

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И
ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

На правах рукописи

ИЛЬИНА
Татьяна Николаевна

**МЕТАБОЛИЗМ ТИАМИНА В ОРГАНИЗМЕ ПОРОК
(*Mustela vison* Schr.) И ПЕСЦОВ (*Alopex lagopus* L.)**

03.00.13 - физиология человека и животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 1997

148421к

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Работа выполнена в лаборатории экологической физиологии животных Института биологии Карельского научного центра РАН

Научный руководитель: старший научный сотрудник, кандидат сельскохозяйственных наук **Н.Н.ТЮТЮННИК**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор **М.Н.МАСЛОВА**
доктор ветеринарных наук, профессор **Ю.В.КОНОПАТОВ**

Ведущее учреждение: Петрозаводский государственный университет

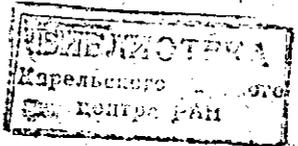
Защита диссертации состоится *15 июля* 1997 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета К 120.20.01 в Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины. Адрес: 196084 С.-Петербург, Черниговская ул. 5,

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

Автореферат разослан " _____ " _____ 1997 г.

Ученый секретарь диссертационного совета доцент **Т.А.ЭЙСИМОНТ**

148421к



Актуальность темы. Витамин В₁ (тиамин) оказывает существенное влияние на различные физиологические функции и биохимические процессы в организме, являясь необходимым компонентом регуляции обмена углеводов, липидов, белков, нуклеиновых кислот и других витаминов (Островский, 1974, 1979; Нефедов, Фусточенко, Островский, 1978; Буко, Ларин, Требухина, 1981; Лашак и соавт., 1982). На многочисленных примерах показано влияние его недостаточности на организм животных (Neal, Pearson, 1966; Кузнецов, 1987; Туманов, Требухина, 1987; Link, 1989; и др.). Одним из основных вопросов в изучении функциональной роли тиамина в организме является исследование депонирования, транспорта и включения его в соответствующие ферментные системы с целью предупреждения глубоких нарушений обмена.

Изучение метаболизма тиамина у плотоядных пушных зверей, введенных в зоокультуру, имеет особо актуальное значение в связи с отсутствием его синтеза в их организме (Helgebostad, 1981). Поэтому обеспеченность пушных зверей витамином В₁ полностью зависит от его экзогенного поступления. Дефицит тиамина в организме вызывает серьезные нарушения нервной, сердечно-сосудистой, мышечной и других систем, что отражается на показателях воспроизводства и качестве пушнины (Афанасьев, Перельдик, 1966; Ильина, 1975; Zimmerman, 1981; Alden, Tauson, 1981; Okada, Chihaya, Matsukawa, 1989). Потребность в витамине и обеспеченность им организма зависит от множества факторов. При рассмотрении этой проблемы необходимо учитывать возможные воздействия антиметаболитов тиамина - среди них наибольшее значение имеет фермент тиаминидаза, которая содержится в сырой рыбе, инактивирует тиамин и создает предпосылки для развития дефицита В₁ у зверей (Jezevska, 1981; Петрова, Изотова, Берстов, 1987).

Важной проблемой в изучении обмена тиамина является исследование физиолого-биохимических механизмов реагирования отдельных органов и систем, обеспечивающих приспособление организма животных к среде обитания. Наиболее значительными представляются вопросы изучения условий поддержания гомеостаза в зависимости от периодов индивидуального развития организма, физиологического состояния, уровня обеспеченности и воздействия ряда других факторов, влияющих на обмен тиамина. Одним из условий выяснения механизмов обмена

тиамина по ряду взаимосвязанных специфических показателей является изучение адаптивных реакций организма к его недостаточности.

В практике звероводства наиболее распространенным критерием тиаминовой обеспеченности зверей служит содержание его в печени. Прижизненное изучение процессов метаболизма тиамин у пушных зверей с использованием комплекса специфических биохимических показателей на различных стадиях онтогенеза и в зависимости от физиологического периода, практически не проводилось. Плотоядные пушные звери изучены менее других животных, в их организме отсутствует синтез тиамин и поэтому они могут представлять интерес в качестве модельного объекта для изучения процессов обмена тиамин.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является изучение метаболизма тиамин в организме хищных млекопитающих - норок (*Mustela vison Br.*) и песцов (*Alopex lagopus L.*) в зависимости от возраста, физиологического периода, вида и уровня обеспеченности тиамин. В соответствии с основной целью исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать ряд специфических показателей обмена тиамин в крови и органах норок и песцов в зависимости от их обеспеченности витамином В₁ на разных стадиях онтогенеза.
2. Изучить влияние физиологического периода на показатели метаболизма тиамин в крови норок и песцов.
3. Исследовать влияние экспериментального алиментарного В₁-авитаминоза на показатели обмена тиамин.
4. Исследовать ряд специфических показателей обмена тиамин у норок и песцов при моделировании окситиаминного авитаминоза.

