінки.

Було виявлено вищу активність АлАТ ($P \leq 0,05$) у крові тварин обох дослідних груп у відповідь на введення CCl_4 стосовно контролю (рис. 3). Можна припустити, що зростання активності досліджуваного ензиму може свідчити про ймовірний вихід ензимів у кров'яне русло з пошкоджених клітин тканин організму внаслідок деструктивної дії CCl_4 на фосфоліпиди клітинних мембран.

Відомо, що протеїновий обмін є інтеграційною ланкою всіх систем організму. Результати наших досліджень показали, що вміст загального протеїну у плазмі крові щурів двох дослідних груп вірогідно не змінювався у порівнянні з контролем (табл.). Концентрація креатиніну в плазмі крові є важливим показником функції нирок. Це кінцевий продукт обміну протеїнів, який виводиться з організму з сечею. Креатинін бере активну участь в енергетичному обміні м'язової та інших тканин. Як показали результати досліджень (табл.), концентрація креатиніну, подібно до загального протеїну, не зазнавала змін у дослідних групах тварин стосовно контролю.

Таблиця. Концентрація загального протеїну та креатиніну у крові щурів за дії L-Glu

Table. The concentration of total protein and creatinine in the blood of rats under the action of L-Glu

Група тварин Groups of animals	Загальний протеїн, г/л Total protein, g/l	Креатинін, мкмоль/л Creatinine, $\mu\text{mol/l}$
Д1/ Еxp. 1	55,78 \pm 2,10	70,65 \pm 2,34
Д2/ Еxp. 2	54,62 \pm 1,87	72,47 \pm 2,42
К / Control	57,45 \pm 1,37	74,05 \pm 2,92

Ліпіди є головними структурними компонентами біомембран клітин, а також виконують в організмі інші важливі функції. До нейтральних ліпідів відносять, зокрема, триацилгліцероли. Як показали результати наших досліджень (рис. 4), концентрація триацилгліцеролу у плазмі крові щурів першої дослідної групи, які зазнали інтоксикації CCl_4 була вірогідно вищою ($P \leq 0,05$) порівняно з тваринами контрольної та другої дослідної групи.

Холестерол виконує важливі структурні та регуляторні функції, входячи до складу біомембран та виступаючи попередником у синтезі фізіологічно активних сполук різних класів. Відомо, що вільний холестерол впливає на проникність мембран, забезпечує їхню ультраструктуру і функціональну активність. Збільшення кількості холестеролу (рис. 4), яке спостерігали за дії CCl_4 у тварин першої дослідної групи ($P \leq 0,05$), переважно супроводжується зниженням проникності мембрани, інгібуванням більшості ліполітичних ензимів.

Висновки

Узагальнюючи викладені вище результати, варто зазначити про виражені зміни окремих біохімічних показників у крові білих щурів за впливу інтоксикації CCl_4 . Зокрема, вірогідно зростала активність АлАТ та АсАТ, вміст триацилгліцеролів та холестеролу у крові тварин Д1 щодо контролю. Наші результати показують, що застосований ксенобіотик впливає на мозок, міокард, селезінку та легені, змінюючи у ту чи іншу сторону активність АлАТ та АсАТ порівняно з контрольною групою тварин. L-Glu проявляла пом'якшувальний ефект на досліджувані показники, наближаючи їх до рівня контрольних значень.

Перспективи подальших досліджень

Експериментальні дослідження щодо дії L-Glu розкривають перспективи подальшого вивчення впливу цієї амінокислоти на організм за дії токсичних чинників, здатних викликати оксидативний стрес.

- Albaracin SL, Baldeon ME, Sangronis E, Petruschina AC, Reyes FGR. L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions. *Arch. Latinoam. Nutr.* 2016; 66 (2): 101–112. PMID: 29737666.
- Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Faddah LM, Mohamed AM, Mohammad RA, Al-Amin M. Potential impact of silymarin in combination with chlorogenic acid and/or melatonin in combating cardiomyopathy induced by carbon tetrachloride. *Saudi J. Biol. Sci.* 2014; 21 (3): 265–274. DOI: 10.1016/j.sjbs.2013.09.006.
- Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl AZ. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Z. Naturforsch.* 2001; 56 (7–8): 649–659. DOI: 10.1515/znc-2001-7-826.
- Cynober L. Metabolism of dietary glutamate in adults. *Ann. Nutr. Metab.* 2018; 73 (5): 5–14. DOI: 10.1159/000494776.
- Deniz GY, Laloglu E, Koc K, Geyikoglu F. Hepatoprotective potential of *Ferula communis* extract for carbon tetrachloride induced hepatotoxicity and oxidative damage in rats. *Biotech Histochem.* 2019; 94 (5): 334–340. DOI: 10.1080/10520295.2019.1566831.
- Dutta S, Chakraborty AK, Dey P, Kar P, Guha P, Sen S, Kumar A, Sen A, Chaudhuri TK. Amelioration of CCl_4 induced liver injury in swiss albino mice by antioxidant rich leaf extract of *Croton bonplandianus* Baill. *PLoS One.* 2018; 3 (4): e0196411. DOI: 10.1371/journal.pone.0196411.
- Ernst L, Ziegłowski L, Schulz M, Moss M, Meyer M, Weiskirchen R, Palme R, Hamann M, Talbot SR, Tolba RH. Severity assessment in mice subjected to carbon tetrachloride. *Sci. Rep.* 2020; 10: 15790. DOI: 10.1038/s41598-020-72801-1.
- Hamed H, Gargouri M, Bellassoued K, Ghannoudi Z, Elfeki A, Gargouri A. Cardiopreventive effects of camel milk against carbon tetrachloride induced oxidative stress, biochemical and histological alterations in mice. *Arch. Physiol. Biochem.* 2018; 124 (3): 253–260. DOI: 10.1080/13813455.2017.1395889.
- Hou Y, Wu G. L-glutamate nutrition and metabolism in swine. *Amino Acids.* 2018; 50: 1497–1510. DOI: 10.1007/s00726-018-2634-3.
- Li R, Zhang P, Li C, Yang W, Yin Y, Tao K. Tert-butylhydroquinone mitigates carbon tetrachloride induced hepatic injury in mice. *Int. J. Med. Sci.* 2020; 17 (14): 2095–2103. DOI: 10.7150/ijms.45842.
- Magi S, Piccirillo S, Amoroso S. The dual face of glutamate: from a neurotoxin to a potential survival factor — metabolic implications

- in health and disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 2019; 76: 1473–1488. DOI: 10.1007/s00018-018-3002-x.
12. McGill MR, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2019; 1865 (5): 1031–1039. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.08.037.
13. Nevzorova YA, Boyer-Diaz Z, Cubero FJ, Gracia-Sancho J. Animal models for liver disease — A practical approach for translational research. *J. Hepatol.* 2020; 73 (2): 423–440. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.04.011.
14. Ono R, Yoshioka Y, Furukawa Y, Naruse M, Kuwagata M, Ochiya T, Kitajima S, Hirabayashi Y. Novel hepatotoxicity biomarkers of extracellular vesicle (EV)-associated miRNAs induced by CCl₄. *Toxicol. Rep.* 2020; 7: 685–692. DOI: 10.1016/j.toxrep.2020.05.002.
15. Pergel A, Tümkaya L, Çolakoğlu MK, Demiral G, Kalcan S, Özdemir A, Mercantepe T, Yılmaz A. Effects of infliximab against carbon tetrachloride-induced intestinal injury via lipid peroxidation and apoptosis. *Hum. Exp. Toxicol.* 2019; 38 (11): 1275–1282. DOI: 10.1177/0960327119867758.
16. Salyha N. Effects of L-glutamic acid and pyridoxine on glutathione depletion and lipid peroxidation generated by epinephrine-induced stress in rats. *Ukr. Biochem. J.* 2018; 90 (4): 102–110. DOI: 10.15407/ubj90.04.102.
17. Salyha NO. Effect of glutamic acid and cysteine on oxidative stress markers in rats. *Ukr. Biochem. J.* 2020; 92 (6): 165–172. DOI: 10.15407/ubj92.06.165.
18. Scholten D, Trebicka J, Liedtke C, Weiskirchen R. The carbon tetrachloride model in mice. *Lab. Anim.* 2015; 49 (1): 4–11. DOI: 10.1177/0023677215571192.
19. Tabassum S, Ahmad S, Madiha S, Shahzad S, Batool Z, Sadir S, Haider S. Free L-glutamate-induced modulation in oxidative and neurochemical profile contributes to enhancement in locomotor and memory performance in male rats. *Sci. Rep.* 2020; 10: 11206. DOI: 10.1038/s41598-020-68041-y.
20. Tomé D. The roles of dietary glutamate in the intestine. *Ann. Nutr. Metab.* 2018; 73 (5): 15–20. DOI: 10.1159/000494777.
21. Ustuner D, Colak E, Dincer M, Tekin N, Burukoglu Donmez D, Akyuz F, Colak E, Kolaç U, Entok E, Ustuner MC. Posttreatment effects of *Olea europaea* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress in rats. *J. Med. Food.* 2018; 21 (9). DOI: 10.1089/jmf.2017.0143.
22. Li X, Liu X, Zhang Y, Cheng C, Fan J, Zhou J, Garstka MA, Li Z. Hepatoprotective effect of apolipoprotein A4 against carbon tetrachloride induced acute liver injury through mediating hepatic antioxidant and inflammation response in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021; 534: 659–665. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.11.024.
23. Xue H, Field CJ. New role of glutamate as an immunoregulator via glutamate receptors and transporters. *Front Biosci.* 2011; 3 (3): 1007–1020. DOI: 10.2741/205.

L-glutamic acid effect on changes in biochemical parameters of rats intoxicated by carbon tetrachloride

N. O. Salyha

ynosyt@yahoo.com

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

This study aims to explore the ameliorative effects of L-glutamic acid (L-Glu) against carbon tetrachloride (CCl₄) toxicity in male rats. Changes in the activities of alanine and aspartate aminotransferases (ALAT, ASAT) were studied in the tissues and blood of rats. Concentrations of creatinine, triacylglycerol and cholesterol were also determined in the blood of experimental animals. Intraperitoneal administration of CCl₄ to rats led to changes in the blood of animals of the studied parameters — an increase of the activities of aminotransferases, triacylglycerol and cholesterol levels. At the same time, a decrease of ALAT activity was observed in the tissues of the myocardium and spleen of intoxicated animals, ASAT in their brain, and in the tissues of the lungs there was an increase in the activity of ALAT and the growth of ASAT in the tissues of the spleen. In turn, with additional administration to animals intoxicated with tetrachloromethane L-Glu mitigation or no change in most of the studied indicators was observed, namely, in the blood the activity of ASAT fluctuated within the control values, and the concentrations of triacylglycerol and cholesterol did not change compared to the control. Also under the action of the studied amino acid, no changes were detected in the activities of ALAT in lung tissue and ASAT in spleen tissue. The obtained results indicate a corrective effect of L-Glu on the physiological and biochemical parameters of rats in their intoxication with carbon tetrachloride.

Keywords: L-glutamic acid, rats, blood, CCl₄, ALAT, ASAT



Якість деконсервованої сперми бугаїв за дії нанорозмірної форми сукцинатів Zn, Cu і Mn у складі розріджувачів

С. Корнят, М. Шаран, Д. Остапів, А. Корбецький, І. Яремчук, О. Андрушко

m_sharan@ukr.net

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Метою роботи було порівняльне вивчення впливу різних доз мікроелементів (Cu^{2+} , Zn^{2+} та Mn^{2+}) у формі нанорозмірної форми сукцинатів за введення їх у лактозо-жовтково-гліцеринове середовище для кріоконсервування сперми бугаїв-плідників на фізіологічні та біохімічні показники деконсервованих спермій. Під час проведення досліджень брали свіжо-отримані еякуляти бугаїв ($n=4$), які ділили на частини: контрольну — розріджену промисловим розріджувачем (лактозо-жовтково-гліцериновий) і дослідні, до яких додавали нанорозмірні форми сукцинатів Cu, Mn і Zn (концентрації вихідних розчинів 2–5 г/л) в дозах 0,005, 0,01 та 0,05 мг/мл. Встановлювали такі фізіологічні показники якості еякулятів: об'єм (мл), концентрацію спермій (млрд/мл), кількість живих спермій (%) та динамічні показники спермій (CASA) і виживання (год.); вміст загального протеїну, дихальну активність спермій, активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності — сукцинатдегідрогенази (СДГ, од.) і цитохромоксидази (ЦХО, од.) у розріджених еякулятах з внесеними біологічно активними наносполуками. Після розрідження еякулятів було проведено еквілібрацію сперми впродовж трьох годин за температури $+4^\circ\text{C}$ і заморожування у термоконтейнері (7 хвилин над парами азоту з подальшим зануренням у рідкий азот). Розморожування сперми проводили у водяній бані за температури $+38^\circ\text{C}$ впродовж 20 секунд. Вищевказані фізіологічні та біохімічні показники сперми бугаїв визначали повторно відразу після розморожування. Концентрація спермій у розрідженій спермі бугаїв становила 8,3% від початкової або еякуляти розріджено в 12 разів згідно з технологічними вимогами ($P<0,001$). Кількість живих спермій зменшилася на 12,6% порівняно зі свіжодержаною спермою ($P<0,05$), а виживання спермій за інкубації зменшилося на 6,8% або 7,4 год. Вміст загального протеїну в 100 мл сперми зменшився на 41,3% після розрідження порівняно зі свіжим еякулятом ($P<0,001$). Дихальна активність зменшилася на 11,8% після розрідження еякулятів. Активність СДГ знизилася на 10,7%, а ЦХО — на 13,0%. Після деконсервації сперми бугаїв-плідників її дихальна активність була вищою в дослідних зразках за умови додавання до середовища 0,05 мг/л Zn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} у вигляді нанорозмірної форми сукцинату. За цих доз вищою була й активність ензимів. Найвищу активність СДГ спостерігали за додавання до середовища для кріоконсервації 0,05 мг/л Zn^{2+} ($P<0,05$), а найнижчу — за додавання 0,01 мг/л Mn^{2+} . Активність ЦХО була найвищою за додавання до середовища для кріоконсервації 0,05 мг/л Cu^{2+} . Оптимальними концентраціями наносукцинатів, які забезпечують нормалізацію окисних процесів у розрідженій спермі бугаїв, є 0,05 мг/л Mn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} і 0,05 мг/л Zn^{2+} . Збільшення концентрацій мікроелементів у розріджувачі понад оптимальні величини інгібує дихальну активність сперми та знижує активність СДГ і ЦХО. Аналогічним цей вплив є і на динамічні показники спермій бугаїв після її розмороження.

Ключові слова: бугаї-плідники, сперма, спермій, еякулят, нанорозмірна форма сукцинату, сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза, дихальна активність, кріоконсервування

Методи заморожування статевих клітин знайшли широке застосування у практиці тваринництва [10]. Сьогодні технологія заморожування сперми відпра-

цьована на багатьох видах тварин. Ефективність кріоконсервування сперми значною мірою залежить від складу синтетичних середовищ для заморожування.

Завданням середовищ є забезпечення належного захисту сперміїв від несприятливих чинників у процесі кріоконсервування внаслідок дії низьких і наднизьких температур [4, 22].

Якість і запліднювальна здатність сперміїв залежить від фізіологічних характеристик еякулятів плідників. При цьому виживання і стійкість статевих клітин до зовнішніх чинників забезпечуються ферментами сперми, які беруть участь у використанні енергетичних субстратів, руйнуванні активних форм Оксигену (АФО) та знищенні цитотоксичних продуктів обміну. Мікроелементи відіграють важливу роль у регулюванні обмінних процесів у сперміях, оскільки є кофакторами ферментів, які забезпечують енергетичні потреби й утилізацію цитотоксичних продуктів метаболізму клітин. До таких належать Cu^{2+} , Zn^{2+} та Mn^{2+} , які є у складі ферментів гліколізу, дихального ланцюга мітохондрій і антиоксидантного захисту [15]. Зокрема, Zn^{2+} входить в активні центри численних ферментів гліколізу й пентозофосфатного шляху окиснення глюкози, Cu^{2+} забезпечує активність ферментів дихального ланцюга і протеїнази, а Mn^{2+} — ферментів циклу Кребса. Крім того, вказані мікроелементи Cu^{2+} , Zn^{2+} та Mn^{2+} входять до складу першої ланки ферментативного антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази (СОД), тобто є кофакторами ферменту, що перетворює O_2^- і гальмує утворення АФО [3, 11]. Відомо, що СОД у сперміях наявна у трьох генетично зумовлених ізоформах, які містять у каталітичному центрі йони: Mn^{2+} — мітохондріальній; Zn^{2+} і Cu^{2+} — цитоплазматичній і екзоцелюлярній. При цьому доведено, що від активності вказаного ферменту та співвідношення його ізоформ, вмісту Купруму залежить виживання і, відповідно, запліднювальна здатність статевих клітин.

Однак за технологічних процесів підготовки еякулятів до кріоконсервування змінюється природний вміст мікроелементів, що порушує перебіг перетворення субстратів і ресинтез АТФ. Одним зі способів зберегти високі фізіологічні характеристики і запліднювальну здатність статевих клітин є балансування складу розріджувачів еякулятів мікроелементами. Але використання у складі розріджувачів мікроелементів у вигляді неорганічних солей малоефективне [17], що зумовлене перебігом синтетичних процесів у спермі на низькому рівні і, як наслідок, входження мікроелементів з неорганічних солей в метаболізм статевих клітин знижене. Крім того, йони металів стимулюють вільнорадикальне окиснення структур статевих клітин [21]. Застосування органічних форм металів, зокрема наносукцинатів, може усунути недоліки використання неорганічних солей мікроелементів у розріджувачах еякулятів і забезпечити їх залучення в обмінні процеси сперміїв [9, 13]. Проте в літературі є дані про негативний вплив надлишку мікроелементів на фізіологічні характеристики і запліднювальну здатність сперміїв [19, 25]. За надлишку вказаних елементів можливе порушення функцій мітохондрій, яке характеризується зниженням фізіо-

логічних характеристик і запліднювальної здатності сперміїв [14]. Наприклад, надлишок Cu^{2+} у розрідженій спермі барана зумовлює аглютинацію сперміїв через окиснення вільних сульфгідрильних груп до дисульфідних [12]. З огляду на ці питання, багато авторів проводять дослідження з впливу на якість сперміїв ссавців металів у вигляді нанорозмірних форм або наночастинок [5, 7, 8].

