

На правах рукописи



Платонова Юлия Владимировна



Особенности ферментного спектра крови и молока у коров в зависимости от реакции на туберкулиновые пробы

16.00.02 - Патология, онкология и морфология животных

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Саратов - 2007

Работа выполнена на кафедре биотехнологии, органической и биологической химии
ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им Н И Вавилова»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Блинов Валерий Анатольевич

Официальные оппоненты: доктора ветеринарных наук, профессор
Дёмкин Григорий Прокофьевич

кандидат биологических наук,
Додонов Михаил Михайлович

Ведущая организация. ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им К Д Глинки»

Защита состоится «5» апреля 2007 г в 3 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 в ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ» по адресу 410012, г. Саратов, ул Театральная пл 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им Н И. Вавилова» по адресу 410005, г. Саратов, ул Соколова, 335.

Отзывы направлять по адресу. 410012, г Саратов, Театральная площадь, 1, ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», диссовет Д 220 061 01

Автореферат разослан «26» февраля 2007 г и размещен на сайте [www. ssau int](http://www.ssau-int)

Ученый секретарь
диссертационного совета



А В. Егунова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Значительный экономический урон животноводству наносит массовый убой крупного рогатого скота, позитивно реагирующего на туберкулиновые реакции. Результатом этого является недополучение приплода, снижение продуктивности, увеличение затрат, связанных с проведением комплекса профилактических, диагностических и оздоровительных мероприятий, а также необходимость выбраковки мяса при убое больного скота (А.Н. Шаров, 2000, А.Х. Найманов и др., 2004, Ю.А. Кассич и др., 2004; К.Т. Шенжанов, 2004, Т.Д. Ryan, 2000, J.M. Polloc, 2000; Н. Kohler, 2000, W.I. Morrison, 2000). Несмотря на очевидную актуальность, многие стороны этой проблемы (диагностика, клиника, их взаимосвязь с нарушениями метаболизма и продуктивностью и т.д.) крупного рогатого скота с различной реакцией на туберкулиновые пробы до сих пор исследованы недостаточно. Между тем, реакция на туберкулин и ее модификации имеют фундаментальную значимость для оценки распространенности туберкулеза среди крупного рогатого скота (М.М. Додонов, 2003, С. Pearson et al., 1977, К. Kwiatek, 1988, R. Micioga et al., 1991). Исходя именно из этих диагностических аллергических проб в настоящее время верифицируется диагноз заболевания (И.И. Румачик, 1990, В.Ф. Мартынов и соавт., 1991, А.И. Кузин, 1992, А.Н. Шаров и соавт., 2000, Ю.А. Кассич и соавт., 2004, D.L. Whipple et al., 2001).

Особое место в понимании патогенеза болезни, как известно, принадлежит обмену веществ. Однако сведения о сдвигах метаболизма в организме животных, положительно реагирующих на туберкулиновые пробы немногочисленны, нередко противоречивы и не дифференцированы в зависимости от их вида. Весьма недостаточно сведений о механизмах образования и качественном составе молока таких коров. Так, например, практически отсутствуют данные, об изменении активности ферментов в молоке у животных, реагирующих на КАМ (-), на туберкулин (+) или на туберкулин и КАМ (=). Кроме того, в литературе даже не обсуждается вопрос об индуцибельности и корреляционных взаимосвязях ферментов крови и молока у животных, в зависимости от их реакции на туберкулиновые пробы.

Разработка указанных вопросов может наметить пути нивелирования метаболических расстройств, понять тонкие механизмы образования составных частей молока и осуществлять коррекцию его качественного состава, раскрыть новые стороны влияния аллергических реакций замедленного типа на организм жвачных. Более того, комплексная оценка сдвигов обмена веществ, особенно ферментного спектра крови и молока, позволит разработать дополнительные критерии, характеризующие специфичность процесса, что особенно важно для высокопродуктивных коров. Исходя из этих представлений, актуальность темы расценивается как современная и перспективная.

Цель и задачи исследования. Цель работы состояла в том, чтобы установить особенности спектра ферментов крови и молока коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы и выявить у них отличия индукции ферментов на экзогенные стимулы

Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи

1 Изучить клиническую картину и активность некоторых ферментов крови коров черно-пестрой породы в зависимости от реакции на туберкулиновые пробы

2 Установить особенности субстратной и гормональной индукции ферментов крови коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы

3 У коров, в зависимости от реакции на туберкулиновые пробы, изучить качественный состав молока, в т ч спектр ферментов, а также степень их индукции под влиянием экзогенных стимулов

4 Изучить корреляционные взаимосвязи между ферментами крови и молока у коров с различной реакцией на туберкулиновые пробы

Объект исследования. Крупный рогатый скот с разной реакцией на туберкулиновые пробы

Предмет исследования. Активность ферментов крови и молока у коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы

Научная новизна. Впервые установлены различия в активности некоторых ферментов крови и молока у коров в зависимости от реакции на туберкулиновые пробы. У животных, реагирующих на КАМ (-) ферментный спектр крови и молока, его физико-химические свойства практически не отличаются от здоровых животных. Напротив, у коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=), в крови и молоке развивается дисбаланс ферментов, относящихся к разным классам