Научная новизна работы. Впервые получены данные по содержанию тиамин и комплексу показателей его обмена в крови и органах норок и песцов в различные возрастные и биологические периоды. Показано, что уровень тиамин и тиаминзависимых показателей находится в зависимости от периода индивидуального развития, физиологического состояния организма животных и экзогенного поступления витамина. При моделировании алиментарного и окситиаминного авитаминоза у норок и песцов впервые получены данные об изменениях, происходящих на путях прохождения тиаминзависимых реакций. Установлено, что плотоядные пушные звери по сравнению со всеядными животными чрезвычайно чувствительны к окситиамину, введенному в их организм.

Научно-практическое значение работы. Полученные данные имеют прежде всего теоретическое значение, так как важны для пони-

мания процессов метаболизма тиамин. Практическая значимость работы заключается в том, что установленные физиологические параметры обмена тиамин могут быть использованы в зоотехнической и ветеринарной практике для оценки физиологического статуса организма пушных зверей с учетом возраста и биологического периода, диагностики тиаминовой недостаточности, а также при некоторых патологических состояниях и воздействии неблагоприятных факторов среды.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на Всесоюзной конференции по физиологии продуктивных животных (Тарту, 1989 г.), Республиканской конференции молодых ученых, специалистов и студентов (Петрозаводск, 1990), Международном симпозиуме "Физиологические основы повышения продуктивности пушных зверей" (Петрозаводск, 1991 г.), Международном симпозиуме "Витамины и здоровье населения Беларуси и смежных регионов" (Гродно, 1995 г.), а также на заседаниях лаборатории экологической физиологии животных Института биологии Карельского научного центра РАН.

Положения, выносимые на защиту. 1. Показатели обмена тиамин на разных стадиях онтогенеза и в условиях, связанных с физиологическим периодом.

2. Специфические биохимические показатели метаболизма тиамин при развитии экспериментальных авитаминозов.

Публикации. Основные результаты исследований опубликованы в 11 печатных работах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и предложений, списка использованной литературы, включающей 217 источников, в том числе 52 иностранных. Работа изложена на 157 страницах машинописного текста, содержит 10 рисунков и 31 таблицу.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования служили американские норки темно-коричневого окраса и вуалевые песцы клеточного содержания. Возрастную динамику показателей обмена тиамин в крови у норок изучали в возрасте 1, 3, 6, 9 месяцев. Контрольные звери находились на хозяйственном рационе, а подопытные получали дополнительно к рациону витамин В₁ в течение 7 дней: однемесячные щенки - через молоко матери (последним его вводили в корм в дозе 1 мл на зверя); трехмесячные

щенки получали по 0,3, а шестии девятимесячные - по 0,5 мг бенфотиамина. Возрастные изменения показателей обмена тиамин в крови у песцов исследовали в 3, 6 и 9 месяцев жизни. Подопытные звери в течение 7 дней получали дополнительно к рациону в трехмесячном возрасте - по 0,5, а в шести- и девятимесячном возрасте - по 1 мг бенфотиамина на зверя. В разные возрастные периоды исследования содержание тиамин в органах.

Изменения обмена тиамин, связанные с физиологическим состоянием норки и песцов, изучали в следующие биологические периоды: подготовка к гону, гон, беременность, лактация, постлактационный период, периоды формирования зимнего волосяного покрова и покоя. В предварительный период эксперимента подопытным норкам в течение трех дней внутримышечно вводили 6% тиаминбромид в дозе 1 мл на зверя.