Метою наших досліджень тому було порівняльне вивчення впливу різних доз мікроелементів (Cu^{2+} , Zn^{2+} та Mn^{2+}) у вигляді нанорозмірної форми суцинатів на якість сперміїв деконсервованих еякулятів бугаїв.

Матеріали і методи

Дослідження провели в Інституті біології тварин НААН, а також на базі Львівського науково-виробничого центру «Західплемресурси», де вивчали вплив додавання різних доз нанорозмірної форми суцинатів металів, розроблених в Українському державному науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження (м. Київ), внесених до складу середовищ для кріоконсервування, на фізіолого-біохімічні показники сперми бугаїв. Брالی свіжоотримані еякуляти бугаїв ($n = 4$), які ділили на частини: контроль — розріджену лактозо-жовтково-гліцеринним розріджувачем, і дослідні, в які додавали нанорозмірні форми суцинатів Cu, Mn і Zn (концентрації вихідних розчинів 2–5 г/л) в дозах 0,005, 0,01 та 0,05 мг/мл.

При взятті еякулятів встановлювали такі фізіологічні показники якості еякулятів: об'єм (мл), концентрацію сперміїв (млрд/мл), кількість живих сперміїв (%) та динамічні показники сперміїв (CASA) і виживання (год.); вміст загального протеїну, дихальну активність сперміїв, активність ферментів-маркерів запліднювальної здатності — суцинатдегідрогенази (СДГ, од) і цитохромоксидази (ЦХО, од.) як до розрідження, так і в розріджених еякулятах з внесеними біологічно активними нанорозмірними формами суцинатів досліджуваних сполук [2].

Після розрідження еякулятів провели еквілібрацію сперми впродовж 3 год. за температури $+4^\circ\text{C}$ і заморожування у термоконтейнері (7 хв. над парами азоту з подальшим зануренням у рідкий азот). Розморожували сперму у водяній бані за температури $+38^\circ\text{C}$ впродовж 20 сек. Вищевказані фізіологічні та біохімічні показники сперми бугаїв визначали повторно відразу після розморожування. На останньому етапі досліджень на основі фізіолого-біохімічних досліджень було проведено аналіз отриманих результатів і встановлено оптимальні дози наносполук у розбавлених промисловим розріджувачем еякулятах самців.

Усі фізіолого-біохімічні дослідження провели згідно з методиками, описаними у довіднику [24]. Статистичний аналіз отриманого цифрового матеріалу провели за М. О. Плохінським (1969) [16].

Результати й обговорення

Відомо, що результати роботи зі спермою бугаїв-плідників визначаються за фізіологічними і біохімічними показниками нативної свіжоотриманої сперми, які є основою життєздатності сперміїв під час інкубування, розрідження, еквілібрації, кріоконсервування та розмороження, а також їх запліднювальності за використання у штучному осіменінні корів та телиць.

У табл. 1 наведено дані про об'єм, концентрацію сперміїв, кількість живих сперміїв і виживання сперміїв, вміст загального протеїну, дихальну активність сперміїв, активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності — СДГ і ЦХО нативних еякулятів бугаїв відразу після отримання та після розрідження. Усі досліджувані показники свіжоотриманої сперми бугаїв — в межах фізіологічної норми [26]. Це свідчить, що для досліджень було вибрано якісні еякуля-

ти від здорових бугаїв-плідників із запліднювальною здатністю, яка відповідає виробничим стандартам.

З наведених у табл. 1 даних також видно, що такий виробничий момент, як розрідження еякулятів бугаїв, дещо зменшує основні якісні показники сперми. Концентрація сперміїв у розрідженій спермі бугаїв становить 8,3% від початкової або еякуляти розріджено в 12 разів згідно з технологічними вимогами ($P < 0,001$). Кількість живих сперміїв зменшилася на 12,6% порівняно зі свіжоотриманою спермою ($P < 0,05$), а виживання сперміїв за інкубації зменшилося на 6,8% або 7,4 год. Вміст загального протеїну у 100 мл сперми зменшився на 41,3% після розрідження порівняно зі свіжим еякулятом ($P < 0,001$). І це при тому, що у складі жовтку курячого яйця, доданого до середовища для кріоконсервування сперми бугаїв, є протеїни, які частково мали б компенсувати зменшення їх вмісту в навколоспермальному середовищі після розрідження сперми порівняно з цілим еякулятом. Дихальна активність зменшилася на 11,8% після розрідження еякулятів. Активність СДГ знизилася на 10,7% після розрідження, а ЦХО — на 13,0%. Наведені дані показують, наскільки важливою маніпуляцією є розрідження сперми бугаїв і наскільки може погіршитися якість сперміїв за умови проведенні цієї процедури.

У табл. 2 наведено динамічні показники досліджуваної сперми бугаїв — свіжоотриманої та після розрідження, виміряні з допомогою комп'ютерної системи оцінки сперми CASA, які також дають певне уявлення про якість сперміїв. Можна зауважити, що ці значення не виходять за межі фізіологічних норм згідно з літературними даними для свіжоотриманих сперміїв бугаїв [1, 13, 18, 23, 27]. З наведених даних видно, як впливає розрідження нативних еякулятів бугаїв-плідників на динамічні показники сперміїв. Після розрідження сперми бугаїв загальна активність сперміїв (TMOT) вірогідно знизилася на 12,6% порівняно зі свіжоотриманою спермою ($P < 0,05$). Кількість сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом (PMOT) після розрідження зменшилася на 13,3%. Середня швидкість просування головки спермія по середній траєкторії руху (VAP) знизилася на 10,1%, швидкість прямолінійного руху головки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL) зменшилася на 1,2%, а криволінійна швидкість головки спермія (VCL) — на 5,4%.

Ступінь прямолінійності руху сперміїв (STR) зріс на 9,9% після розрідження еякулятів бугаїв. Ступінь лінійності руху сперміїв (LIN) підвищився на 4,5%, ступінь відхилення руху сперміїв (WOB) знизився на 5,1%. Показник середнього бокового відхилення головки спермія або амплітуда латерального зсуву головки спермія від середньої траєкторії руху (ALH) після розрідження сперми знизилася на 31,9% ($P < 0,001$), а частота коливального руху (BCF) зменшилася на 17,3% ($P < 0,05$). Отримані дані вказують на критичність процедури розрідження еякулятів для збереження якості сперміїв та їх запліднювальної здатності.

Таблиця 1. Фізіолого-біохімічні показники якості свіжоотриманих еякулятів бугаїв та після розрідження ($M \pm m$, $n=4$)
Table 1. Physiological and biochemical indicators of the quality of the freshly obtained bull ejaculates and after dilution ($M \pm m$, $n=4$)

Показники / Parameters	Свіжоотримані еякуляти бугаїв freshly obtained bull ejaculates	Еякуляти бугаїв після розрідження Bull ejaculates after dilution
Об'єм, мл / Volume, ml	4,8±0,23	—
Концентрація сперміїв, млрд/мл Sperm concentration, billion/ml	1,2±0,04	0,1±0,01***
Кількість живих сперміїв, % Number of live sperm, %	82,8±0,34	72,4±3,41*
Вживання, год. за +4°C Survival, hours at +4°C	108,7±6,04	101,3±7,25
Вміст загального протеїну, мг/100 мл Total protein content, mg/100 ml	7,5±0,23	4,4±0,43***
Дихальна активність, нг-атом O ₂ /хв×0,1 мл сперми/хв. Respiratory activity, ng atom of O ₂ /min×0.1 ml of semen/min.	3,67±0,62	3,24±0,22
Сукцинатдегідрогеназа, МО/год×0,1 мл сперми Succinate dehydrogenase, IU/h×0.1 ml of semen	46,18±1,65	41,22±2,15
Цитохромоксидаза, МО/год.×0,1 мл сперми Cytochrome oxidase, IU/hour×0.1 ml of semen	52,4±2,22	45,6±3,18

Примітка. Різниця статично вірогідна для еякулятів бугаїв після розрідження порівняно з даними нативного еякуляту бугаїв: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Note. In this table, the difference is statically significant for bull ejaculates after dilution compared with the data of native ejaculate of bulls: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Таблиця 2. Динамічні показники спермій, отримані з допомогою системи CASA у свіжоотриманих еякулятах бугаїв та після розрідження (M±m, n=4)
Table 2. Dynamic sperm counts were obtained using the CASA system in freshly obtained bulls ejaculates and after dilution (M±m, n=4)

Показники / Parameters	Свіжоотримані еякуляти бугаїв Freshly obtained bull ejaculates	Еякуляти бугаїв після розрідження Bull ejaculates after dilution
TMOT, %	82,8±0,34	72,4±3,41*
PMOT, %	74,3±2,91	64,4±4,37
VAP, μm/sec	118,1±8,06	106,2±9,34
VSL, μm/sec	93,4±4,21	92,3±5,16
VCL, μm/sec	143,9±9,17	136,2±10,72
STR (VSL/VAP), %	79,1±3,74	86,9±5,23
LIN (VSL/VCL), %	64,9±4,52	67,8±5,62
WOB (VAP/VCL), %	82,1±5,14	78,0±4,89
ALH, μm	9,6±0,23	6,54±0,42***
BCF, Hz	17,9±0,62	14,8±0,91*

Примітка. TMOT — загальна активність, %; PMOT — відносний вміст спермій з прямолінійно-поступальним рухом, %; VAP — середня швидкість просування головки спермія по середній траєкторії руху, мкм/с; VSL — швидкість прямолінійного руху головки спермія вздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії, мкм/с; VCL — криволінійна швидкість головки спермія, мкм/с; STR — ступінь прямолінійності руху сперміїв (VSL/VAP), %; LIN — ступінь лінійності, (VSL/VCL), %; WOB — ступінь відхилення (VAP/VCL), %; ALH — середнє бокове відхилення головки, амплітуда латерального зсуву головки спермія від середньої траєкторії руху, мкм; BCF — частота коливального руху, с⁻¹. Статично вірогідна для еякулятів бугаїв після розрідження порівняно з даними нативного еякуляту бугаїв: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Note. TMOT — total motility, %; PMOT — progressive motility, %; VAP — average path velocity, μm/sec; VSL — straight line velocity, μm/sec; VCL — curvilinear velocity, μm/sec; STR — straightness, (VSL/VAP), %; LIN — linearity, (VSL/VCL), %; WOB — wobble (VAP/VCL), %; ALH — amplitude of lateral head displacement, μm; BCF — beat cross frequency, Hz. The difference is statically significant for bull ejaculates after dilution compared with the data of native ejaculate of bulls: * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0.001.

У табл. 3 наведено дані про дихальну активність та активність СДГ і ЦХО у спермі бугаїв після розмороження за додавання нанорозмірних форм сукцинатів металів у лактозо-жовтково-гліцеринний розріджувач. Варто зазначити, що за умови додавання Zn²⁺ до середовища для кріоконсервування після розмороження сперми дихальна активність відталої сперми перевищувала цей показник у всіх дослідних зразках на 5,9–22,8% і виявилася найвищою за додавання 0,05 мг/мл розчину Zn²⁺ (P<0,05). За умови додавання розчину Cu²⁺ у середовище для кріоконсервування у кількості 0,05 та 0,01 мг/мл дихальна активність була вищою, ніж у контролі, відповідно, на 16,0 та 6,8%, а в кількості 0,005 мг/мл значення було меншим на 0,9%. За умови додавання 0,05 мг/мл розчину Mn²⁺ до зразків сперми після розмороження дихальна активність спермій була вищою на 8,9%; за додавання 0,01 мг/мл значення було таким, як і в контрольному зразку, а за 0,005 мг/мл Mn²⁺ — на 1,9% нижчим.

За умови додавання до середовища для кріоконсервування Zn²⁺ різниця активності СДГ між дослідними зразками та контрольним становила 3,9, 4,6 та 18,6%, відповідно, для кількості 0,005, 0,01 та 0,05 мг/мл Zn²⁺. У всіх трьох випадках активність ензиму була вищою у дослідних зразках порівняно з контролем, а за додавання 0,05 мг/мл Zn²⁺ різниця була вірогідною (P<0,05). Після додавання до розріджувача сперми бугаїв Cu²⁺ рівень СДГ був більшим у всіх дослідних зразках порівняно з контролем, найбільшим — за додавання 0,05 мг/мл Cu²⁺ (20,9%). За умови додавання у середовище 0,05 мг/мл Mn²⁺ встановлено найвищий рівень ензиму, який перевищував контрольний зразок 13,5%.

Рівень ЦХО майже у всіх дослідних зразках перевищував контроль. Найбільші значення зареєстрували за додавання до середовища Zn²⁺, Cu²⁺ та Mn²⁺ у дозі 0,05 мг/мл у вигляді наноаквасукцинатів. Перевищення становило 8,0, 14,3 та 6,7%, відповідно, для Zn²⁺, Cu²⁺ та Mn²⁺ і найбільшим було за умови додавання Cu²⁺.

З отриманих даних видно, що дихальна активність сперми бугаїв вища в дослідних зразках за додавання до середовища у вигляді нанорозмірних форм сукцинатів 0,05 мг/л Zn²⁺, 0,05 мг/л Cu²⁺ та 0,05 мг/л Mn²⁺, при цьому вищою була й активність ензимів. Найвищу активність СДГ спостерігали за додавання до середовища для кріоконсервації 0,05 мг/л Zn²⁺ (P<0,05),

Таблиця 3. Дихальна активність та активність сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази у спермі бугаїв після розмороження за додавання нанорозмірних форм сукцинатів металів (M±m, n=4)
Table 3. Respiratory activity and succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity in bull sperm after thawing with the addition of metal nanosized forms of succinates in diluent (M±m, n=4)

Умови дослідження, мг/мл The experiment conditions, mg/ml	Дихальна активність, нг-атом O/хв. × ×0,1 мл сперми Respiratory activity, ng atom of O ₂ /min×0.1 ml of semen/min	Ензими / Enzymes		
		СДГ, МО/год. × ×0,1 мл сперми Succinate dehydrogenase, IU/h×0.1 ml of semen	ЦХО, МО/год. × ×0,1 мл сперми Cytochrome oxidase, IU/h×0.1 ml of semen	
Контроль Control	–	3,24±0,22	41,22±2,15	45,6±3,18
Zn ²⁺	0,05	3,98±0,18*	48,87±2,12*	49,25±3,66
	0,01	3,75±0,43	43,11±2,38	46,18±3,11
	0,005	3,43±0,32	42,81±2,63	45,62±3,19
Cu ²⁺	0,05	3,76±0,24	49,86±2,24	52,14±3,25
	0,01	3,46±0,18	46,31±3,38	48,12±3,47
	0,005	3,21±0,28	42,16±3,27	45,94±4,11
Mn ²⁺	0,05	3,53±0,24	46,77±2,22	48,67±3,19
	0,01	3,24±0,43	39,17±2,65	44,63±3,41
	0,005	3,18±0,26	42,34±2,17	46,88±3,68

Примітка. У цій та наступних таблицях різниця статично вірогідна порівняно з контролем: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.
Note. In this and the following tables, the difference is statically significant compared to the control: * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0.001.

а найнижчу — за додавання 0,01 мг/л Mn^{2+} ; активність ЦХО найвища за умови додавання до середовища 0,05 мг/л Cu^{2+} .

У табл. 4 наведено загальну активність сперміїв у пробах, відносний вміст сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом, середню швидкість просування голівки спермія по середній траєкторії руху, швидкість прямолінійного руху голівки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії та криволінійну швидкість голівки сперміїв після розморожування досліджуваних зразків сперми. Найвищу загальну активність сперміїв та найвищий рівень сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом порівняно з контролем спостерігали за умови додавання до середовища для криоконсервування 0,05 мг/л Zn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} у вигляді нанорозмірних форм сукцинатів. Найнижчий же рівень

сперміїв із загальною активністю мали групи, в яких до середовища додавали 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,01 мг/л Mn^{2+} . Найменшим вміст сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом спостерігали за додавання 0,005 мг/л Zn^{2+} , 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,005 мг/л Mn^{2+} .