Влияние экспериментального авитаминоза В₁ изучали путем моделирования дефицита тиамин у взрослых норки и песцов. Пищевой экспериментальный авитаминоз у норки вызывали скормливанием им тиаминазосодержащей рыбы - сельди иваси. Норки первой подопытной группы получали экспериментальный рацион, включающей 70-90% рыбы от белка мясо-рыбных кормов без добавок тиамин. Зверь 2-й группы (положительный контроль) содержались на хозяйственном рационе с дополнительным введением 0,5 мг бенфотиамина на зверя. 3-я группа (контроль) получала хозяйственный рацион. Опыт продолжался в течение 50 дней. Затем из каждой группы было отобрано по 6 зверей, которым внутримышечно вводили 1,5 мг/кг окситиамина (ОТ) для моделирования окситиаминового авитаминоза на фоне разной исходной обеспеченности витамином. Кровь для исследований у подопытных норки брали через 7 и 24 часа после введения ОТ. У песцов дефицитное состояние вызывали внутримышечным введением ОТ в дозах 8 и 23 мг/кг массы тела. Кровь у зверей брали натощак с целью определения исходного фона, а затем через 4, 24, 48 и 72 часа после инъекций ОТ в дозе 8 мг/кг; через 3 и 6 часов - после инъекций ОТ в дозе 23 мг/кг.

В качестве показателей, характеризующих обмен тиамин, использовали активность фермента транскетолазы (ТК) и величину тиаминдифосфатного эффекта (ТДФ-эффект), которые определяли по методу Вгупс с соавт. (1958), описанному В.Ю.Спиричевым с соавт. (1973) и модифицированному И.Я.Конь и И.И.Кондратьевой (1982) с использованием реакции образования седогептулозо-7-фосфата. ТДФ-эффект определяли по величине активности транскетолазы после преникубации образцов крови с ТДФ (Dreyfus, 1962). Величина ТДФ-эффекта до 15%

свидетельствует об адекватной обеспеченности, от 15 до 30% - о легком дефиците тиамин, от 30 до 40% - об умеренной, выше 40% - о тяжелой недостаточности. Содержание тиамин в органах определяли флуориметрическим методом (Ю.М.Островский, 1979). На базе Института биохимии АН Республики Беларусь (г.Гродно) по методикам, апробированным в Институте определяли уровень тиаминдифосфата (ТДФ), тиаминтрифосфата (ТТФ), активность тиаминкиназы (Т-киназа), тиаминдифосфаткиназы (ТДФ-киназа), тиаминдифосфатазы (ТДФ-аза), тиаминтрифосфатазы (ТТФ-азы), содержание тиамин и неорганического фосфата (Фн) в крови. Уровень ТДФ определяли ферментативным методом с использованием системы апопируватдекарбоксилазы и алкогольдегидрогеназы, активность Т-киназы и ТДФ-киназы определяли в цельной крови по количеству образовавшегося ТДФ, а ТДФ-азы и ТТФ-азы по убыли количества ТДФ, внесенного в инкубационную смесь в качестве субстрата.

Все полученные результаты обработаны с применением статистических методов. В качестве критических значений статистических показателей использовался t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Возрастные изменения показателей обмена тиамин у норки и песцов. В месячном возрасте у щенков норки наблюдалась высокая активность ТК и низкий ТДФ-эффект, характеризующие адекватную обеспеченность тиаминном. Высокая активность ТК характерна в раннем онтогенезе (Хмельевский, 1967, 1970; Френкель, 1972). В печени новорожденных (2-й день) обнаружено высокое содержание общего тиамин (5,69±0,48 мкмоль/кг), которое резко снижалось к 20 дню жизни (1,80±0,26 мкмоль/кг) с последующим увеличением концентрации к 49-дневному возрасту (7,69±0,41 мкмоль/кг). Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении почек. Известно, что обмен у щенков в первые 2-3 недели ослабевает по сравнению с новорожденными, затем происходит резкое усиление метаболизма (Мелькина, 1966; Ильина, 1975), включая интенсивную перестройку активности тиаминных ферментов (Хмельевский, 1970).

В 3-месячном возрасте, характеризовавшимся интенсивным ростом молодняка, активность ТК у норки оставалась высокой, а величина ТДФ-эффекта значительно увеличилась, но находилась в пределах нормы (до 15%). У песцов в этом возрасте активность ТК также была высокой, величина ТДФ-эффекта в контрольной группе была выше, чем в

подопытной ($p < 0,01$) и составляла 25,9%, характеризую легкой дефицит тиамина.