Найбільше значення середньої швидкості просування голівки спермія по середній траєкторії руху (VAP) встановлено за додавання до розріджувача 0,05 мг/л Zn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} , а найменше — за додавання 0,005 мг/л Zn^{2+} , 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,01 мг/л Mn^{2+} відповідно. Швидкість прямолінійного руху голівки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL) була найвищою за додавання у середовище 0,05 мг/л Zn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} , а найнижчою — за додавання 0,01 мг/л Zn^{2+} , 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,01 мг/л Mn^{2+} . Криволінійна швидкість голівки спермія (VCL) була найбіль-

Таблиця 4. Динамічні показники TMOT, PMOT, VAP, VSL, VCL у спермі бугаїв після розмороження за додавання нанорозмірних форм сукцинатів металів до лактозо-жовтково-гліцеринового розріджувача ($M \pm m$, $n=4$)
Table 4. Dynamic indices of TMOT, PMOT, VAP, VSL, VCL in sperm of bulls after thawing with the addition of metal nanosized forms of succinates in lactose-yolk-glycerol diluent ($M \pm m$, $n=4$)

Умови досліджу, мг/л The conditions of the experiment, mg/l		TMOT, %	PMOT, %	VAP (mm/sec)	VSL (mm/sec)	VCL (mm/sec)
Контроль	–	67,3±4,28	53,2±4,89	96,3±7,67	82,4±6,28	105,1±8,37
Zn^{2+}	0,05	76,3±3,12	61,8±4,94	99,5±6,84	89,2±6,14	119,1±5,83
	0,01	68,8±3,11	55,3±4,98	96,6±6,14	78,1±7,54	112,3±6,13
	0,005	67,1±3,82	51,4±5,72	95,2±7,66	81,2±7,48	109,6±6,17
Cu^{2+}	0,05	72,1±4,23	58,2±6,11	102,2±7,16	93,4±6,08	117,2±5,16
	0,01	67,7±4,43	56,2±6,91	94,6±8,69	84,4±6,63	111,8±6,43
	0,005	65,9±3,76	51,6±5,83	90,9±7,11	72,9±7,22	102,9±7,85
Mn^{2+}	0,05	71,9±3,19	58,8±4,11	104,3±6,09	87,5±6,14	114,1±6,62
	0,01	63,3±3,22	47,6±5,27	93,2±5,84	83,7±6,99	102,3±9,88
	0,005	67,7±4,14	55,7±4,26	98,9±7,77	84,4±6,22	107,3±8,18

Таблиця 5. Динамічні показники STR, LIN, WOB, ALH, та BCF у спермі бугаїв після розмороження за додавання нанорозмірних форм сукцинатів металів до лактозо-жовтково-гліцеринового розріджувача ($M \pm m$, $n=4$)
Table 5. Dynamic indicators of STR, LIN, WOB, ALH, and BCF in bull sperm after thawing with the addition of metals nanosized forms of succinates of in lactose-yolk-glycerol diluent ($M \pm m$, $n=4$)

Умови досліджу, мг/л The conditions of the experiment, mg/l		STR (VSL/VAP), %	LIN (VSL/VCL), %	WOB (VAP/VCL), %	ALH, мкм	BCF, c^{-1}
Контроль	–	85,6±5,23	78,4±5,62	91,6±4,19	4,42±0,33	9,17±0,63
Zn^{2+}	0,05	89,6±4,21	75,0±4,94	83,5±6,43	4,72±0,32	10,11±0,61
	0,01	80,8±4,65	69,5±4,98	86,0±6,87	4,39±0,34	9,22±0,61
	0,005	85,3±4,56	74,1±5,72	86,9±6,12	4,23±0,39	9,15±0,51
Cu^{2+}	0,05	91,4±4,56	79,7±5,11	87,2±6,22	4,84±0,32	10,23±0,36
	0,01	89,2±6,23	75,5±6,91	84,6±7,28	4,24±0,34	9,45±0,31
	0,005	80,2±6,19	70,8±5,83	88,3±8,61	4,49±0,44	9,03±0,35
Mn^{2+}	0,05	89,8±7,26	76,7±5,11	91,4±5,43	4,95±0,33	10,1±0,42
	0,01	81,8±6,34	81,8±6,27	91,1±8,27	4,27±0,38	9,2±0,48
	0,005	86,3±4,78	78,7±4,26	92,1±5,87	4,49±0,31	9,1±0,32

шою за умови додавання у середовище 0,05 мг/л Zn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} , а найменшою — за додавання 0,01 мг/л Zn^{2+} , 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,01 мг/л Mn^{2+} .

З наведених у табл. 5 даних видно, що ступінь прямолінійності руху сперміїв, ступінь лінійності, ступінь відхилення середнє бокове відхилення голівки, амплітуда латерального зсуву голівки спермія від середньої траєкторії руху та частота коливального руху також дещо відрізнялися порівняно з цієї величиною у зразках контрольних груп та між собою.

Ступінь прямолінійності руху сперміїв перевищував контроль на 6,8% за умови додавання у середовище 0,05 мг/л Cu^{2+} ; менші значення мали зразки за умови додавання 0,05 мг/л Zn^{2+} та 0,05 мг/л Mn^{2+} ; найменші — за додавання 0,01 мг/л Zn^{2+} , 0,005 мг/л Cu^{2+} та 0,01 мг/л Mn^{2+} у вигляді нанорозмірних форм сукцинатів. Ступінь лінійності руху сперміїв мало відрізнявся між зразками контрольної та дослідних груп. Ступінь відхилення майже в усіх зразках був нижчим, ніж у контролі. Такі показники, як середнє бокове відхилення голівки або амплітуда латерального зсуву голівки спермія від середньої траєкторії руху та частота коливального руху також незначно відрізнялися між дослідними зразками та контрольним.

Висновки

Для балансування середовища для кріоконсервації сперми бугаїв до фізіологічних меж нативних еякулятів, нормалізації окисного метаболізму і забезпечення виживання сперміїв у середовище доцільно додавати в 10–20 разів нижчі дози Mn^{2+} , Cu^{2+} і Zn^{2+} у вигляді нанорозмірних форм сукцинатів порівняно з їх аналогами у вигляді неорганічних солей.

Додавання до розріджувача еякулятів бугаїв нанорозмірних форм сукцинатів мікроелементів впливає на інтенсивність окисних процесів у спермі, активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності сперміїв. Оптимальні концентрації наносукцинатів, які забезпечують нормалізацію окисних процесів у розрідженій спермі бугаїв — 0,05 мг/л Mn^{2+} , 0,05 мг/л Cu^{2+} і 0,05 мг/л Zn^{2+} . Збільшення концентрацій цих мікроелементів у розріджувачі понад оптимальні величини інгібує дихальну активність сперми, знижує активність сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази. Аналогічним цей вплив є на динамічні показники сперміїв бугаїв після процесу кріоконсервування.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому плануємо вивчити вплив поєданого застосування нанорозмірних форм сукцинатів мікроелементів на фізіолого-біохімічні показники сперміїв розморожених еякулятів бугаїв для розроблення нових та покращення наявних середовищ для кріоконсервування сперми бугаїв.

1. Bompard D, Vázquez RF, Gómez R, Valverde A, Roldán ERS, García-Molina A, Soler C. Combined effects of type and depth of counting chamber, and rate of image frame capture, on bull sperm motility and kinematics. *Anim. Reprod. Sci.* 2019; 209: 106169. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2019.106169.
2. Chuhrij BM, Klevets BO. To the method of determining the activity of oxidizing enzymes in the sperm of bulls. *Breed. Artific. Insem. Cattle.* Kyiv, 1978; 10: 42–45. Available at: <http://digest.iabg.org.ua/reproduction/item/1853-10-011> (in Ukrainian)
3. Eghbali M, Alavi-Shoushtari SM, Asri Rezaii S. Effects of copper and superoxide dismutase content of seminal plasma on buffalo semen characteristics. *Pakistan J. Biol. Sci.* 2008; 11 (15): 1964–1968. DOI: 10.3923/pjbs.2008.1964.1968.
4. Erokhin AS, Epishyna TM, Nikiforov AH. Cryoprotective effect of new synthetic antioxidants in cryopreservation of ram sperm. *Agricult. Biol.* 1996; 6: 19–21. (in Russian)
5. Falchi L, Khalil WA, Hassan M, Marei WFA. Perspectives of nanotechnology in male fertility and sperm function. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2018; 6 (2): 265–269. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.09.001.
6. Farrell PB, Foote RH, McArdle MM, Trouem-Trend VL, Tardif AL. Media and dilution procedures tested to minimize handling effects on human, rabbit, and bull sperm for computer-assisted sperm analysis (CASA). *J. Androl.* 1996; 17 (3): 293–300. PMID: 8792220.
7. Iftikhar M, Noreen A, Uzair M, Jabeen F, Daim MA, Cappello T. Perspectives of nanoparticles in male infertility: evidence for induced abnormalities in sperm production. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2021; 18 (4): 1758. DOI: 10.3390/ijerph18041758.
8. Khalil W, El-Harairy MA, Zeidan AEB, Hassan MAE. Impact of selenium nanoparticles in semen extender on bull sperm quality after cryopreservation. *Theriogenol.* 2019; 126: 121–127. DOI: 10.1016/j.theriogenol.2018.12.017.
9. Kornyat S, Yaremchuk I, Andrushko O, Ostapiv D, Sharan M, Chajkovska O. The intensity of the oxidation processes in the sperm of the boar at the add of metal nanosuccinates to the eco-sperm medium. *Sci. Tech. Bull. State Sci. Res. Cont. Inst. Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2019; 20 (2): 352–357 DOI: 10.36359/scivp.2019-20-2.46. (in Ukrainian)
10. Kosenko MV, Chukhriy BM, Kotsiumbas IY, Klevets LO, Kosenko YM, Chaikovska OI, Panych OP. *Reproductive function and andrological examination of bulls.* Lviv, 2007: 186 p. (in Ukrainian)
11. Kuzmina N, Ostapiv D, Huleuk N, Gumeneckiy I. The activity and content of sod isoforms in mail ejaculates and survival of spermatozoa. *Visnyk Lviv Nat. Univ. named after Ivan Franko. Series Biol.* 2012; 59: 44–51. Available at: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/8506> (in Ukrainian)
12. Leahy T, Rickard JP, Aitken RJ, de Graaf SP. D-penicillamine prevents ram sperm agglutination by reducing the disulphide bonds of a copper-binding sperm protein. *Reprod.* 2016; 151 (5): 491–500. DOI: 10.1530/REP-15-0596.
13. Maulana T, Said S. Kinematics motility of frozen-thawed X and Y sperm of Sumba Ongole bull. *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci.* 2019; 387: 012030. DOI: 10.1088/1755-1315/387/1/012030.
14. Nakada K, Sato A, Yoshida K, Morita T, Tanaka H, Inoue SI, Yonekawa H, Hayashi JI. Mitochondria-related male infertility. *PNAS.* 2006; 103 (41): 15148–15153. DOI: 10.1073/pnas.0604641103.
15. Pal RP, Mani V, Mir SH, Singh RK, Sharma R. Importance of trace minerals in the ration of breeding bull — a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2017; 6 (11): 218–224. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.611.026.
16. Plohinskij NA. *Biometrics guide for livestock specialists.* Moscow, Kolos, 1969: 255 p. (in Russian)
17. Rowe MP, Powell JG, Kegley EB, Lester TD, Rorie RW. Effect of supplemental tracemineral source on bull semen quality. *Appl. Anim. Sci.* 2014; 30 (1): 68–73. DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30085-1.

18. Selçuk M, Akal E, Esin B, Nizam MY, Genç MD. Comparative evaluation of the effects of different thawing methods on bull sperm characteristics with computer-assisted semen analysis. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2020; 44: 1316–1321. DOI: 10.3906/vet-2007-12.
19. Sengupta P. Environmental and occupational exposure of metals and their role in male reproductive functions. A review. *Drug Chem. Toxicol.* 2013; 36 (3): 353–368. DOI: 10.3109/01480545.2012.710631.
20. Sharan MM, Kornyat SB, Yaremchuk IM, Kusmina NV, Ostapiv DD, Chajkovska OI. Spermatozoa quality after addition of nanosuccinates of metals to diluted ram ejaculates. *Sci. Tech. Bull. State Sci. Res. Cont. Inst. Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2018; 19 (2): 273–279. Available at: http://www.scivp.lviv.ua/images/files/Naukovo_tekhnichnyy_byuleten/2018_19_2/43-s.pdf (in Ukrainian)
21. Shergin NP. Sperm biochemistry of farm animals. Moscow, Kolos, 1967: 239 p. (in Russian)
22. Uysal O, Bucak MN. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Vet. Brno.* 2007; 76: 383–390. DOI: 10.2754/avb200776030383.
23. Víquez L, Barquero V, Soler C, Roldan ERS, Valverde A. Kinematic sub-populations in bull spermatozoa: a comparison of classical and Bayesian approaches. *Biol.* 2020; 9 (6): 138. DOI: 10.3390/biology9060138.
24. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary.* A reference book. Lviv, Spolom, 2012: 764 p. (in Ukrainian)
25. Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2010; 56 (2): 147–167. DOI: 10.3109/19396360903582216.
26. Yablonsky VA, Khomyn SP, Zaviryukha VI, Demchuk MV, Stoiaka RS, Serhienko OI, Kosenko MV, Kotsiumbas IY, Kusen SY, Siratsky YZ. *Biotechnological and molecular genetic basis of animal reproduction.* Lviv, Afisha, 2009: 218 p. (in Ukrainian)
27. Zăhan M, Pall E, Cenariu M, Miclea I, Dascăl AS. Relationship between *in vitro* semen parameters and bull fertility. *ABAH Bioflux.* 2018; 10 (2): 156–163. Available at: <http://www.abah.bioflux.com.ro/docs/2018.156-163.pdf>

Quality of deconserved bull sperm for the action of nanosuccinates Zn, Cu and Mn in the diluents

S. Kornyat, M. Sharan, D. Ostapiv, A. Korbeckij, I. Jaremchuk, O. Andrushko
m_sharan@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

The purpose of this work was to compare effect of different doses of trace elements such as Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} that have been included as nano succinates into lactose-yolk-glycerol medium for cryopreservation of bull sperm and some physiological and biochemical sperm parameters assessment before and after cryopreservation. In this research each fresh ejaculate obtained from 4 bulls has been divided into parties consisting a control sample and its experimental counterparts. Control samples were diluted with industrial lactose-yolk-glycerin diluent only but their experimental counterparts were diluted and supplemented with nano acquacuccinates of Cu, Mn and Zn as solutions at concentration 2–5 g/l but different doses of 0.005, 0.01 and 0.05 mg/ml. When ejaculates were taken, the following physiological parameters of ejaculate quality were established: volume (ml), sperm concentration (billion/ml), live sperm count (%) and dynamic sperm count (CASA) and survival (h); content of total protein, respiratory activity of sperm, activity of enzyme markers of fertilizing ability — succinate dehydrogenase (SDH, units) and cytochrome oxidase (CHO, units) in diluted ejaculates with introduced minerals. After the ejaculates were diluted, semen was equilibrated for three hours at 4°C and frozen in a container (7 min over nitrogen vapor followed by immersion in liquid nitrogen). The semen was thawed in a water bath at 38°C for 20 seconds. The above physiological and biochemical parameters of the sperm of the bulls were redetermined immediately after thawing. Spermatozoa concentration in diluted bull sperm was 8.3% of the initial or ejaculate diluted 12-fold according to technological requirements ($P < 0.001$). The number of live sperm decreased by 12.6% compared to fresh sperm ($P < 0.05$), and the survival of sperm during incubation decreased by 6.8% for 7.4 hours. Total protein content in 100 ml of sperm decreased by 41.3% after dilution compared to fresh ejaculate ($P < 0.001$). Respiratory activity decreased by 11.8% after the ejaculates was diluted. Succinate dehydrogenase activity decreased by 10.7% and cytochrome oxidase activity by 13.0%. In thawed bull sperm the respiratory sperm activity is higher in counterparts when 0.05 mg/l Zn^{2+} , 0.05 mg/l Cu^{2+} and 0.05 mg/l Mn^{2+} are added to the medium. Enzyme activity at the same doses was higher. The highest activity among these groups of succinate dehydrogenase was at 0.05 mg/l Zn^{2+} ($P < 0.05$) added to the cryopreservation medium, and the lowest at 0.01 mg/l Mn^{2+} . Cytochrome oxidase activity was highest when 0.05 mg/l Cu^{2+} was added to the cryopreservation medium. The optimum concentrations of nanosuccinates that ensure the normalization of oxidation processes in the diluted bull sperm are: 0.05 mg/l Mn^{2+} , 0.05 mg/l Cu^{2+} and 0.05 mg/l Zn^{2+} . The higher concentration of metal nano succinates in the diluent inhibits the respiratory sperm activity and reduces the activity of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase. Similar effect has been estimated in dynamic performance of spermatozoa after thawing.

Key words: bulls, semen, spermatozoa, ejaculate, nanosuccinates, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase, respiratory activity, cryopreservation



Вплив стресу на якість м'яса свиней

І. Ю. Стронський, М. Р. Сімонов, Ю. С. Стронський, М. М. Акимішин

ivan1996str@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій Імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська 50, Львів, 79010, Україна

На якість та безпечність свинини впливає велика кількість факторів — як до забою тварини, так і після. Впродовж терміну дозрівання м'яса забійних тварин відбуваються складні біохімічні та фізико-хімічні процеси. Одним з провідних чинників, які впливають на якість м'яса забійних тварин, є рівень кортизолу в крові, оскільки цей глюкокортикоїдний гормон є пусковим механізмом розвитку ланцюга стресових біохімічних реакцій. У роботі наведено результати дослідження концентрації кортизолу і лактату в крові свиней та рівень рН м'яса. Матеріали для досліджень відбирали у двох груп свиней. Тварин першої групи утримували і їх забій провели у промислових умовах, а другої групи — в дрібних присадибних господарствах. У крові забійних свиней за промислового утримання, порівняно з домашніми, концентрація кортизолу є вірогідно вищою — на 39,9% ($P < 0,05$), як і вміст лактату — у 2,3 рази ($P < 0,01$). Основною причиною є стрес, якого зазнають тварини за транспортування та передзабійного утримання. Привертає увагу значна різниця між максимальним та мінімальним рівнем кортизолу в плазмі крові свиней в межах однієї групи. За умови стресу розщеплення глюкози та глікогену в печінці та м'язах проходило за анаеробним шляхом з утворенням лактату. На 1-, 24- та 48-у год. дозрівання м'яса свиней за промислового утримання та забою рівень рН нижчий порівняно з домашнім. Отримані результати досліджень свідчать про нижчу якість отриманої свинини за промислового вирощування і забою свиней, ніж за домашнього.

Ключові слова: безпека продуктів харчування, свинина, якість, кортизол

Якість і безпечність свинини залежить від умов утримання свиней, годівлі, клінічного стану, транспортування та умов забою. Однак провідний вплив мають процеси, які відбуваються у м'ясі свиней після забою. Глибше розуміння фізико-хімічних та біохімічних процесів, які відбуваються впродовж дозрівання та зберігання м'яса, дозволить підвищити якість свинини.