В 6-месячном возрасте у норок наблюдалось снижение активности фермента и обнаружился дефицит тиамина по величине ТДФ-эффекта. Дополнительное введение тиамина способствовало снижению ТДФ-эффекта в опытной группе норок, а среди интактных выявились животные с умеренным (ТДФ-эффект - 30-40%) и тяжелым дефицитом (>40%). У песцов в этом возрасте также наблюдалось снижение активности ТК ($p < 0,01$) и увеличение ТДФ-эффекта по сравнению с предыдущим периодом. Снижение активности ТК и увеличение ТДФ-эффекта в крови норок и песцов связано, очевидно, с периодом формирования зимнего меха и усиленным использованием витамина, а также половым созреванием зверей и проявляемым при этом витаминно-гормональным взаимодействием (Хмелевский, Поберезкина 1990; Виноградов, Водоевич, Рожко, 1995). Исследование органов норок показало, что наибольшая концентрация тиамина обнаружена в сердце, затем в почках, головном мозгу и печени. У песцов содержание тиамина в печени было ниже, чем у норок, что свидетельствует о неодинаковой интенсивности обмена, связанной, по-видимому, с видовыми особенностями.

В 9-месячном возрасте как у норок, так и у песцов активность ТК увеличивается при снижении ТДФ-эффекта до уровня нормальной обеспеченности. Изучение концентрации тиамина в печени норок и песцов в 11 месяцев показало, что значительных изменений уровня по сравнению с 6-месячными животными не произошло. Подобная закономерность характерна и для энергетического метаболизма норок (Сегаль, 1975).

Высокий уровень обмена тиамина, установленный у норок и песцов в раннем онтогенезе, совпал с первоначальным повышением основного обмена с последующим плавным его снижением, характерным и для других незрелорождающихся млекопитающих (Махинько, Никитин, 1975; Кожевникова, Берестов, 1987).

2. Влияние биологического периода на показатели обмена тиамина у норок и песцов. Проведенные исследования показали, что в период подготовки к гону активность ТК у норок была высокой в обеих группах. Уровни общего тиамина, ТДФ и ТТФ-азы не имели различий по группам. У песцов, судя по величине ТДФ-эффекта, наблюдался легкий дефицит тиамина. В период гона у норок обеих групп выявилось снижение активности ТК. Увеличение витаминов в хозяйственном рационе позволило снизить величину ТДФ-эффекта у интактных норок, у подопытных обеспеченность тиамином была в пределах нормы. По уровню общего тиамина были выявлены различия между группами ($p < 0,01$). В

обеих группах наблюдалось значительное снижение активности ТТФ-азы, однако у норок подопытной группы она была выше, чем у контрольных ($p < 0,01$). У песцов наблюдалось снижение активности ТК, а величина ТДФ-эффекта характеризовала умеренный дефицит тиамина (табл.).

Значительное торможение активности ТК установлено в период беременности у интактных норок при резком увеличении ТДФ-эффекта, у которых его величина была в два раза выше, чем у подопытных, получавших витамин дополнительно. Общий тиамин был выше у норок подопытной группы, как и активность ТТФ-азы, характеризующая усиление гидролиза ТТФ. У песцов активность ТК снизилась по сравнению с предыдущим периодом ($p < 0,001$), а величина ТДФ-эффекта характеризовала тяжелую форму недостаточности.

Активность ТК (мкмоль С-7-Ф/с*л) и величина ТДФ-эффекта (%) в крови норок и песцов в разные физиологические периоды ($M \pm m$)

Периоды	Норки		Песцы	
	Активность ТК	ТДФ-эффект	Активность ТК	ТДФ-эффект
Подготовка к гону	13.13±0.33	21.0±3.8	7.94±0.53	22.6±2.8
Гон	11.36±0.49	17.5±3.1	6.69±0.33*	31.9±5.9*
Беременность	7.30±0.57*	35.5±5.5*	4.74±0.29*	56.7±5.9*
Лактации	9.40±0.32	12.0±2.2*	6.08±0.60*	25.8±1.8*
Формирование зимнего меха	8.77±0.59	22.7±7.0	7.01±0.33	27.5±4.8
Покой	10.27±0.63	19.4±3.3	7.14±0.19	12.5±2.3*

Примечание: * - разница достоверна по отношению к предыдущему периоду.

Лактационный период у норок и песцов характеризовался увеличением активности ТК и снижением величины ТДФ-эффекта, которая у норок обеих групп соответствовала адекватной обеспеченности, а у песцов - легкому дефициту тиамина.