На сьогодні відомо [10, 7], що якість м'яса безпосередньо залежить від важкості стресу, який відчувала тварина до забою. Зокрема м'язові вуглеводи (глюкоза та глікоген) за дії анаеробного окиснення метаболізуються в лактат, що призводить до зниження рН м'яса. За стресу значно зростає рівень лактату в крові та, відповідно, знижується вміст м'язового глікогену. У такому випадку зниження рН м'яса впродовж його дозрівання буде надто швидким. У результаті швидкого затвердіння м'язових волокон пошкоджується їхня структура, відбувається надлишкова втрата вологи та зміна кольору, і як наслідок — зниження якості та терміну придатності м'яса [10, 7].

З огляду на це, одним з провідних чинників, які впливають на якість м'яса забійних тварин, є рівень кортизолу в крові, оскільки цей глюкокортикоїдний гормон є пусковим механізмом розвитку ланцюга стресових біохімічних реакцій. Цьому питанню сьогодні приділяє значну увагу наукова спільнота. Наприклад, вивчають закономірності впливу температури навколишнього середовища на стрес у сільськогосподарських тварин і птиці [13], досліджують кореляційні залежності між стресом та часом відпочинку тварин після транспортування до забою [8], вплив статі тварини на рівень кортизолу перед забоєм [5, 2], пори року та часу голодної дієти [1]. Однак відсутні дані щодо впливу умов утримання та забою свиней на рівень передзабійного стресу.

Метою роботи було встановити концентрацію кортизолу і лактату в крові та рівень рН м'яса свиней, отриманого в результаті промислового та домашнього вирощування і забою.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були кров та м'ясо свиней різного походження. Проби крові відбирали під час знекровлення туші у стерильні пробірки, а м'ясо — до 30 хв. після забою свиней. Всього відібрали 10 проб крові та м'яса від 10 свиней. Від кожної з туш відбирали по одній пробі м'яса масою близько 500 г з найдовшого м'яза спини в ділянці останнього грудного хребця. Перших 5 свиней утримували у промислових умовах (ФГ «Колос», Тернопільська обл.), забій провели в умовах промислового забійного цеху (ТзОВ «М'ясопром», м. Рава-Руська, Львівська обл.), а інших 5 вирощували і провели їх забій в дрібних присадибних господарствах населення (с. Новошино, Львівська обл.). Всі тварини були аналогами за породою — українська степова біла, за статтю — свиноматки, живою масою 84–95 кг та клінічно здоровими. Тварин утримували за безвигульною системою утримання свиней. Перед забоєм дослідних тварин оглушували за допомогою електричного струму.

Вміст кортизолу визначали у плазмі крові методом імуноферментного аналізу із використанням тест-наборів фірми «DRG» (Німеччина) та аналізатора фірми *Stat-Fax* (модель *4300 ChroMate*, США). Для отримання плазми крові відразу центрифугували при 3000 об./хв. У цільній крові проводили визначення вмісту лактату [12]. У пробах м'яса проводили визначення рівня рН на першу, 24- та 48-у год. зберігання згідно з ДСТУ ISO 2917-2001 «М'ясо та м'ясні продукти. Визначення рН (контрольний метод)». Зважування проб м'яса проводили з допомогою ваг *TBE-0.5*.

Одержані дані опрацьовували у програмі *Microsoft Excel*, визначаючи середню арифметичну величину (M), статистичну помилку середньої арифметичної величини (m), вірогідність різниці між середніми арифметичними двох варіаційних рядів ($P <$).

Результати й обговорення

Як видно з наведених на рис. 1 даних, за промислового утримання та забою концентрація кортизолу в плазмі крові свиней була вірогідно вищою на 39,9% ($P < 0,05$). Основною причиною є стрес, якого зазнають тварини за транспортування та передзабійного утримання. В умовах дрібних присадибних господарств населення дія стресового фактору, очевидно, є меншою у зв'язку з відсутністю потреби транспортувати тварин на далекі відстані і звичними умовами утримання перед забоєм за винятком голодної витримки впродовж 20 год перед забоєм. Дослідники неодноразово вказують на транспортування тварин як вагомий стрес-фактор та розробляють методи зниження його негативного впливу, зокрема вивчають вплив тривалості їх транспортування без зупинки на якість м'яса [3, 11], умови

мікроклімату за транспортування та передзабійної витримки [7], розташування свиней у транспорті [9] тощо. Окрім цього, зростанню стресу сприяє скупчення тварин перед забоєм в одному приміщенні.

Привертає увагу значна різниця між максимальним та мінімальним рівнем кортизолу в плазмі крові свиней у межах однієї групи. За домашнього вирощування та забою мінімальне значення показника становило 48,8 нмоль/л, а максимальне — 141,2. За промислового утримання і забою значення коливалися від 87,4 до 175,9 нмоль/л. Можна припустити, що основною причиною є індивідуальні особливості тварини щодо її реакції на стрес.

Отриманий цифровий матеріал свідчить про те (рис. 2), що вищий вміст лактату було зареєстровано у крові свиней, утримуваних в умовах свинокомплексу, забій яких провели на забійному пункті. Показники двох груп відрізнялися у 2,3 рази ($P < 0,01$). Варто зауважити, що вміст лактату в крові всіх дослідних свиней перевищував фізіологічну норму 0,8–2,5 ммоль/л для цього виду тварин у стані спокою [12]: у свиней за промислового утримання показник коливався в межах 9,7–17,4 ммоль/л, а за домашнього — 3,7–8,8 ммоль/л.

Результати вказують на те, що за умови стресу розщеплення глюкози і глікогену в печінці та м'язах проходило за анаеробним шляхом з утворенням лактату. До подібних висновків дійшли й інші дослідники [6, 9]. Однак трапляються літературні дані [4], які свідчать про залежність якості м'яса не лише від рівня стресу, а насамперед від запасів енергії у м'язових волокон під час стресу. Також запропоновано використовувати дослідження рівня лактату в крові як прогностичного маркера якості отриманої свинини.

Дослідження рівня рН у водних витяжках з відібраних проб м'яса (рис. 3) свідчить про те, що вже на першу годину після забою було встановлено різницю між зразками промислового та домашнього походження. На першу, 24- та 48-у год. зберігання м'ясо промислового походження мало кислішу реакцію рН порівняно з домашнім. На 48-у год. зберігання різниця була вірогідною ($P < 0,01$). Загалом за 48 год. рівень рН знизився на одиницю у м'яса промислового походження і на 0,8 — у домашнього.

Отримані результати є підтвердженням описаних вище закономірностей. Від рівня стресу, якого зазнавала тварина перед забоєм, залежить рН м'яса. Величина рН свіжого доброякісного м'яса — 5,6–6,2.

Зважування проб показало, що за промислового утримання тварин зниження маси м'яса становило 1,4% до кінця першої доби зберігання і ще 0,6% — до кінця другої. За домашнього походження проби м'яса втратили в середньому 0,8 та 0,5% відповідно. Отримані результати можуть свідчити про нижчу вологоємність м'яса свиней, яких утримували і забивали у промислових умовах, що є наслідком вищого рівня стресу та швидшого затвердіння м'язових волокон.

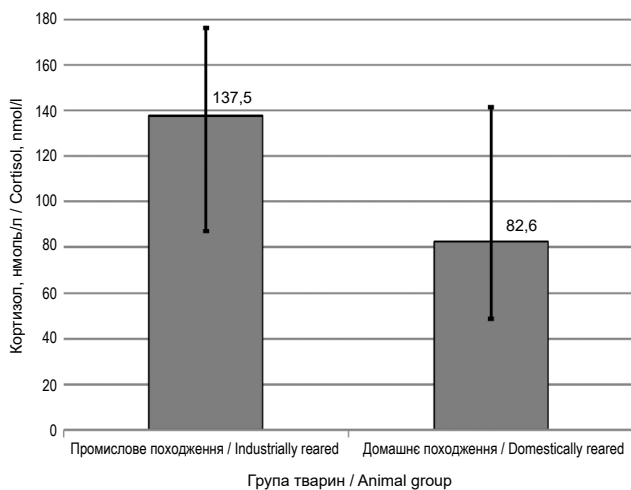


Рис. 1. Концентрація кортизолу в плазмі крові свиней (n=5)
Fig. 1. The concentration of cortisol in the blood plasma of pigs (n=5)

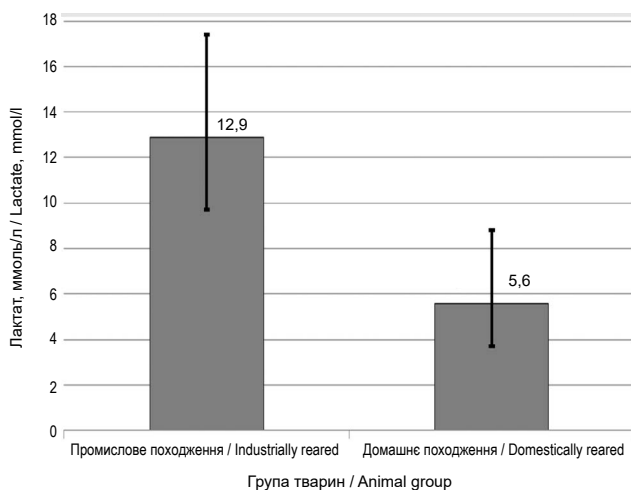


Рис. 2. Вміст лактату в крові свиней (n=5)
Fig. 2. The content of lactate in the blood of pigs (n=5)

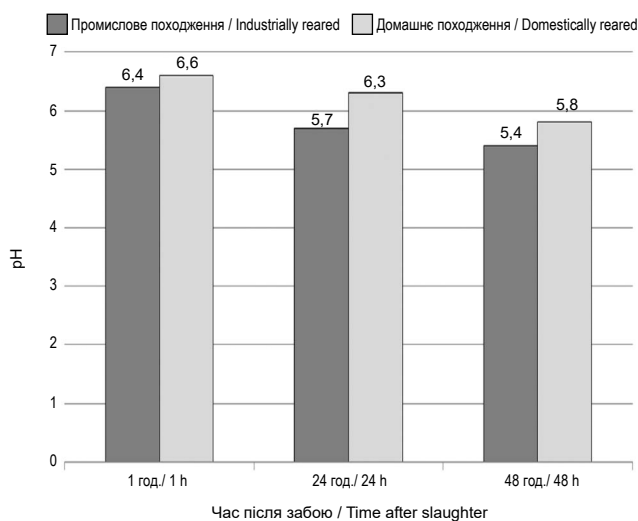


Рис. 3. Рівень pH м'яса свиней впродовж його дозрівання (n=5)
Fig. 3. pH level of pork in the process of maturation (n=5)

Висновки

У крові забійних свиней за промислового утримання, порівняно з домашнім, концентрація кортизолу є вірогідно вищою — на 39,9% ($P < 0,05$), як і вміст лактату — у 2,3 рази ($P < 0,01$). На 1-, 24- та 48-у год. дозрівання м'яса свиней за промислового утримання та забою, порівняно з домашнім, рівень pH був нижчим. Отже, за промислового вирощування та забою свиней якість отриманої свинини нижча, ніж за домашнього.

Перспективи подальших досліджень

Встановлення активності мікробних та немікробних деструкторів м'язової тканини свиней за промислового і домашнього утримання та забою.

- Dalla Costa FA, Dalla Costa OA, Coldebella A, Mello Monteiro de Lima GJ, Ferraudo AS. How do season, on-farm fasting interval and lairage period affect swine welfare, carcass and meat quality traits? *Int. J. Biometeorol.* 2019; 63 (11): 1497–1505. DOI: 10.1007/s00484-018-1527-1.
- Dokmanovic M, Ivanovic J, Janjic J, Boskovic M, Laudanovic M, Pantic S, Baltic MZ. Effect of lairage time, behaviour and gender on stress and meat quality parameters in pigs. *Anim. Sci. J.* 2017; 88 (3): 500–506. DOI: 10.1111/asj.12649.
- Hambrecht E, Eissen JJ, Newman DJ, Smits CHM, den Hartog LA, Verstegen MWA. Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions. *J. Anim. Sci.* 2005; 83 (2): 440–448. DOI: 10.2527/2005.832440x.
- Hambrecht E, Eissen JJ, Nooijen RIJ, Ducro BJ, Smits CHM, den Hartog LA, Verstegen MWA. Preslaughter stress and muscle energy largely determine pork quality at two commercial processing plants. *J. Anim. Sci.* 2004; 82 (5): 1401–1409. DOI: 10.2527/2004.8251401x.
- Jama N, Maphosa V, Hoffman LC, Muchenje V. Effect of sex and time to slaughter (transportation and lairage duration) on the levels of cortisol, creatine kinase and subsequent relationship with pork quality. *Meat Sci.* 2016; 116: 43–49. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.02.001.
- Rocha LM, Dionne A, Saucier L, Nannoni E, Faucitano L. Hand-held lactate analyzer as a tool for the real-time measurement of physical fatigue before slaughter and pork quality prediction. *Anim. Sci.* 2015; 9 (4): 707–714. DOI: 10.1017/S1751731114002766.
- Simonetti A, Perna A, Giudice R, Cappuccio A, Gambacorta E. The effect of high pre-slaughter environmental temperature on meat quality traits of Italian autochthonous pig Suino Nero Lucano. *Anim. Sci. J.* 2018; 89 (7): 1020–1026. DOI: 10.1111/asj.13007.
- Smiecińska K, Denaburski J, Sobotka W. Slaughter value, meat quality, creatine kinase activity and cortisol levels in the blood serum of growing-finishing pigs slaughtered immediately after transport and after a rest period. *Pol. J. Vet. Sci.* 2011; 14 (1): 47–54. DOI: 10.2478/v10181-011-0007-x.
- Sommavilla R, Faucitano L, Gonyou H, Seddon Y, Bergeron R, Widowski T, Crowe T, Connor L, Scheeren MB, Goumon S, Brown J. Season, transport duration and trailer compartment effects on blood stress indicators in pigs: relationship to environmental, behavioral and other physiological factors, and pork quality traits. *Animals (Basel).* 2017; 7 (2): 8. DOI: 10.3390/ani7020008.

10. Stajković S, Teodorović V, Baltić M, Karabasil N. Pre-slaughter stress and pork quality. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2017; 85: 012034. DOI: 10.1088/1755-1315/85/1/012034.
11. Tang R, Yu B, Zhang K, Chen D. Effects of supplementing two levels of magnesium aspartate and transportation stress on pork quality and gene expression of μ -calpain and calpastatin of finishing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 2008; 62 (5): 415–425. DOI: 10.1080/17450390802214183.
12. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory methods of research in biology, livestock and veterinary medicine*. A reference book. Ed. by V.V. Vlizlo. Lviv, Spolom, 2012: 764 p. (in Ukrainian)
13. Xing T, Gao F, Tume RK, Zhou G, Xu X. Stress effects on meat quality: a mechanistic perspective. *Comprehens. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2019; 18 (2): 380–401. DOI: 10.1111/1541-4337.12417.

The impact of stress on the quality of pork

I. Y. Stronskyi, M. R. Simonov, Y. S. Stronskyi, M. M. Akymyshyn
ivan1996str@gmail.com

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

The quality and safety of pork is influenced by many factors before and after slaughter. Complex of biochemical and physicochemical processes take place in the maturation of the meat. One of the key factors that affect the quality of meat from slaughtered animals is the level of cortisol in the blood, because glucocorticoid hormone is the trigger for the development of a chain of stress biochemical reactions. This paper contains results of examination of the blood concentration of cortisol and lactate and meat pH. Samples were taken in two animal groups. The first one constituted of industrially reared and slaughtered animals, and the other group consisted of animals grown and slaughtered on small farms. In the blood of industrially reared pigs in comparison with domestic animals, the concentration of cortisol is significantly higher by 39.9% ($P < 0.05$), as well as the level of lactate — 2.3-fold ($P < 0.01$). The main reason is due to the stress experienced by animals during transportation and pre-slaughter handling. There is a marked difference between the maximum and the minimum plasma level of cortisol in pigs within one group. Under stress the breakdown of glucose and glycogen in the liver and muscles took place in anaerobic condition with formation of lactate. At 1, 24 and 48 hours of pork meat maturation in case of industrial rearing and slaughtering, compared to domestic, the pH of meat was lower. Obtained results gives the possibility to suggest the lower quality of the industrially reared and slaughtered pork compared with domestic.

Key words: food safety, pork, quality, cortisol



Influence of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 on meat productivity and chemical parameters of rabbit meat

M. A. Karaman

m_caraman@mail.ru

Scientific and Practical Institute of Biotechnologies in Zootechny and Veterinary Medicine, Maximovca, Anenii Noi district, MD 6525, Republic of Moldova

The purpose of the work was to evaluate the influence of biomass of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 added to fodder on meat productivity and chemical composition of rabbit meat. The experimental and control groups of animals (each one consisting of 5 rabbits) were formed according to analogous principles of age, sex (only females), body weight, mode of maintenance and feeding. The age of rabbits used for the experiment was 45 days. The control rabbits were fed with granulated fodder produced according to the recipe developed in the laboratory of Nutrition and Forage Technologies. The rabbits in experimental group were fed with the same granulated fodder supplemented with 0.1% biomass of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01. The results of the chemical analyzes of the used fodder indicated that the elaborated fodder composition provide rabbits with all necessities for their vital activity, where as added biomass of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 do not significantly affect its chemical composition. The increase of the protein content by 0.20% and water by 1.15% were observed in meat of experimental rabbits where the content of fat was decreased for 0.71% in comparison to those of the experimental group. The supplementing of streptomycete biomass in granulated fodder had an essential effect on the weight gain of rabbits and improves the bone and meat ratio in the carcass.

Key words: meat, chemical composition, rabbits, fodder, biomass, *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01

According to chemical composition, rabbit meat is superior to beef, sheep and other domestic animals, except for turkey meat, because it contains little fat and relatively more protein [8]. Another advantage of rabbit meat is the high content of minerals, especially potassium, phosphorus, magnesium and in addition high contents of B-complex vitamins, fat-soluble A and E vitamins and very low urate content [4, 7, 9, 10, 13, 17].

Due to the high degree of digestibility, rabbit meat is recommended by nutritionists as a valuable food for growing children, elderly people, patients with cardiovascular and metabolic diseases (diabetes, gout, obesity) and gastrointestinal disorders that have an increased incidence being considered diseases of contemporary civilization [7–10, 16].

Thus, rabbit meat corresponds to the nutritional requirements of consumers, due to the positive influence in maintaining the human health [15, 17].

It is important to mention that the chemical composition of rabbit meat is different even within the same species, varying from one individual to another depending

on the ratio between different tissues, age, sex of the animal, fattening status, etc. [10, 17].

Streptomyces are widespread in nature: in the air, waters, on plant and animal remains, but especially a lot of them are found in soil. In recent years, they are considered not only as producers of antibiotics of different chemical nature, but also of other bioactive substances as enzymes, vitamins, amino acids, lipids, vaccines against human and animal infectious diseases, various drugs of controlling insects and rodents, substances with a phytohormonal activity, which influence the growth and development of plants, stimulate seed germination, and increase crop yields [6, 11, 14]. More than a hundred of medicine drugs produced by soil actinomycetes are used in modern medicine [6].

The object of the study was a strain of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01, isolated from soils of the R. Moldova and included in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology of the Academy of Sciences of R. Moldova [2].

The purpose of this studying was to evaluate changes of chemical indices of rabbit meat in response to the supplementation of granulated combined fodder with biomass of *S. levoris* CNMN-Ac-01.

Materials and Methods

The research was carried out on two lots of rabbits of three-breed crossbreeds ♀ (♀ Chinchilla × ♂ New Zealand White) × ♂ California (control lot and experimental lot) of 5 rabbits in each lot. The lots of rabbits were formed according to analogous principles of age, sex, body weight, mode of maintenance and feeding. The age of the rabbits included in the experiment was of 45 days.

The rabbits from the control lot were fed with granulated fodder produced at experimental technological station "Maximovca" according to the recipe elaborated in the Nutrition and Feed Technologies laboratory within Scientific and Practical Institute of Biotechnologies in Zootechny and Veterinary Medicine. The composition of the granulated compound fodder included: alfalfa hay flour, corn, wheat, barley, sunflower cake, soybean meal, alcohol borhot, grape pomace, limestone, vitamin and mineral premix 2% "Rabbit", and kitchen salt.

The rabbits in the experimental lot received the same granulated fodder with the addition of 0.1% biomass of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 (4.30×10^8 UFC/g). The duration of the experience was 60 days. After 60 days at the end of the experiment, rabbits of the experimental group were fed without *Streptomyces* during 18 days before slaughter. On the day of the slaughter, the age of the rabbits became 123 days.

At the end of the experiment, control slaughter of rabbits of both groups was carried out according to the corresponding method [1].

To study the chemical composition of the meat, the rabbit carcasses were cut into cuts and deboned. After deboning, minced meat was prepared and an average sample was taken. The chemical composition of the meat was examined at the Eagle lab's apparatus. It was determined the percentage ratio of water, fat, protein and collagen in the carcasses of rabbits in the control and experimental lots.

Statistical processing of the results of the experiment, in order to assess the significance of the differences consisted in grouping the material, calculating the arithmetic mean (M), error (m) and the confidence criterion [12].

Results and Discussions

Initially, the chemical composition of granulated compound feed with and without the supplementing of *S. levoris* CNMN-Ac-01 was studied. It was found that control and experimental granulated feed contain 18.18% and, respectively 18.23% of crude protein. The crude fat content in the dry matter constituted 2.83% in the experimental granulated fodder and 3.12% in the control one. Crude cellulose

in the control granulated fodder constituted 16.30%, and in the experimental granulated fodder 15.87% [5].

As a result of the study of the chemical composition of the control and experimental combined granulated forages, it was found that the biomass of *S. levoris* CNMN-Ac-01 did not significantly influence their chemical composition, and the developed granulated forage recipe provided rabbits with nutrients (crude protein, crude fat, etc.) necessary for their vital activity [5].

Until slaughter, the clinical examination of each rabbit was carried out and their body mass was determined.

As a result of the clinical examination of rabbits of control and experimental lots, were not found deviations from the physiological norm, and their general condition was good, the fur smooth and clean, the mucous membranes pale pink, without elimination or inflammatory processes.

After slaughter, were examined the carcasses and internal organs of the rabbits. The carcasses had a characteristic pink-red color (fig. 1, 2), white-yellow adipose tissue, internal organs without structural changes.

The average body mass at the age of slaughter is economically important, and some authors [1, 16] mention that it must constitute 50–60% of the weight of the adult rabbit. The better the adult rabbit is maintained before the time of slaughter, the higher is the slaughter yield and the better is the quality of the meat. Rabbits in the control lot, at the age of 123 days weighed 2790.80 g, and those in the experimental lot by 4.53% more.

One of the most important characteristics of the productive qualities that determine the effectiveness of rabbit breeding is slaughter indicators. Rabbits at earlier terms reach certain indicators of live weight and slaughter qualities [9, 10]. The meat qualities of rabbits were assessed by the pre-slaughter and slaughter weights, and the slaughter yield was calculated based on the weighing results. Table 1 shows the analysis of indicators of slaughter of rabbits.

Table 1. Results of control slaughter of rabbits (M±m, n=5)

Indicators	Control lot	Experimental lot
Slaughter qualities		
Pre-slaughter live weight, g	2790.80±49.71	2917.20±30.82
Freshly slaughtered carcass weight, g	1358.00±33.06	1478.40±30.84* (td=2,66)
Chilled carcass weight, kg (after 24 hrs)	1347.20±32.38	1467.60±30.73* (td=2,70)
Kidney weight with perineal fat, g	90.00±9.78	113.60±10.80
Slaughter weight, g	1437.20	1581.20
Slaughter output/yield, %	51.50	54.20
Morphological composition of carcasses		
Half carcass weight, g	729.33±5.70	740.33±22.30
meat	526.00±9.45	571.33±6.77
bones	202.00±11.14	166.67±13.87
meat coefficient	2.60	3.43

Note. * — P≤0.05.



Fig. 1. Rabbit experimental carcasses



Fig. 2. Rabbit control carcasses

The weight of freshly slaughtered carcass in the rabbits of the experimental group is by 120.4 g higher in relation to the control group, the difference is significant ($t_d=2.66$), as well as in the weight of the chilled carcass. The slaughter yield is the ratio of slaughter weight to live weight before slaughter expressed in percentages. It is recommended that this ratio must be increased as much as possible. Its value differs depending on the state of maintenance of the rabbit, breed and age. In the control lot the slaughter yield was 51.50%, and in the experimental one it achieved 54.20% or by 2.7% higher.

As a result of the carried out research, it was found that, in the meat of rabbits from the experimental lot, the water was 75.22%, or lower by 1.15% in comparison to control lot (table 2).

The proteins are found in the muscle tissues that is the most important component of meat. In relation to the meat of other domestic animals, the rabbit meat is characterized by the highest percentage of protein, being of great nutritional value.

In the meat of rabbits, in the experimental lot was 19.19% protein and 1.31% collagen, being respectively by 0.2% and 0.1% more compared to the control lot.

Table 2. Chemical composition of rabbit meat, %

Specify	Control lot			Experimental lot		
	M±m	δ	Cv,%	M±m	δ	Cv,%
Water	74.07±0.34	0.59	0.79	75.22±0.88	1.53	2.04
Fat	5.47±0.41	0.71	12.95	4.76±0.58	1.01	21.25
Protein	18.99±0.08	0.13	0.68	19.19±0.21	0.36	1.86
Collagen	1.30±0.03	0.06	4.28	1.31±0.05	0.09	7.11

According to some authors [1, 10, 16], the excessive fat content reduces the nutritional quality of rabbit meat by decreasing the percentage of protein, so they must be slaughtered until the age of 110–120 days. The rabbit fat is a bioactive substance and a good natural immunomodulator. It is well absorbed by human body and is better in quality than the fats of some other animals. In the meat of rabbits of the control lot, the amount of fat was 0.71% higher compared to the experimental lot.

The ratio of water : protein and water : fat in the meat of the rabbits of the control lot was 3.90:1 and 13.54:1, respectively, and of the experimental one — 3.92:1 and 15.80:1.

Conclusions

The rational use of granulated fodder with the addition of *Streptomyces levoris* CNMN-Ас-01 biomass contributed to obtaining meat with an optimal content of water, protein and fat. At the end of the research period, the body mass of rabbits of the experimental lot exceeded that of rabbits of the control lot by 4.53%, and the ratio of bones and meat in the carcass was 1:3.43 in favor of the experimental lot, which is 0.83 higher in comparison to the control group.

The chemical composition of rabbit meat in experimental group is of the best quality, juicy, with a high protein content (19,19±0.21%) and with a low amount of fat (4.76±0.60%). The increase of the content of protein by 0.20% and water by 1.15% were observed in meat of experimental rabbits where the content of fat was decreased by 0.71% if compared to those of the experimental group.

Prospects for Further Research

In further studies it will be developed a pilot batch of a biological product containing biomass and fluid culture of the *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 strain. It is planned to conduct pilot production tests of different concentrations of biomass from 0.1% to 1.0% (in the composition of granular feed) and fluid culture from 0.5% to 2.0% (with its addition into the water) on rabbits. For the reliability of the results, the experiment will be conducted on a large number of animals.

- Bura M. Creșterea iepurilor de casă în România. Sistemul propriu. *Ferma*. 2005; 1: 59 p. (in Romanian)
- Burțeva S, Bîrsa M, Achiri I, Chiselită O. The effect on cultural, antimicrobial and growth-regulatory properties of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 by using difference methods of storage. 2nd International Conference on Microbial Biotechnology, Chisinau, Moldova, 2014: 108 p. (in Moldovan)
- Compoziția chimică a cărnii. *Meat Milk*. 2013. Available at: <http://www.meat-milk.ro/compozitia-chimica-a-carnii> (in Romanian)
- Gidenne T, Carabaño R, Badiola I, Garcia J, Licois D. L'écosystème caecal chez le lapin domestique: Impact de la nutrition et de quelques facteurs alimentaires Conséquences sur la santé digestive du lapereau. *12 J. Recher. Cunicole*. 2007: 59–72. Available at: <http://www.journees-de-la-recherche.org/PDF/Sa-gidenne.pdf> (in French)
- Caraman M, Moscalic R, Coșman V, Burțeva S, Bîrsa M. Impact of biomass of *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 and some external factors on quality of combined fodder for rabbits. *Sci. Papers, Ser. Managem., Econ. Engin. Agricult. Rural Devel*. 2019; 19 (1): 97–101. Available at: <http://managementjournal.usamv.ro/index.php/scientific-papers/1827-impact-of-biomass-of-streptomyces-levoris-cnmn-ac-01-and-some-external-factors-on-quality-of-combined-fodder-for-rabbits> (in Romanian)
- Chiselită O, Burțeva S, Bîrsa M, Bulimaga V, Vasilciuc, A. Viability and antimicrobial activity of streptomyces strains from NCNM after lyophilization. *Studia Univer. Moldaviae, Ser. Științe Reale și ale Naturii*, 2016; 1 (91): 61–71. Available at: <http://ojs.studiamsu.eu/index.php/real-nature/article/view/406> (in Moldovan)
- Liutskanov PI, Mashner OA, Evtodienko SA. The morph-productive qualities ofmetis rabbits resulting from crossing of different breeds. *Effect. Rabbit Breed. Anim. Husbandry*. Cherkasy, 2019; 5: 7–16. DOI: 10.37617/2708-0617.2019.5.7-16. (in Ukrainian)
- Macovschi B. Un aliment dietetic carnea de iepure. *Lumea Satului*. 2014. Available at: <https://www.lumeasatului.ro/articole-revista/1452-un-aliment-dietetic-carnea-de-iepure.html> (in Romanian)
- Mardari T. Caracteristicile tehnologice a cărnii iepurelui de casă. *IBN*, 2010: 209 p. Available at: https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/209-212_5.pdf (in Moldovan)
- Mardari T. Variația compoziției chimice a cărnii de iepure de casă în funcție de vârstă, *Știința Agricolă*. 2015; 2: 88–92. Available at: http://dspace.uasm.md/bitstream/handle/123456789/4289/mardari_88-92.pdf?sequence=1&isAllowed=y (in Moldovan)
- Palmer T, Hutchings MI. Protein secretion in streptomyces. In: *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*. Ed. by P. Dyson. Caister Academic Press, 2011: 87–104. Available at: <https://www.caister.com/hsp/abstracts/streptomyces/04.html>
- Plokhinskiy NI. *Biometrics Guide for Animal Technicians*. Moscow. 1969: 256 p. (in Russian)
- Priguza C, Stamati V, Timmer D, Sekula M. Totul despre creșterea iepurilor de casă: sfaturi utile pentru o afacere profitabilă. *Agrobiznes*. 2015. Available at: <https://agrobiznes.md/totul-despre-cresterea-iepurilor-de-casa-sfaturi-utile-pentru-o-afacere-profitabila.html> (in Moldovan)
- Rudic V, Popova N, Crivova A, Boortseva S, Rastimeshina I. Biosynthesis of lipoxygenase, lipids and fatty acid composition of *Actinomycetes* and Yeast. *Roum. Biotechnol. Lett*. 2002; 7 (3): 711–716. Available at: <https://e-repository.org/rbl/vol.7/iss.3/3.pdf> (in Romanian)
- Sautkin A. Veterinary and sanitary assessment of rabbit meat when using the drug "Amisel" in their diet. Diss. Doc. Sci., Moscow, 2010: 137 p. (in Russian)
- Șumanschi A, Macari A, Dabija T, Liuțcanov P, Paniș G. *Tehnologii semi intensive și intensive de creștere și exploatare a iepurilor de casă*. Print-Caro. 2011: 56 p. (in Moldovan)
- Tarnaucanu G. Rezumatul tezei "Cercetări privind caracterizarea statusului morfofiziologic la iepurele de casă și de câmp în corelație cu proprietățile senzoriale și nutritiv-biologice ale cărnii". 2013. Available at: http://www.uaiasi.ro/ro/files/doctorat/2013/2013_feb_Tarnaucanu_Gabriela_ro.pdf (in Romanian)

Вплив *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 на м'ясну продуктивність і хімічні показники м'яса кроликів

M. A. Karaman

m_caraman@mail.ru

Науково-практичний інститут біотехнології в зоотехнії і ветеринарній медицині Республіки Молдова, с. Максимівка, Новоаненський р-н, МД 6525, Республіка Молдова

Метою роботи було оцінити вплив біомаси *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01, доданої до корму, на м'ясну продуктивність і хімічний склад м'яса кролів. Експериментальні та контрольні групи тварин (кожна по 5 кроликів) були сформовані за принципами аналогів: за віком, статтю (тільки самки), масою тіла, режимом утримання та годування. Вік кроликів, використаних в експерименті, становив 45 днів. Контрольні кролики отримували гранульований корм, вироблений за рецептурою, розробленою в лабораторії кормів і технології годівлі. Кролики дослідної групи отримували однаковий гранульований корм з додаванням 0,1% біомаси *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01. Результати хімічного аналізу застосованого корму показали, що розроблений кормовий склад забезпечує кроликів всім необхідним для життєдіяльності, тоді як додана біомаса *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01 істотно не впливає на його хімічний склад. У м'ясі дослідних кроликів спостерігали збільшення вмісту білка на 0,20% і води на 1,15%, тоді як вміст жиру знизився на 0,71% порівняно з цим показником у контрольній групі. Додавання біомаси стрептоміцетів до гранульованого корму значно вплинуло на приріст кроликів і поліпшило співвідношення кістки до м'яса : м'ясо в туші.

Ключові слова: м'ясо, хімічний склад, кролики, корм, біомаса, *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01



Зв'язок структурних ліпідів вовни овець з її окремими макроструктурними компонентами, хімічним складом та фізичними показниками

П. В. Стапай, Н. П. Стахів, В. М. Ткачук, О. О. Смоляннінова

nadiia_sudir@ukr.net

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Представлено дані про особливості структурної організації, хімічного складу та фізичних показників вовни овець різних порід залежно від типу їхнього волосяного покриву. Встановлено, що найменший вміст β -кератози (10,2%) і найбільший вміст α -кератози (64,4%) є в пухових волокнах вівцематок української гірськокарпатської породи. Тонка вовна асканійських тонкорунних вівцематок та вівцематок прекос містить, відповідно, 12,9 і 11,5% β -кератози, а найбільше її в остьових волокнах гірськокарпатських вівцематок (15,1%). Проте в пухових волокнах цих маток і маток породи прекос найбільший вміст γ -кератози (28,4 і 28,7%), загального Сульфуру і цистину (2,9 і 2,9 та 11,2 і 11,5%), натомість в остьових волокнах найменший вміст як γ -кератози (58,2%), так і Сульфуру та цистину (2,7 та 9,0%). Встановлено, що різні категорії волокон містять різну кількість загальних ліпідів. Найменше вільних ліпідів — у тонкому пуху гірськокарпатських маток (0,75%), тонкій вовні маток прекос (0,71%) й асканійських тонкорунних (0,83%), а найбільше — у напівгрубій ості гірськокарпатських овець (1,39%). Для зв'язаних ліпідів встановлено діаметрально протилежну відмінність: найбільшу кількість ліпідів виявлено в тонкому пуху (1,85%), а найменшу — у напівгрубій ості (1,47%). В остьових волокнах найбільше вільних ліпідів припадає на фракцію неестерифікованого холестеролу (64,9% проти 56,5% в пуху, 57,7 у вовні асканійських тонкорунних маток і 63,3% — у прекосів), а найменше у них фракцій неестерифікованих жирних кислот (9,6%) та ще однієї стеринної фракції (9,2%). У волокнах овець породи прекос найменший вміст естерифікованого холестеролу (8,9%) і найбільший вміст неестерифікованих жирних кислот. Натомість фракція полярних ліпідів майже на 50% складається з керамідів і сульфоліпідів (понад 20%). Водночас у фракції зв'язаних ліпідів на кераміди припадає не більше 40%. Фізичні показники вовни певною мірою відображають особливості її структури та хімічного складу. Так, остьові волокна мають найвищу міцність (9,1 сН/текс) і тонину (48,8 мкм), що закономірно, оскільки в ості є найбільший вміст β -кератози, тобто кутикули, і найбільша кількість ліпідів. Натомість найтоншими є пухові волокна (16,9 мкм), вони ж найслабші (7,0 сН/текс) — саме ці волокна містять найменше β -кератози. Отже, між вмістом фракції вільних ліпідів та діаметром волокон є пряма залежність ($r = 0,996; 0,887; 0,746$, відповідно, для пуху, тонкої та напівгрубої вони), а між вмістом зв'язаних ліпідів — обернена ($r = -0,993; -0,995; -0,694$).