В период формирования зимнего волосяного покрова активность ТК, а величина ТДФ-эффекта оставалась на прежнем уровне.

Период покоя у норок характеризовался увеличением активности ТК и снижением величины ТДФ-эффекта. У интактных животных отмечался легкий дефицит тиамина по величине ТДФ-эффекта, что соответствовало и более низкому уровню общего тиамина ($p < 0,001$). Отмечено общее снижение уровня ТДФ. Период покоя у песцов, как и у норок, характеризовался снижением ТДФ-эффекта.

Установлено, что тиаминзависимые показатели у норок и песцов значительно угнетались в биологические периоды, связанные с усиленным использованием витамина. Дополнительное введение тиамина играло стабилизирующую роль в сохранении витаминного статуса в течение всего периода исследования.

3. Влияние экспериментального пищевого авитаминоза B_1 на показатели обмена тиамина норок. Моделирование пищевого авитаминоза у норок с использованием высокого содержания сырой тиаминазной рыбы в рационе привело к развитию дефицита тиамина, что проявилось в значительном увеличении через месяц ТДФ-эффекта в крови животных 1-й опытной (29,3%) и 3-й контрольной (27,6%) групп и уменьшение его величины до нормы у норок 2-й группы (12,8%), получавших дополнительно к рациону бенфотиамин. Активность ТК увеличилась в 1-й и 2-й группах, в 3-й осталась практически на прежнем уровне. К концу опыта величина ТДФ-эффекта в 1-й и 2-й группах изменилась незначительно по сравнению с предыдущим исследованием, в то время как в 3-й группе этот показатель увеличился, что свидетельствует о сохранении дефицита в 1-й группе, существенном углублении в 3-й и незначительном увеличении во 2-й группе норок.

Уровень ТДФ перед началом опыта в крови норок всех групп был практически одинаковым. К концу опыта он снизился во всех группах, но особенно резко в 1-й дефицитной группе - на 45%. Уровень ТТФ, активность Т-киназы и ТДФ-киназы к концу эксперимента были выше во 2-й группе, затем в контрольной и самое низкое значение наблюдалось у норок 1-й группы, т.е. менее всего эти показатели изменились у зверей 2-й группы, получавших бенфотиамин, значительно снизились в 1-й группе, контрольные звери занимали промежуточное положение. ТДФ-аза особенно интенсивно снижалась в 1-й дефицитной группе и к концу опыта ее содержание было ниже, чем во 2-й и 3-й группах ($p < 0,001$). Концентрация Φ_{II} также была ниже у зверей 1-й группы, чем в контроле ($p < 0,001$).

Изучение распределения тиамина в органах норок показало, что он депонируется в организме в следующей последовательности: сердце,

почки, мозг, печень. В содержании общего тиамина в сердце и мозге значительных колебаний по группам не установлено. В печени и почках содержание общего тиамина у опытных норок было значительно ниже по сравнению с контрольными группами, что свидетельствует о его лимитировании тиаминазой и происходящих при этом существенных отклонениях в органах, обеспечивающих всасывание и выведение тиамина.

При развитии дефицита в обмен включаются резервные запасы, и организм в течение определенного времени способен бороться с недостаточностью тиамина, о чем свидетельствовала стимуляция эритропоэза, а также резкое сокращение в крови норок активности ТДФ-азы - фермента деградации ТДФ. О развитии дефицита также свидетельствовало увеличение ТДФ-эффекта в крови животных опытной и контрольной групп и уменьшение его величины у норок, получавших бенфотиамин дополнительно. Очевидно, что параллельно с дефицитом алиментарного характера, вызванным в модельном эксперименте, в контрольной группе развился спонтанный гиповитаминоз, которого избежали звери, получавшие бенфотиамин.

4. Влияние экспериментального окситиаминного и смешанного авитаминоза B_1 на показатели обмена тиамина у норок и песцов. При моделировании у норок экспериментального окситиаминного авитаминоза на первом этапе опыта отмечалась однонаправленность изменений показателей обмена тиамина. В крови норок всех групп с разной фоновой обеспеченностью после введения ОТ наблюдался резкий подъем изучаемых форм тиамина: общего, ТДФ и ТТФ. При этом проявились типичные клинические признаки B_1 -авитаминоза. Через 24 часа после введения ОТ в 1-й группе с исходным дефицитом B_1 наблюдалось сохранение на прежнем уровне концентрации ТДФ и ТТФ и снижение общего тиамина. В двух других группах в процессе адаптации к ОТ-авитаминозу уровень фосфорилированных форм постепенно возвращался к первоначальному, возможно, за счет подключения резервных возможностей, в то время как в 1-й группе в условиях глубокого дефицита он вовлекался в обмен.