Ключові слова: вівці, вовна, структура, ліпіди, кератози, Сульфур, цистин, міцність, тонина волокон

Підвищення вовнової продуктивності овець та покращення якості вовни було і залишається актуальним завданням. Воно неможливе без розкриття механізмів вовноутворення і низки питань, пов'язаних з дослідженням структури і хімічного складу вовни — тобто показників, які визначають фізичні властивос-

ті волокон, а отже і технологічну якість цієї сировини загалом. Як відомо, основним компонентом вовняних волокон, що визначає їхні структурні та фізико-хімічні властивості, є кератин, який належить до групи нерозчинних протеїнів зі значним вмістом Сульфуру [15]. Чиста, суха і знежирена вовна майже на 98% скла-

дається з цього протеїну. Відомо, що після розриву дисульфідних зв'язків за допомогою хімічних чинників кератин вовни розчиняється у слаболужних розчинах, з яких фракціонуванням виділяють три основні фракції, названі умовно α -, β - і γ -кератозами [4, 5, 16]. Альфа-кератоza (50–60% маси волокна) характеризується низьким вмістом Сульфуру (близько 2%), відповідає протеїну макро- і мікрофібрил клітин коркового шару. Бета-кератоza — це мембрани веретеноподібних клітин і клітинних ядер та найстійкіші фібрили коркового шару, а також оболонка волокна, тобто його кутикула. На її частку припадає усього 10–15% маси волокна. Гамма-кератоza — міжволокниста субстанція або цементуюча речовина, тобто матрикс волокна (близько 30% маси вихідної вовни), характеризується як протеїн з високим вмістом Сульфуру (в середньому 6%).

Структура кератинових волокон містить також невелику кількість ліпідів (до 3% від сухої маси волокна), які є як у вільному, так і ковалентно зв'язаному стані через ефірний чи тіоефірний зв'язок з протеїнами волоса, є головними компонентами плазматичних мембран клітин волоса і визначають його поверхневі властивості, зокрема формування водонепроникного шару [6, 9, 10, 16, 17]. За даними [22], до складу цих ліпідів входять (мг/г): жирні кислоти — 2,4–4,0, холестерол сульфат — 0,7–2,9, кераміди — 0,6–1,4, холестерол — 0,3–1,4 і невелика кількість жирних спиртів. Значна кількість ліпідів кератину припадає на сульфоліпідів, які утворюють різні за кількістю комплекси з протеїнами. Вовна з високим вмістом Сульфуру і сульфоліпідів має кращі фізико-механічні показники, зокрема міцність волокон на розрив [2, 3]. Наявність ліпідів у волокнах може впливати на їхні гідрофобні властивості [14], дифузію та сорбцію, стійкість до кліматичних умов, процеси поживтіння, а також на фізичні властивості волокон при розтягуванні, фарбуванні [12, 13]. Показано, що на вміст і склад структурних ліпідів вовни впливають вікові, сезонні та аліментарні фактори [18, 19].

Матеріали і методи

Для досліджень використано зразки вовни річного росту повновікових вівцематок асканійської тонкорунної породи, породи прекоc та вівцематок української гірськокарпатської породи. Вовну гірськокарпатських овець розділяли окремо на тонкий пух і напівгрубу ость. Зразки вовни спочатку промивали у нейтральному миючому засобі за температури води +40...+50°C, висушували та очищали від сторонніх домішок, відтак екстрагували залишковий жир (віск) в апараті Соксклетта чотирьохлористим вуглецем. Для отримання внутрішніх (структурних) ліпідів волокна, після доведення їх до постійної сухої маси за температури +105°C, подрібнювали до порошкоподібного стану в металевій ступці за

допомогою рідкого азоту. Наважку порошку (2 г) поміщали у знежирений пакет з фільтрувального паперу і екстрагували в апараті Соксклетта хлороформ-метаноловою сумішшю (2:1) впродовж 5 год.

Загальну кількість ліпідів визначали ваговим методом, а їхній склад — методом тонкошарової хроматографії з використанням силікагелю марок L 5/40 і LS 5/40. Розділення загальних ліпідів на окремі класи проводили у системі петролейний і діетиловий ефір у співвідношенні 4:1, а полярних ліпідів — у системі хлороформ-метанол-вода (65:25:4). Окремі класи ліпідів ідентифікували порівнянням хроматограм зразків з хроматограмою, на яку були нанесені окремі свідки, а їх кількісне визначення — вимірюванням на спектрофотометрі інтенсивності зафарбування після спалювання окремих ліпідних плям селікагелю концентрованою сірчаною кислотою [20]. Для отримання зв'язаних структурних ліпідів використовували методику лужного омилення за P. W. Wertz [21].

Вміст Сульфуру визначали за методом І. А. Макара та співавторів [11], а цистину — за методом Фоліна-Марензі у модифікації Г. Цана і К. Траумана [23]. Тонину вовни визначали за допомогою мікрометра, а міцність волокон на розрив — на апараті ДШ-3М [7].

Протеїни вовни (кератоzi) фракціонували окисненням надмурашиною кислотою з наступним розчиненням у лузі [1] та відновленням за допомогою їх постадійної екстракції із застосуванням розчину 2-меркаптоетанолурізних концентрацій за присутності денатурувальних агентів [8].

Метою наших досліджень було з'ясувати зв'язок структурних ліпідів волокон з їхніми окремими макроструктурними компонентами, хімічним складом та фізичними показниками вовни овець різних порід, зокрема асканійської тонкорунної, української гірськокарпатської та прекоc.

Результати й обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що найменший вміст β -кератоzi є у пухових волокнах гірськокарпатських вівцематок — 10,2%. У тонкій вовні асканійської тонкорунної породи та породи прекоc є приблизно однакова кількість протеїнів цієї фракції — відповідно, 12,9 і 11,5%. Найбільша їх кількість міститься в остьових волокнах овець української гірськокарпатської породи — 15,1% (табл. 1).

Отримані нами дані щодо вмісту у вовні овець різних порід загального Сульфуру і цистину узгоджуються з даними макроструктури вовни. Так, для пухових волокон вівцематок української гірськокарпатської породи та вівцематок породи прекоc, які містять найбільшу кількість γ -кератоzi, характерний найвищий вміст Сульфуру та цистину — 2,9 і 2,9 та 11,2 і 11,5% відповідно. Натомість в остьових волокнах значно нижчий вміст як γ -кератоzi, так і Сульфуру і цистину — 2,7 і 9,0%. І це закономірно, адже саме γ -кератоza, як

уже було сказано, має найбільший вміст Сульфуру, який переважно міститься у цистині (рис. 1).

У результаті проведених досліджень встановлено (рис. 2), що різні категорії вовняних волокон містять різну кількість загальних ліпідів. Найменшу кількість вільних внутрішніх ліпідів виявлено в тонкому пуху гірськокарпатських маток — 0,75%, тонкій вовні маток породи прекос — 0,71%, асканійських маток — 0,83%. Найбільшою їх кількість була у напівгрубій вовні гірськокарпатських маток — 1,39%. Стосовно зв'язаних ліпідів, то навпаки, найбільшу їх кількість виявлено в тонкому пуху — 1,85%, а найменшу — в напівгрубій ості — 1,47%.

Але, якщо підсумувати загальну кількість вільних і зв'язаних ліпідів, то їх кількість у різних категоріях волокон майже однакова. Зокрема, пух містить 2,6%, а вовна асканійських тонкорунних овець, овець породи прекос і ость гірськокарпатських маток — відповідно, 2,7, 2,3 і 2,9%.

Такий розподіл загальних ліпідів пов'язаний зі структурною будовою волокна. Зокрема, вільні ліпіди локалізовані головню в кутикулі, яка кількісно становить не більше 15%. Імовірно, частка цих ліпідів походить із поверхневого воску, але більшою мірою ті, які втратили зв'язок з протеїнами волокна ще у процесах його кератинізації або інших причин. Отже, різне співвідношення вільних і зв'язаних ліпідів в пуху, тонкій і напівгрубій вовні можна пояснити особливостями структурної організації цих волокон. Можна також припустити, що між вмістом структурних ліпідів вовни і β-кератозою існує позитивна кореляція. Проте це більшою мірою стосується вільної фракції ліпідів. Водночас найбільшу кількість зв'язаних ліпідів (1,9%) містять пухові волокна, які характеризуються найбільшою кількістю α-кератози — 61,4%, і найменшою кількістю β-кератози — 10,2%.

За умов наших досліджень методом тонкошарової хроматографії у системі петролейний ефір-диетилловий ефір (4:1) внутрішні ліпіди вовни розділялися на чотири фракції, а у системі хлороформ-метанол-вода (65:25:4) — на п'ять фракцій.

Аналізуючи дані якісного складу ліпідів, ми зауважили (табл. 2), що в остьових волокнах гірськокарпатських маток найбільша кількість вільних ліпідів припадає на фракцію неестерифікованого холестеролу: 64,9% проти 56,5% в пуху, 57,7 у вовні асканійських тонкорунних маток і 63,3% — маток породи прекос. Усі інші фракції, особливо фракція естерифікованого холестеролу, є в меншій кількості, а найменшу кількість цієї фракції (8,93%) виявлено у ліпідах вовни овець породи прекос. Натомість вовна цих тварин містить найбільшу кількість неестерифікованих жирних кислот. Ми не встановили суттєвих відмінностей у складі ліпідів, які розділяли у полярній системі (хлороформ-метанол-вода), окрім вірогідно більшого вмісту сульфоліпідів і меншого вмісту гліколіпідів найвищої полярності у вовні вівцематок породи прекос.

Таблиця 1. Макроструктура вовни овець різних порід, % (M±m, n=4)
Table 1. Macrostructure of different breeds sheep wool, % (M±m, n=4)

Кератоза / Keratosis	Порода / Breed			
	Асканійська тонкорунна / Ascanian fine-woolen	Прекоп / Prekos	Українська гірськокарпатська / Ukrainian Carpathian Mountain	
			Пух / Thin wool	Ость / Guard fibers
α	61,18±2,84	59,83±1,95	61,37±3,30	58,23±1,60
β	12,95±0,47	11,47±0,61	10,23±0,52**	15,10±0,64***
γ	25,87±2,64	28,70±2,28	28,40±2,98	26,67±1,25

Примітка. Тут і надалі статистично вірогідні різниці між різними породами: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001; між пуховими та остьовими волокнами української гірськокарпатської породи: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001
Note. Here and in the future statistically significant differences between different breeds: * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0.001; between thin wool and guard fibers of Ukrainian Carpathian Mountain Breed: * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0.001.

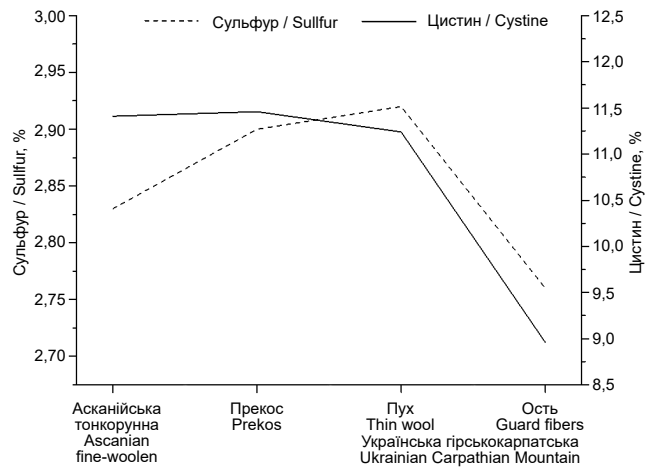


Рис. 1. Вміст Сульфуру і цистину у вовні овець різних порід
Fig. 1. Sulfur and cystine content in the wool of sheep of different breeds

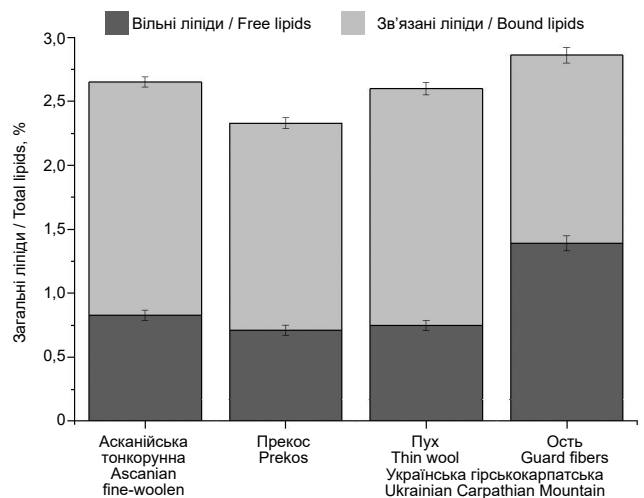


Рис. 2. Вміст внутрішніх ліпідів у вовні овець різних порід
Fig. 2. The internal lipids content in the wool of sheep of different breeds

Таблиця 2. Склад вільних внутрішніх ліпідів вовни овець різних порід, % (M±m, n = 3–5)
Table 2. Free internal lipids composition of different breeds sheep wool, % (M±m, n = 3–5)

Ліпіди Lipids	Порода / Breed			
	Асканійська тонкорунна Ascanian fine-woolen	Прекоcos Prekos	Українська гірськокарпатська Ukrainian Carpathian Mountain	
			Пух / Thin wool	Ость / Guard fibers
<i>Ліпіди, розділені у системі петролейний ефір-диетиловий ефір (4:1) / Lipids separated in the system petroleum ether-diethyl ether (4:1)</i>				
Неестерифікований холестерол Unesterified cholesterol	57,66±1,37	63,28±0,42*	56,54±2,63	64,92±0,79***
НЕЖК / Non-esterified fatty acids	10,35±0,53	14,58±0,76**	10,41±0,83	9,60±0,36
Стеринова фракція / Sterol fraction	12,51±0,97	13,21±0,70	12,54±0,74	9,25±0,49*+
Естерифікований холестерол Esterified cholesterol	19,49±0,90	8,93±0,36***	20,51±1,10	16,25±0,72**
<i>Ліпіди, розділені у системі хлороформ-метанол-вода (65:25:4) / Lipids separated in the chloroform-methanol-water system (65:25:4)</i>				
Гліколіпіди найвищої полярності Highest polarity glycolipids	6,17±0,15	3,92±0,20***	5,95±0,30	5,83±0,30
Холестерол сульфат Cholesterol sulfate	10,55±0,34	9,97±0,40	10,62±0,42	10,26±0,27
Глюкозилцераміди Glucosylceramides	13,79±0,38	14,03±0,59	12,77±0,50	15,32±0,66+
Сульфоліпіди / Sulpholipids	20,52±0,30	23,03±0,90*	20,84±0,27	20,43±0,89
Цераміди / Ceramides	48,98±0,43	49,05±0,88	49,83±0,47	48,16±0,53

Таблиця 3. Склад зв'язаних внутрішніх ліпідів вовни овець різних порід, % (M±m, n = 3–5)
Table 3. The composition of bound internal lipids of different breeds sheep wool, % (M±m, n = 3–5)

Ліпіди Lipids	Порода / Breed			
	Асканійська тонкорунна Ascanian fine-woolen	Прекоcos Prekos	Українська гірськокарпатська Ukrainian Carpathian Mountain	
			Пух / Thin wool	Ость / Guard fibers
<i>Ліпіди, розділені у системі петролейний ефір-диетиловий ефір (4:1) / Lipids separated in the system petroleum ether-diethyl ether (4:1)</i>				
Неестерифікований холестерол Unesterified cholesterol	26,47±0,95	24,06±0,66	25,49±1,01	29,10±0,96*
НЕЖК / Non-esterified fatty acids	16,51±1,00	20,10±0,77*	16,61±0,38	22,50±0,60****
Стеринова фракція / Sterol fraction	16,58±0,62	16,39±0,53	16,58±0,58	16,49±0,83
Естерифікований холестерол Esterified cholesterol	40,43±1,27	39,45±1,46	41,33±0,82	31,91±0,86****
<i>Ліпіди, розділені у системі хлороформ-метанол-вода (65:25:4) / Lipids separated in the chloroform-methanol-water system (65:25:4)</i>				
Гліколіпіди найвищої полярності Highest polarity glycolipids	5,20±0,24	4,24±0,29	5,20±0,47	5,44±0,52
Холестерол сульфат Cholesterol sulfate	3,01±0,21	4,17±0,15	2,89±0,21	4,76±0,30****
Глюкозилцераміди Glucosylceramides	12,78±1,03	13,63±0,83	12,80±0,33	13,04±0,48
Сульфоліпіди / Sulpholipids	3,59±0,23	4,84±0,54	3,66±0,23	3,51±0,17
Цераміди / Ceramides	15,88±0,99	15,59±0,62	16,48±0,28	12,80±0,33****
Сульфоліпіди / Sulpholipids	21,92±1,01	22,28±0,45	21,43±0,51	21,07±0,26
Цераміди / Ceramides	37,63±0,63	35,27±0,76*	37,54±0,36	39,39±0,67

За умов наших дослідів встановлено, що суттєвіші зміни окремих ліпідних компонентів проявляються з боку фракції зв'язаних ліпідів. Зокрема, з даних табл. 3 видно, що процентне співвідношення окремих класів ліпідів, виділених з різних категорій волокон, є різним. Але при цьому дуже важко визначити, за рахунок яких класів ліпідів збільшується чи зменшується вміст загальних ліпідів.