Активность ТК достоверно снижалась через 7 часов у норок 1-й и 2-й групп с последующим увеличением через 24 часа после введения ОТ. Величина ТДФ-эффекта в обеих группах возрастала, но особенно значительно в группе с исходной адекватной обеспеченностью (38,9%). В 3-й группе с исходным умеренным дефицитом активность фермента и ТДФ-эффект практически не менялись.

Фермент синтеза ТДФ - Т-киназа реагировала увеличением активности на дефицитном фоне (1-я и 3-я гр.) и незначительным снижением при нормальной обеспеченности (2-я гр.). Фермент его деградации - ТДФ-аза повышался и особенно интенсивно в 3-й группе со смешанным авитаминозом. ТДФ-киназа снижала активность во всех группах в первый период опыта, затем активность возрастала и особенно в группе с исходной адекватной обеспеченностью. Известно, что при дефиците тиамина основную роль в восстановлении активных форм витамина В₁ играют ферменты синтеза - Т-киназа и ТДФ-киназа, ферменты гидролиза активируются с момента наработки избытка свободных тиаминфосфатов (Черникевич, 1996).

Адаптация к ОТ-дефициту в органах выразилась в перераспределении форм тиамина, увеличении пула свободного тиамина в печени зверей со смешанным дефицитом, а в почках еще более резким возрастанием свободного, а затем и общего тиамина.

Изучение влияния острого окситиаминного авитаминоза на песцах показало, что оно проявилось в изменении функциональной активности тиаминзависимых показателей. При введении песцам ОТ в дозе 8 мг/кг визуальные наблюдения показали, что через 4 часа у половины зверей, а через 7 часов практически у всех наблюдались типичные клинические признаки тиаминовой недостаточности: тяжелое дыхание, парез конечностей, запрокидывание головы, но уже через 24 часа состояние животных нормализовалось.

Исходная активность ТК была достаточно высокой и практически не изменялась в течение опыта. Величина ТДФ-эффекта снизилась через 4 часа (13,4%), затем происходило плавное увеличение (15,1%). Уровень общего тиамина через 4 часа после инъекций снизился ($p < 0,001$), но затем наблюдалось увеличение и через 72 часа его уровень превышал исходный. Уровень ТДФ снижался во все время эксперимента и к концу его содержание уменьшилось к исходному на 42% ($p < 0,01$).

При введении песцам ОТ в дозе 23 мг/кг уже через 3 часа у животных развились клинические признаки действия антимиетаболита, которые усилились через 6 часов после начала эксперимента.

Активность ТК и величина ТДФ-эффекта через 3 часа после инъекций изменились незначительно, однако через 6 часов реакция со стороны ТК характеризовалась достоверным снижением активности ($p < 0,001$) и резким увеличением ТДФ-эффекта (69,4%).

Через 3 часа после инъекции наблюдалось снижение уровня общего тиамина, а затем резкий его подъем, который через 6 часов был выше исходного ($p < 0,001$). Уровень ТДФ через 3 часа оставался прак-

тически прежним, а через 6 часов достоверно увеличивается ($p < 0,001$), т.е. в присутствии высокой дозы антимиетаболита наблюдался подъем общего тиамина и его коферментной формы.

Изучение влияния ОТ-авитаминоза на песцах показало, что реакция со стороны организма проявлялась в серьезном нарушении метаболизма, о чем свидетельствовали клинические признаки различной тяжести. Однако, при введении ОТ в дозе 8 мг/кг значительных биохимических сдвигов установлено не было, а величина ТДФ-эффекта снижалась. Очевидно, малая доза ОТ оказывала стимулирующий эффект на перераспределение тканевых резервов витамина и включение их в обменные процессы (Петрова и соавт., 1992). Активность ТК и ТДФ-эффект практически не прореагировали на введение ОТ в малой дозе. Ингибирование проходило на уровне свободного тиамина и его фосфорилированной формы, причем интенсивней на первом этапе эксперимента, затем под действием антимиетаболита происходил процесс накопления общего тиамина при снижении концентрации ТДФ, который обладает менее выраженным, чем антикофермент, сродством к белку (Островский, 1971; 1978). Уровень коферментной формы тиамина понижался в течение опыта и оставался достоверно сниженным на третьи сутки, отражая тем самым пролонгированное действие ОТ. Большая тканевая концентрация тиамина в организме, превышающая потребность животных в нем, лимитирует образование окситиаминдифосфата, и поэтому введение ОТ не сказывается сразу на активности ТК (Рыбниа и соавт., 1972; Сукристик, 1978; Виноградов, 1995). Очевидно, поэтому же у песцов, которым вводилась высокая доза антимиетаболита, активность фермента, уровень общего тиамина и ТДФ на первом этапе эксперимента снижались незначительно, но затем наблюдалось увеличение обеих форм тиамина при снижении активности ТК. Под воздействием ОТ к этому времени наступают уже необратимые явления, с которыми, очевидно, компенсаторные системы организма самостоятельно справиться не могут и в данном случае концентрация ТДФ уже не может являться тестом тиаминовой недостаточности.