Найбільшу кількість загальних зв'язаних ліпідів зафіксовано в пуху, а їхнє процентне співвідношення мало чим відрізняється від тонкої мериносової вовни. Водночас у напівгрубій вовні ці різниці суттєвіші. Зокрема, у складі цих ліпідів переважають фракції неестерифікованого холестеролу, неестерифікованих жирних кислот, а також неідентифікованих нами фракцій полярних ліпідів на тлі зменшення фракції естерифікованого холестеролу і фракції глікозилцерамідів. Тобто вказані особливості співвідношення окремих класів зв'язаних ліпідів практично аналогічні.

Результати досліджень фізичних показників вовни до певної міри відображають особливості структури та хімічного складу волокон різних порід овець. На рис. 3 видно, що остьові волокна гірськокарпатських маток мають найвищі показники міцності (9,1 сН/текс) і тонини (48,8 мкм). Це закономірно, оскільки в ості найбільший вміст β-кератози, тобто кутикули, і саме ці волокна містять найбільшу кількість внутрішніх ліпідів.

Натомість найтоншими є пухові волокна — 16,9 мкм, вони ж характеризуються найменшою міцністю — 7,0 сН/текс. Причому, як було показано вище, саме ці волокна містять найменшу кількість β-кератози. Волокна овець асканійської тонкорунної породи та породи прекос займають проміжне значення як за показниками тонини — 20,4 і 20,8 мкм, так і міцності — 8,2 і 7,1 сН/текс.

Таким чином, між вмістом фракції вільних ліпідів та діаметром волокна існує пряма залежність — $r=0,996$; $0,887$; $0,746$ для пуху, тонкої та напівгрубої вовни відповідно; між вмістом зв'язаних ліпідів залежність обернена — відповідно, $r= -0,993$; $-0,995$; $-0,694$.

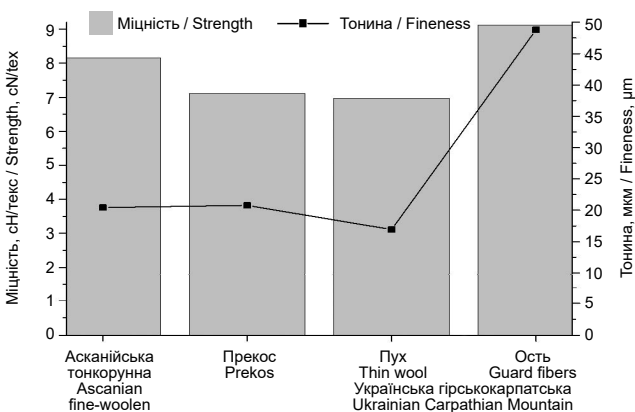


Рис. 3. Фізичні показники вовни овець різних порід
 Fig. 3. Physical indicators of different breeds sheep wool

Отримані дані чітко вказують на особливості структурної організації, хімічного складу та фізичних властивостей вовни овець різних порід залежно від типу волосяного покриву.

Висновки

1. Породні різниці у вмісті структурних ліпідів пов'язані з особливостями структурної будови вовняних волокон різної тонини, а саме з різним вмістом α-, β- і γ-кератоз: у волокнах з більшим діаметром і більшим вмістом кутикули (β-кератози) є найбільший вміст вільних внутрішніх ліпідів (1,4%) і найменший — зв'язаних. Між вмістом фракції вільних ліпідів та діаметром волокна існує пряма залежність ($r=0,996$; $0,887$; $0,746$ відповідно для пуху, тонкої та напівгрубої вовни), а між вмістом зв'язаних ліпідів — обернена ($r= -0,993$; $-0,995$; $-0,694$).

2. У пухових волокнах вівцематок української гірськокарпатської породи та вівцематок породи прекос, в яких найбільша кількість γ-кератози, найбільший вміст загального Сульфур у і цистину, а в остьових волокнах найнижчий вміст як γ-кератози, так і Сульфур у і цистину.

Перспективи подальших досліджень

Пов'язані з охопленням більшої кількості порід овець різного напрямку продуктивності, а також впливу сезонних та годівельних чинників на вміст і склад структурних ліпідів і їх ролі у формуванні фізико-хімічних властивостей вовняних волокон.

- Asquith RS, Parkinson DS. The morphological origin and reactions some keratin fractures. *Textile Res. J.* 1966; 36 (12): 1064–1071. DOI: 10.1177/004051756603601206.
- Brosche T, Dressler S, Platt D. Age-associated changes in integral cholesterol and cholesterol sulphate concentrations in human scalp hair and finger nail clippings. *Aging Clin. Exp. Res.* 2001; 13 (2): 131–138. DOI: 10.1007/BF03351535.
- Brosche T, Platt D, Dressler S. Age-associated variations of integral cholesterol and cholesterol sulphate concentrations in human hair and finger nail. *Deutsche Gesellschaft für Altersforschung* 10. 2000; 13 (2): 163–169.
- Gillespie JM. The proteins of hair and other hard α-keratins. In: Goldman RD, Steinert PM. *Cellular and Molecular Biology of Intermediate Filaments*. New York, Springer, 1990: 95–128. DOI: 10.1007/978-1-4757-9604-9_4.
- Gillespie JM. The structural proteins of hair: isolation, characterization and regulation of biosynthesis. In: *Physiology, Biochemistry of the Skin*. Ed. by L. A. Goldsmith. Oxford University Press. 1991; 1: 625–659. ISBN 978-0195-056-129.
- Imokawa G, Kuno H, Kawai M. Stratum corneum lipids as a bound-water modulator. *J. Invest. Dermatol.* 1991; 96 (6): 845–851. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12474562.
- Kalinin VV, Mutaev MM, Mglinc AA. *Method of Testing Wool Fibers for Tension and Breaking Strength*. Dubrovysia, VIZ. 1970: 15 p. (in Russian)

8. Kon R, Nakamura A, Hirabayashi N, Takenchi K. Analysis of damaged components of permed hair using biochemical technique. *J. Cosmet. Sci.* 1998; 49: 13–22. Available at: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.574.6064&rep=rep1&type=pdf>
9. Lazo ND, Meine JG, Downing DT. Lipids are covalently attached to rigid corneocyte protein envelopes existing predominantly as-sheets: a solid-state nuclear magnetic resonance study. *J. Invest. Dermatol.* 1995; 105 (2): 295–300. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12318985.
10. Lee WS, Oh TH, Chun SH, Jeon SY, Lee EY, Lee S, Park WS, Hwang S. Integral lipid in human follicle. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2005; 10 (3): 234–237. DOI: 10.1111/j.0022-202X.2005.10113.x.
11. Makar IA, Gumenyuk VV, Lukashevsky ZF, Stapay PV. *Study of Wool Formation Processes*. Methodical recommendations. Lviv, 1989: 19–20. (in Ukrainian)
12. Marti M, Manich AM, Ussman MH, Bondia I, Parra JL, Coderch LJ. Internal lipid content and viscoelastic behavior of wool fibers. *J. Appl. Polymer Sci.* 2004; 92 (5): 3252–3259. DOI: 10.1002/app.20363.
13. Marti M, Ramirez R, Barba C, Coderch L, Parra J. Influence of internal lipid on dyeing of wool fibers. *Textile Research Journal.* 2010; 80 (4): 365–373. DOI: 10.1177/0040517509339224.
14. Marti M, Ramirez R, Manich AM, Coderch L, Parra J. Thermal analysis of merino wool fibres without internal lipids. *J. Appl. Polymer Sci.* 2007; 104 (1): 545–551. DOI: 10.1002/app.25586.
15. Posati T, Giuri D, Nocchetti M, Sagnella A, Gariboldi M, Ferroni C, Stoggiu G, Varchi G, Zamboni R, Aluigi A. Keratin-hydrotalcites hybrid films for drug delivery applications. *Eur. Polymer J.* 2018; 105: 177–185. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2018.05.030.
16. Saha S, Arshad M, Zubair M, Ullah A. Keratins a Biopolymer. In: *Keratin as a Protein Biopolymer*. Springer, Cham. 2019: 163–185. DOI: 10.1007/978-3-030-02901-2_6.
17. Taha TA, Mullen TD, Obeid LM. A house divided: ceramide, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate in programmed cell death. *BBA Biomembranes.* 2006; 1758 (12): 2027–2036. DOI: 10.1016/j.bbamem.2006.10.018.
18. Tkachuk VM, Havrylyak VV, Stapay PV, Sedilo HM. Comparative characteristics of internal lipids in wool fibres of different types. *Biol. Tvarin.* 2013; 15 (2): 131–139. DOI: 10.15407/animbiol15.02.131. (in Ukrainian)
19. Tkachuk VM, Stapay PV. The lipid content seasonal dynamics in wool of ewes of Ukrainian mountain Carpathian breed with natural color of wool cover. *Sci. Tech. Bull. Inst. Anim. Biol. State Res. Cont. Inst. Vet. Drugs Feed Add.* 2010; 11 (2–3): 70–74. (in Ukrainian)
20. Tkachuk VM, Stapay PV, Kyryliv JI. The content and composition of internal lipids in the wool of ewes and lambs under conditions of feeding ewes elevated levels of mineral elements and filterperlite. *Sci. Tech. Bull. Inst. Anim. Biol. State Res. Cont. Inst. Vet. Drugs Feed Add.* 2012; 13 (3–4): 97–102. (in Ukrainian)
21. Wertz PW, Downing TD. Integral lipids of human hair. *Lipids.* 1988; 23 (9): 878–881. DOI: 10.1007/BF02536208.
22. Wertz PW, Downing TD. Integral lipids of mammalian hair. *Compar. Biochem. Physiol. Part B. Compar. Biochem.* 1989; 92 (4): 759–761. DOI: 10.1016/0305-0491(89)90264-2.
23. Zahn H, Traumann K. Zur Cystinanalyse von Wolle, Arbeitsvorschriften und Anwendungsbeispiele. *Melliand Textilber.* 1954; 35: 1069–1973. (in German)

The relationship between structural lipids of sheep wool with its individual macrostructural components, chemical composition and physical indicators

P. V. Stapai, N. P. Stakhiv, V. M. Tkachuk, O. O. Smolianinova
nadiia_sudir@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

The data on the peculiarities of the structural organization, chemical composition and physical parameters of sheep wool of different breeds depending on the type of their hair are presented. It has been found that the down fibers of ewes of the Ukrainian Carpathian Mountain breed possess the lowest content of β -keratosis (10.2%) and the highest content of α -keratosis (64.4%). In the fine wool of Ascanian ewes and Prekos ewes, the content of β -keratosis is 12.9 and 11.5%, respectively, and the highest content of it (15.1%) is contained in the guard fibers of the Carpathian Mountain ewes. However, in the down fibers of these ewes and the Prekos breed ewes, there is the highest content of γ -keratosis — 28.4 and 28.7%, the total sulfur and cystine (2.9 and 2.9 and 11.2 and 11.5%), respectively. Besides that, the guard fibers contain the lowest content of both γ -keratosis (58.2%) and sulfur and cystine (2.7 and 9.0%), respectively. It has been established that different categories of fibers contain different amounts of total lipids. The smallest amounts of free lipids are found in the thin down of the Carpathian Mountain ewes (0.75%), the thin wool of the Prekos ewes (0.71%) and Ascanian ewes (0.83%), and the largest number of them is found in the semi-coarse guard fibers of the Carpathian Mountain sheep (1.39%). For bound lipids, a diametrically opposite difference was established: the largest amount of lipids was found in the thin down (1.85%), and the smallest amount — in the semi-coarse guard fibers (1.47%). In the guard fibers, the biggest amount of free lipids is accounted for the fraction of non-esterified cholesterol (64.9% versus 56.5% in the down, 57.7 in the wool of Ascanian ewes and 63.3% in the Prekos ewes), and the least of all they contain the fraction of non-esterified fatty acids (9.6%), and another sterol fraction (9.2%). The fibers of the Prekos breed sheep are noted with the lowest content of esterified cholesterol (8.9%) and the highest content of non-esterified fatty acids. But the fraction of polar lipids consists of almost 50% of ceramides and sulfolipids (more than 20%). At the same time, ceramides account for no more than 40% in the fraction of bound lipids. Physical indicators of wool to some extent reflect the peculiarities of its structure and chemical composition. Thus, the guard fibers have the highest strength (9.1 cN/tex) and fineness (48.8 μm), which is natural, because the guard has the highest content of β -keratose, i.e. cuticle, and the highest amount of lipids. Instead, the thinnest fibers are down fibers (16.9 μm) and they are the weakest (7.0 cN/tex) and these fibers contain the least β -keratose. Thus, there is a direct relationship between the content of the free lipid fraction and the fiber diameter ($r = 0.996; 0.887; 0.746$ for down, fine and semi-coarse, respectively), and between the content of bound lipids — inverse ($r = -0.993; -0.995; -0.694$).

Key words: sheep, wool, structure, lipids, keratoses, sulfur, cystine, strength, fiberfineness



Research progress on the dairy cow mastitis

Ping Xu

afraxp1986@126.com

Faculty of Veterinary Medicine, Sumy National Agrarian University,
160 Herasima Kondratieva str., Sumy, 40021, Ukraine

Mastitis is an inflammatory disease of the mammary gland, which has a significant economic impact and is an animal welfare concern. Mammary gland development and regression was directly related with cow lactation. Many different microbial and environmental factors can induce mastitis. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were the main cause of mastitis. The treatment of clinical and subclinical mastitis mainly focuses on the use of antibiotics. At present, although some progress has been made in the clinical diagnosis, antibiotic treatment, and pathogenesis control of dairy cow mastitis, the molecular mechanism of the pathogenicity of dairy cow mastitis was still not very clear. So, it is important to understand the mechanisms controlling the immune response at the molecular level. Non-coding RNAs play an important role in various biological processes, including cell proliferation, differentiation and apoptosis. However, their functions and profiles in dairy cows are largely unknown. This study reviewed the research progress of the pathogenesis, prevention measures and immune mechanism of dairy cow mastitis.

Key words: dairy cow, mastitis, etiology, immune mechanism, research status

Etiology and treatment of the dairy cow mastitis

Dairy cow mastitis is an inflammatory reaction caused by a variety of pathogens. It is also one of the most serious diseases in dairy farming. The occurrence of cow mastitis not only reduces the yield and quality of milk, but also lead to prolonged estrus time and pregnancy time after delivery of the dairy cows. Disorders can cause cows to be eliminated or even die in severe cases, causing huge economic losses to the dairy farming industry [9]. In the past few decades, the economic losses caused by dairy cow mastitis to the world dairy industry have remained basically unchanged [6]. A deeper understanding of the molecular mechanisms of mastitis in dairy cows will help to discover new ways to reduce the harm that mastitis poses to dairy farming.

Pathogenic microorganisms causing mastitis in dairy cows have been found to have at least 150 species, among which *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, and *Mycoplasma* [1]. Among them, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are the most common pathogen causing mastitis in dairy cows and has been widely used to inducing pathogens in subclinical and clinical mastitis models [2]. *S. aureus* intramammary

infection (IMI) often causes slight clinical symptoms; in contrast, *E. coli* IMI often leads to severe clinical mastitis, especially during calving, which seriously affects the health of the cow [4]. In the past few decades, people have been able to stably and effectively reveal specific pathogen-induced effects pathological mechanism of mastitis in dairy cows through *in vivo* infection experiments [13]. It has been shown that *E. coli* and *S. aureus* are effective substitutes for inducing clinical and subclinical mastitis, respectively. In addition, *S. aureus* secretes a variety of virulence factors during the process of infection to cause local suppurative inflammation, damage of skin and soft tissues.

In the past, antibiotic therapy was used in the treatment of mastitis in cows. However, due to the increasing resistance of pathogenic microorganisms, the effectiveness of antibiotic therapy is getting worse and worse, and antibiotic residues in dairy products are also affecting human health. Therefore, the prevention and control of the mastitis of dairy cows has always been the focus and hotspot of research.

With the development of technology, modern molecular analysis methods have provided new methods for detecting transcriptional regulation of immune-related factors in experiments over the past decade. This will help to dissect the relevant molecular mechanisms in

the broader field of dairy mastitis and provide a basis for developing more effective ways to prevent and treat mastitis in dairy cows.

Immune mechanism of the dairy cow mastitis

When bacteria invade the mammary gland through the nipple sphincter and local catheter or through the epidermal wound, bacterial PAMPs such as LPS further activate the immune defense of the mammary gland, and neutrophils, macrophages and lymphocytes become chemotaxis into the inflammatory area to perform the immune system function [16]. In addition to exerting a barrier function, mammary epithelial cells are also stimulated by antigen to produce an inflammatory response [5]. Interstitial fibroblasts are also involved in the process of inflammation [17]. When the mammary gland encounters bacterial invasion, macrophages in the breast tissue and milk recognize the invading pathogens and initiate an inflammatory response, while secreting various pro-inflammatory factors to recruit neutrophils to the mammary gland inflammation center area to resist the bacteria. The healthy mammary gland cells distributed in the breast tissue and the milk are mainly breast epithelial cells and macrophages, while the diseased tissues and the milk they secrete are mainly changed macrophages into neutrophils.