ВЫВОДЫ

1. Онтогенетические изменения обмена тиамина в тканях и органах норки и песцов проявлялись на уровне общепатологических и видовых закономерностей возрастной перестройки метаболизма. Последние выражались в определенной последовательности периодов повышения и снижения изучаемых показателей. Ранний онтогенез характеризовался

высокой активностью ключевого тиаминзависимого фермента ТК и низкой величиной ТДФ-эффекта в крови, высоким содержанием тиамин в печени и почках. Индивидуальное развитие животных сопровождалось снижением активности ТК в шестимесячном возрасте как у норок, так и у песцов, в последующем активность фермента повышалась. Половые различия по степени активности ТК были выражены слабо.

2. Концентрация тиамин в печени норок выше, чем у песцов. Соотношение свободной и фосфорилированных форм тиамин в печени, установившееся в шестимесячном возрасте как у норок, так и у песцов, соответствует таковому у взрослых животных.

3. Изменения, связанные с физиологическим периодом, находят отражение в динамике тиаминзависимых показателей. В период беременности активность тиаминзависимого фермента ТК снижалась как у норок, так и у песцов. Уровень общего тиамин у норок был достаточно стабилен во все исследованные периоды, повышаясь во время беременности. Активность ТДФ-аза резко снижалась в период гона у самок и самцов норок, незначительно повышалась у беременных самок, а в дальнейшем ее активность приближалась к первоначальной. Дополнительное введение витамина зверям стабилизировало уровень тиаминзависимых показателей на протяжении всего периода исследования.

4. Экспериментальный пищевой В₁-авитаминоз у норок характеризовался увеличением ТДФ-эффекта, активность ТК имела тенденцию к повышению через месяц после начала кормления тиаминной рыбой. В процессе развития дефицита снижение уровня ТДФ в крови протекало без дальнейшего изменения активности ТК, однако при этом наблюдалось снижение в крови активности Т-киназы, ТДФ-киназы, ТДФ-азы, уровня ТТФ и Фн. У норок, получавших дополнительно к рациону бенфотиамин, ферменты синтеза Т-киназа и ТДФ-киназа остались на прежнем уровне. При развитии дефицита тиамин наиболее существенные отклонения были обнаружены в печени и почках, содержание тиамин в сердце и мозге затронуто не было.

5. Экспериментальный ОТ-авитаминоз у норок характеризовался значительным ингибированием активности ТК и увеличением ТДФ-эффекта на фоне исходной адекватной обеспеченности и меньше - при исходном дефиците тиамин. При развитии ОТ-авитаминоза уровни ТДФ, ТТФ и общего тиамин значительно увеличивались на фоне разной обеспеченности тиамин. В то же время активность ТДФ-киназы снижалась с последующим ее увеличением, и особенно значительным у норок с исходной адекватной обеспеченностью, на фоне которой происходило снижение активности Т-киназы. У норок с исходным дефицитом

активность Т-киназы увеличивалась. Активация фермента гидролиза ТДФ-азы особенно интенсивно происходила у животных с недостаточностью тиамин. При исходном дефиците тиамин адаптация к ОТ и восстановление активных форм витамин происходили на фоне увеличения активности как фермента синтеза Т-киназы, так и фермента гидролиза ТДФ-азы. Другой фермент синтеза ТДФ-киназа активировался на более поздней стадии развития ОТ-авитаминоза.

6. Развитие ОТ-авитаминоза у песцов при введении антимаболига в дозе 8 мг/кг массы тела характеризовалось снижением уровня ТДФ. Общий тиамин снижался на первом этапе эксперимента, затем его уровень значительно увеличивался. Активность ТК не менялась, а ТДФ-эффект имел тенденцию к снижению. При введении высокой дозы ОТ (23 мг/кг) активность ТК снижалась, а величина ТДФ-эффекта значительно увеличивалась через 6 часов после введения антимаболига, уровни общего тиамин и ТДФ увеличивались. При введении песцам ОТ в большой дозе уровень ТДФ не являлся показателем В₁-недостаточности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные данные могут быть использованы в научных исследованиях и практике звероводства для оценки метаболического профиля тиамин норок и песцов, выявления нарушений в уровне кормления, для изучения влияния на организм животных экстремальных факторов среды. Материалы работы могут быть использованы в ветеринарной и зоотехнической практике для оценки эффективности лечебных и профилактических мероприятий.

Результаты исследований предложены специалистам звероводств Карелии в качестве тестов для оценки физиологического состояния пушных зверей, применяются в учебном процессе на сельскохозяйственном факультете Петрозаводского государственного университета и могут быть использованы в других вузах при подготовке специалистов ветеринарного и зоотехнического профиля.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Изотова С.П., Черкашина Е.Ю., Ильина Т.Н., Григович И.И. К вопросу об обеспеченности животных витаминами // Мат. Всесоюзной конфер. по физиологии продуктивных животных, Тарту, 1989. С. 150-151.

2. Ильина Т.Н. Подходы к изучению возможности использования белвитамина в звероводстве // Актуальные проблемы биологии и рациональное природопользование, Петрозаводск, 1990. С.33-34.

3. Ильина Т.Н., Петрова Г.Г. Содержание тиамина в печени зверей // Тез. Междунар. симп., Петрозаводск, 1991. С. 23.

4. Изотова С.П., Петрова Г.Г., Черкашина Е.Ю., Ильина Т.Н. Проявление адаптации норок к условиям пищевого В₁-авитаминоза в динамике обмена тиамина // Тез. Междунар. симп., Петрозаводск, 1991. С. 28.

5. Петрова Г.Г., Изотова С.П., Черникевич И.П., Ильина Т.Н. Влияние окситиамина на статус витамина В₁ в организме норок // Тез. симп., Петрозаводск, 1991. С. 56.

6. Изотова С.П., Ильина Т.Н. Роль тиамина в адаптации норок к различным факторам внешней среды // Метаболич. регуляция физиологич. сост. пушн. зверей. Петрозаводск, 1992. С. 112-120.

7. Изотова С.П., Петрова Г.Г., Черникевич И.П., Ильина Т.Н. Обмен тиамина при пищевом В₁-гиповитаминозе у пушных зверей // Метаболич. регуляция физиологич. сост. пушн. зверей. Петрозаводск, 1992. С. 52-77.

8. Изотова С.П., Черкашина Е.Ю., Григович И.И., Руоколайнен Т.Р., Ильина Т.Н. Острый В₁-авитаминоз и уровень витаминов В₁, А, Е, С у песцов. // Проблемы экологич. физиол. пушн. зверей. Петрозаводск, 1994. С. 113-128.

9. Ильина Т.Н., Черкашина Е.Ю., Черникевич И.П., Петрова Г.Г. Показатели обмена тиамина у норок в разные физиологические периоды // Проблемы экологич. физиол. пушн. зверей. Петрозаводск, 1994. С. 129-136.

10. Ijina T., Pietrowa G., Cholewa R., Czerkaszyzna E. Wplyw niedoboru witaminy B₁ (tiaminy) na jakosc scior porek // Roczn. AR Pozn. CCLXXII Zootech. 47: 77-82. 1995. - Польша.

11. Ильина Т.Н., Петрова Г.Г., Черникевич И.П., Тютюнник Н.Н. Некоторые показатели обмена тиамина при алиментарном авитаминозе // Мат. междунар. симп. Гродно, 1995. С. 122.

Автор выражает глубокую признательность к.б.н. Г.Г.Петровой и д.х.н. И.П.Черникевичу за помощь и содействие в выполнении работы.

148421K

Сдано в производство 17.03.97

Формат 60x90 1/16. Бумага офсетная

Уч.-изд.л. 1.0 Тираж 75 экз. Заказ №15

Карельский научный центр РАН

Петрозаводск, Пушкинская, 11.