First, macrophages by releasing neutrophils and other pro-inflammatory factors to kill bacteria, such as TNF- α , IL-1 β . while enhancing the release of prostaglandins and leukotrienes to exacerbate the inflammatory reaction. These could quickly and powerfully against the pathogen. When the pathogenic bacteria adhered the mammary epithelial cells, the mammary epithelial cells were continuously induced by toxicological components of pathogenic bacteria to produce TNF- α , IL-6 and IL-8. Vascular endothelial cells, under the action of pro-inflammatory factors and chemokines induced by macrophages and mammary epithelial cells, secrete cell-binding molecules to attract neutrophils in the blood to the inside of the vascular endothelium. Neutrophils migrate through the gap between the epithelial cells and the subcutaneous matrix through deformation and eventually reach the infected area. Eventually most of the mastitis-causing bacteria will be recruited to the reactive oxygen species, low molecular weight antimicrobial peptides and defensins produced by neutrophils in the center of the infected area, and then the bacterial fragments will be endocytosed by phagocytes and further digested and degraded by intracellular lysosomes. When the inflammation is overreacted or out of control [18], normal cells are damaged, and the breast tissue is not restored in time.

Research status of the dairy cow mastitis

With the development of high-throughput sequencing technology, a large number of genes involved in

the development of mastitis in dairy cows have been discovered [11, 14]. The expression levels of TNF- α , IL-8, IL-1, CXCL5, P25, P53, TGF- β were significantly up-regulated in mastitis. At the level of microRNA research, Lawless [8] used a strain of *S. aureus* to infect mammary epithelial cells and identified a number of differentially expressed microRNAs. Subsequently, Jin [7] infected the immortalized mammary gland epithelial cell line MAC-T cells with heat-inactivated *E. coli* and *S. aureus* and obtained a differential expression map of microRNA. At the protein level, Yang [15] used an optimized protein lysate to extract breast tissue membrane proteins, and used two-dimensional gel electrophoresis separation combined with liquid chromatography tandem ion trap mass spectrometry to identify differences expressed membrane protein in breast tissue between clinically healthy and mastitis cows.

Although domestic and foreign research have conducted intensive research at various molecular levels in the past 100 years, the pathogenesis of mastitis is still not fully understood. Recent studies have found that lncRNA can participate in the regulation of inflammatory cytokines in immune inflammatory responses by interacting with protein complexes or transcription factors [12]. Elling [3] reviewed in detail the mechanism by which lncRNAs play a role in immune responses by interacting with inflammatory related genes at the DNA, RNA and protein levels. Wang et al. [10] treated the mammary gland epithelial MAC-T cells with heat-inactivated bacteria, and up-regulated tumor necrosis factor- α as an inflammatory response index and screened 53 differentially expressed lncRNAs by high-throughput sequencing. However, there is currently no report on the mechanism of lncRNA involved in regulating the occurrence of mastitis in dairy cows. Therefore, we study its mechanism of action in dairy cow mastitis from the perspective of lncRNA, which is innovative.

Conclusion

Studying the role of non-coding RNA in the pathogenesis of mastitis provides new ideas for the prevention and treatment of the dairy cow mastitis. Research in this direction will help to reduce the incidence of the dairy cow mastitis, which in its turn will increase the economic efficiency of dairy industry.

Prospects for further research

Different types of non-coding RNA (microRNA, lncRNA, circRNA) targeted regulation in the pathogenesis and treatment of dairy cow mastitis.

1. Bradley A. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 2002; 164 (2): 116–128. DOI: 10.1053/tvjl.2002.0724.

2. Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.* 2003; 34 (5): 521–564. DOI: 10.1051/vetres:2003023.
3. Elling R, Chan J, Fitzgerald KA. Emerging role of long noncoding RNAs as regulators of innate immune cell development and inflammatory gene expression. *Eur. J. Immunol.* 2016; 46 (3): 504–512. DOI: 10.1002/eji.201444558.
4. Ganda EK, Gaeta N, Sipka A, Pomeroy B, Oikonomou G, Schukken YH, Bicalho RC. Normal milk microbiome is reestablished following experimental infection with *Escherichia coli* independent of intramammary antibiotic treatment with a third-generation cephalosporin in bovines. *Microbiome.* 2017; 5 (1): 74. DOI: 10.1186/s40168-017-0291-5.
5. He G, Ma M, Yang W, Wang H, Zhang Y, Gao MQ. SDF-1 in mammary fibroblasts of bovine with mastitis induces EMT and inflammatory response of epithelial cells. *Int. J. Biol. Sci.* 2017; 13 (5): 604–614. DOI: 10.7150/ijbs.19591.
6. Hogeveen H, Huijps K, Lam TJGM. Economic aspects of mastitis: new developments. *New Zeal. Vet. J.* 2011; 59 (1): 16–23. DOI: 10.1080/00480169.2011.547165.
7. Jin W, Ibeagha-Awemu EM, Liang G, Beaudoin F, Zhao X, Guan LL. Transcriptome microRNA profiling of bovine mammary epithelial cells challenged with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* bacteria reveals pathogen directed microRNA expression profiles. *BMC Genom.* 2014; 15 (1): 181. DOI: 10.1186/1471-2164-15-181.
8. Lawless N, Froushani ABK, McCabe MS, O'Farrelly C, Lynn DJ. Next generation sequencing reveals the expression of a unique miRNA profile in response to a gram-positive bacterial infection. *Plos One.* 2013; 8 (3): e57543. DOI: 10.1371/journal.pone.0057543.
9. Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet. Res.* 2003; 34 (5): 475–491. DOI: 10.1051/vetres:2003027.
10. Wang H. *Identification and functional verification of lncRNA related to mastitis in dairy cows.* Northwest Agriculture and Forestry Technology University. 2018. (in Chinese)
11. Wang X, Xiu L, Hu Q, Cui X, Liu B, Tao L, Wang T, Wu J, Chen Y, Chen Y. Deep sequencing-based transcriptional analysis of bovine mammary epithelial cells gene expression in response to *in vitro* infection with *Staphylococcus aureus* stains. *Plos One.* 2013; 8 (12): e82117. DOI: 10.1371/journal.pone.0082117.
12. Wei T, Yang M, Tang Q, Zhong R. Research progress of long-chain non-coding RNA in immune inflammatory response. *Lab. Med.* 2015; 30 (10): 1044–1047. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2015.10.019. (in Chinese)
13. Wellnitz O, Bruckmaier RM. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet. J.* 2012; 192 (2): 148–152. DOI: 10.1016/j.tvjl.2011.09.013.
14. Whelehan CJ, Meade KG, Eckersall PD, Young FJ, O'Farrelly C. Experimental *Staphylococcus aureus* infection of the mammary gland induces region-specific changes in innate immune gene expression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011; 140 (3–4): 181–189. DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.11.013.
15. Yang Y, Zhang Y, Zhou L, Cheng G, Tao J, Zhao X. Comparative proteomics study of breast membrane proteins in dairy cow mastitis. *National Agricultural Sciences.* 2010; 43 (18): 3862–3868.
16. Yu X, Feng B, He P, Shan L. From chaos to harmony: responses and signaling upon microbial pattern recognition. *Annual Rev. Phytopathol.* 2017; 55: 109–137. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080516-035649.
17. Zhang W, Li X, Xu T, Ma M, Zhang Y, Gao MQ. Inflammatory responses of stromal fibroblasts to inflammatory epithelial cells are involved in the pathogenesis of bovine mastitis. *Exp. Cell Res.* 2016; 349 (1): 45–52. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.09.016.
18. Zhang WY, Wang H, Qi S, Wang X, Li X, Zhou K, Zhang Y, Gao MQ. CYP1A1 relieves lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells. *Mediators Inflamm.* 2018; 5: 4093285. DOI: 10.1155/2018/4093285.

Прогрес у дослідженні маститу молочних корів

Пінг Сюї

afraxp1986@126.com

Факультет ветеринарної медицини, Сумський національний аграрний університет,
вул. Герасима Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна

Мастит — це запальне захворювання молочної залози, яке призводить до значних економічних збитків і спричиняє проблеми життєздатності тварин. Розвиток і регресія молочної залози безпосередньо пов'язані з лактацією корів. Багато різних мікробних та екологічних чинників можуть провокувати мастит. *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* були основною причиною маститу. Лікування клінічного та субклінічного маститу переважно зосереджене на застосуванні антибіотиків. Хоча на сьогодні досягнуто певного прогресу в клінічній діагностиці маститів, лікування антибіотиками, патогенетичний контроль та молекулярний механізм патогенності маститів молочних корів все ще недостатньо вивчені. Отже, важливо зрозуміти механізми контролю імунної відповіді на молекулярному рівні. Некодуючі РНК відіграють важливу роль у різних біологічних процесах, зокрема проліферації клітин, диференціюванні та апоптозу. Однак їхні функції та профілі у молочних корів значною мірою невідомі. Тут представлено огляд прогресу досліджень патогенезу, заходів профілактики та імунного механізму маститу молочних корів.

Ключові слова: молочна корова, мастит, етіологія, імунний механізм, статус дослідження



Рецензія на монографію

О. Г. Коваленка та С. В. Афонської (Дроботько)

«Відданість науковій істині» (К.: Наукова Думка., 2018, 232 с.)

Матвієнко Н. М., Інститут рибного господарства НААН

Мандиґра М. С., Національна академія аграрних наук України

У книзі «Відданість науковій істині» описано життєвий шлях видатного вченого — мікробіолога, епідеміолога, клініциста, вірусолога, який зробив неоціненний внесок у розвиток мікробіологічних та вірусологічних досліджень в Україні, — академіка В. Г. Дроботька — багаторічного керівника Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного, голову Українського наукового товариства мікробіологів, епідеміологів і інфекціоністів. Назва книги цілком відповідає її суті. Монографія не лише охоплює цілу низку наукових питань, яким відомий вчений присвятив все своє життя, але й торкається політичних, моральних та етичних принципів творення науки у цей нелегкий для нашої країни період історії.

У рецензованій книзі детально проаналізовано та узагальнено праці видатного вченого в галузі мікробіології, санітарії та епідеміології, ветеринарної медицини з позицій сучасної науки вперше і глибоко розглянуто його вірусологічні дослідження та дано їм оцінку з урахуванням сучасних знань в галузі вірусології.

В. Г. Дроботько одним із перших в Україні започаткував дослідження бактеріофагів як маркерів чистоти води та засобів боротьби з кишковими інфекціями. Як тільки В. Г. Дроботько став науковцем Київського санітарно-бактеріологічного інституту 1925 року, улюбленим об'єктом своїх досліджень він обрав бактеріофага. А 1931 року, керуючи відділом медичної мікробіології (згодом — відділом патогенних мікроорганізмів), а з 1944 року — Інститутом мікробіології АН УРСР, суттєво поглибив і розширив дослідження у цьому напрямі. Автори у розділах рецензованого науково-інформаційного видання описали своє бачення становлення вченого, шукаючи розгадку відданості його життєвим принципам та науковим істинам. З позицій сучасного стану науки авторами проаналізовано праці Віктора Григоровича та результати його досліджень.

Доля подарувала вченому шанс спробувати себе у конярстві. В. Г. Дроботьку та його колегам вдалося встановити причину виникнення стахіоботріотоксикозу коней. У 1939 році колективу до-

слідників на чолі з В. Г. Дроботьком було вручено високі урядові нагороди за значні досягнення в дослідженні хвороб тварин. Значення мікотоксикозів для медицини і ветеринарії було настільки великим, що у 1956 році в Києві було скликано всесоюзну нараду, присвячену цьому захворюванню, а в Москві організовано першу лабораторію, завданням якої було вивчення природи токсикологічних інфекцій. Таким був суспільний резонанс і наслідки відкриття В. Г. Дроботьком та його колегами нового напрямку в мікробіологічній науці — мікотоксикології.

Нам, вірусологам, імponує те, що цей вчений, перш, ніж приступати до ґрунтовних досліджень бактеріофагів, суттєво зміцнив методичну і розширив експериментальну базу, сконструювавши простий і доступний для лабораторних робіт бактеріальний фільтр, цілком придатний для виділення вірусних препаратів та розробив сольові середовища для культивування бактерій — хазяїнів вірусів. Користуючись розробленим інструментарієм, він виділив та охарактеризував низку бактеріофагів, специфічних до збудників таких небезпечних хвороб, як холера і дизентерія, заклавши основи вітчизняної фаготерапії та відкрив явище «спонтанної лізогенії», впритул підійшовши до відкриття фаголізогенії та інтеграції геномів вірусу і хазяїна. Цілковитим оправданим, як виявилось потім, було його припущення, що лізис клітин бактерій зумовлюється агентом, індукованим «спонтанним бактеріофагом», тобто, за сучасною термінологією профагом, інтегрованим з геномом клітини-хазяїна. Керуючись своїми та літературними даними, В. Г. Дроботько вперше висунув цікаві гіпотези про механізм репродукції вірусів як «синтез вірусних нуклеопротеїдів клітиною хазяїна, подібно до своїх власних біополімерів», а також про універсальність і провідну роль нуклеїнових кислот у відтворенні клітин і їхніх компонентів. Такий же механізм і для вірусів. Ці гіпотези В. Г. Дроботька врешті-решт стали передумовою та прискорили відкриття, результатом яких стало створення революційної основної догми молекулярної біології французькими вченими Ф. Жакобом, Ж. Моно та А. Львовим.

В. Г. Дроботько передбачив велику перспективу у вивченні фітонцидів — антибіотичних речовин із рослин, що, на відміну від антибіотиків, є комплексними природними сполуками, до яких, як правило, немає «звикання» та формування стійкості у патогенних мікроорганізмів. На основі цієї важливої концепції вченим було створено ряд лікарських засобів (іманін, новоіманін, аренарин та ін.), що й до цього часу є в арсеналі «зеленої аптеки», якій він присвятив добру децидню свого життя та виховав багато науковців-послідовників, практичних працівників у галузі медицини, зокрема народних цілителів.

Характерною особливістю рецензованого видання є те, що його автори особливу увагу читача акцентують на прагненні В. Г. Дроботька узагальнювати отримані результати в окремих, одноособових

статтях та книгах, а також популяризувати отримані знання у відповідних виданнях. Цінним доробком авторів книги є бібліографія, яка містить 158 джерел власних робіт вченого, а також 47 джерел літератури про нього, що надає рецензованій роботі довідкового значення. Книга гарно проілюстрована фотографіями, почерпнутими з музею Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України та сімейного альбому родини Дроботьків, цитатами з його наукових і художніх творів, що прикрашають і унаочнюють висловлені думки і свідчення авторів про цього великого вченого.

Рецензована книга заслуговує найвищої оцінки і, безперечно, буде корисною для зацікавлених фахівців — біологів і дослідників, практиків, хто має інтерес до історії науки.



ІНСТИТУТ
БІОЛОГІЇ
ТВАРИН
НААН



UNIWERSYTET
ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie



ОФІЦІЙНІ ПАРТНЕРИ ФОРУМУ:



Львівська
міська
рада



Запрошуємо Вас взяти участь
у I українсько-польському науковому форумі

«АГРОБІОПЕРСПЕКТИВИ»

(29–30 вересня 2021 р.)

Організатори:

Національна академія аграрних наук України
Інститут біології тварин НААН (м. Львів, Україна)
Краківський аграрний університет імені Хуго Коллонтая (Польща)
Інститут зоотехніки (м. Баліце, Польща)

Місце проведення:

Інститут біології тварин НААН,
м. Львів, вул. В. Стуса, 38

Робочі мови:

Англійська, українська, польська

Формат проведення:

Персональна участь, он-лайн

Тематика і основні напрями:

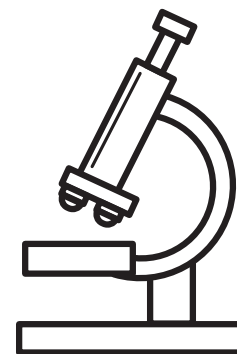
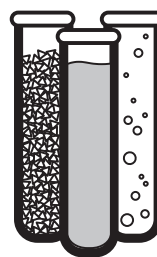
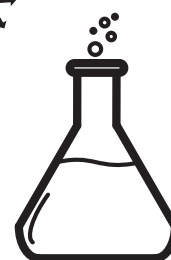
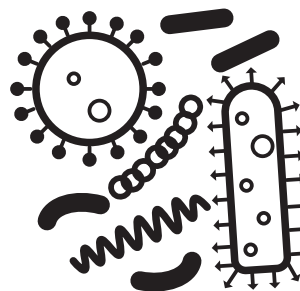
- Проблеми тваринництва в умовах екологічних викликів сучасності
- Годівля та біологія продуктивності тварин
- Здоров'я тварин
- Біотехнологія у тваринництві
- Селекція та розведення тварин
- Забруднення навколишнього середовища відходами тваринництва
- Проблеми якості, безпечності виробництва і переробки продукції тваринництва
- Особливості виробництва органічної тваринницької продукції

Контактна інформація:

Додаткову інформацію Ви можете знайти на сторінці форуму:
<http://www.inenbiol.com/index.php/informatsiia>

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників (аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз (аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження (посів на стерильність, антибіограма, склад мікрофлори кишечника тварин, мікробіологічний аналіз кормів, води, повітря)
- Імуноферментні дослідження (аналізатор *Stat Fax 3000*, Німеччина)
- Оцінка репродуктивної здатності тварин, штучне осіменіння, трансплантація ембріонів
- Селекційно-генетичні дослідження
- Дослідження кормів
- Дослідження молока
- Дослідження яєць
- Визначення показників якості меду
- Дослідження вовни і волосся
- Атомно-абсорбційний і атомно-емісійний аналіз концентрації хімічних елементів
- Аналіз органічних добрив



Організовує проведення досліджень на лабораторних тваринах і надає кваліфіковану інтерпретацію отриманих результатів.

* можливе проведення інших досліджень

** всі лабораторії інституту акредитовані для проведення досліджень

Інститут біології тварин НААН
вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034
тел.: +38 (032) 270-23-89, +38 (96) 858-37-76
e-mail: markinfo@inenbiol.com.ua

Завжди раді співпраці з Вами!