Впервые изучены корреляционные взаимосвязи одноименных и разноименных ферментов крови и молока. Показано, что у коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=) вклад ферментов крови в аналогичные показатели молока оказывается более значительным, чем у здоровых и коров, реагирующих на КАМ (-) У коров подопытных групп корреляционные связи между разноименными ферментами крови и молока изменяются в зависимости от реакции организма на туберкулиновые пробы, свидетельствуя о своеобразии у них механизмов молокообразования

Разработана схема и определены дозы субстратов и гормона для индукции ферментов крови и молока у крупного рогатого скота Впервые показано, что у коров с позитивной реакцией на туберкулиновые пробы понижена резистентность некоторых ферментов крови и молока к индуцирующему действию экзогенных стимулов

Теоретическая и практическая значимость работы. На основании изучения ферментного спектра крови и молока коров, их корреляционных взаимосвязей и отчетливых особенностей индукции ферментов, раскрыты ранее неизвестные стороны изменения метаболизма в организме коров в зависимости от их реакции на туберкулиновые пробы. Эти результаты имеют значение для более глубокого понимания патогенеза болезни и могут использоваться для верификации диагноза.

Полученные данные следует использовать в практической деятельности в качестве дополнительных тестов при углубленной диагностике туберкулеза жвачных, что необходимо для обоснованной выбраковки больных животных, особенно среди коров с высокой продуктивностью.

Апробация и реализация результатов исследования. Результаты научных исследований доложены, обсуждены и одобрены на Всероссийских научно-практических конференциях, посвященных 117-й - 119-й годовщинам со дня рождения Н.И. Вавилова (г. Саратов, 24-26 ноября 2004 г., 23-25 ноября 2005 г., 4-8 декабря 2006 г.), на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской и учебно-методической работы (г. Саратов, 4-8 февраля 2005; 4-8 февраля 2006), на Международной научно-практической конференции «Современные технологические и селекционные аспекты развития животноводства России в рамках межведомственной координационной программы» (г. Дубровица, 18-21 октября, 2005 г.), на VI Всероссийской научно-практической конференции «Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития» (г. Саратов, 2006 г.), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы развития АПК» (г. Саратов, сентябрь 2006 г.), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной патологии, физиологии, биотехнологии, селекции животных» (г. Саратов, 2007 г.).

Публикация результатов исследования. Основные положения диссертации опубликованы в 13 работах. Одна работа опубликована в издании рекомендованном ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 141 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 291 источник литературы, в том числе 56 зарубежных. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 20 рисунками.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1 Особенности ферментного спектра крови коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы.

2 Субстратная и гормональная индукция ферментов крови коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы

3 Особенности качественного состава, спектра ферментов молока и их индукции у коров, реагирующих на туберкулиновые пробы

4 Характерные корреляционные взаимосвязи между ферментами крови и молока у коров с различной реакцией на туберкулиновые пробы

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в 2003-2005 гг на базе СХПК «Штурм» Новобурасского района, СХП «Садомское» Базарнокарабулакского района Саратовской области и в научной лаборатории кафедры биотехнологии, органической и биологической химии ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ».

При постановке диагноза учитывали результаты эпизоотологических исследований, данные патологоанатомического вскрытия, а дифференциацию специфических реакций проводили симультанной пробой с комплексным аллергеном из атипичных микобактерий (КАМ) В опытах находились 82 коровы черно-пестрой породы, которые были разделены следующим образом 1 группа – контрольная (22 коровы), они не реагировали как на туберкулин, так и на КАМ, 2 группа – животные реагировали в большей степени на КАМ (-), чем на туберкулин (17 коров), 3 группа – животные с ярко выраженной реакцией на туберкулин (+) (24 коровы), 4 группа – животные, которые имели ярко выраженную реакцию на туберкулин и на КАМ (=) (19 коров) В процессе исследования было выполнено несколько разных серий экспериментов и каждая опытная группа для сравнения имела контрольную, т е группу аналогов

В крови и молоке коров определяли активность следующих ферментов: аспаргатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) динитрофенилгидразиновым методом Рейтмана-Френкеля, с помощью наборов фирмы «Lachema» (S Rietman, 1957), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – реактивами набора «Lachema» (H S Spiegel, 1972), щелочной фосфатазы – (ЩФ) набором фирмы Vital Diagnostics, унифицированным методом по «конечной точке» (В С Камышников, 2000), каталазы – по методу Баха и Зубковой (О.Д. Кушманова и др , 1983), пероксидазы – методом, основанном на способности фермента катализировать окисление бензидина перекисью водорода в п-хинондиимид (В С Камышников, 2000) В молоке, кроме указанных ферментов, определяли содержание общего белка, казеина, лактозы, сухого остатка, золы, а также измеряли его плотность и титруемую кислотность (Г.С Инихов, 1956, В А Блинов, 1995).

При проведении опытов были обнаружены существенные различия в активности ферментов крови и молока у коров, неодинаково реагирующих на туберкулиновые пробы. Это позволило предположить о различной степени индукции ферментов у коров контрольной и опытных групп. Подобных исследований у крупного рогатого скота, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы, ранее не проводилось. Исходя из этого нами, сначала на 15 кроликах была разработана технология индукции ферментов и подобраны экзогенные стимулы, способные изменять активность исследованных энзимов. Такими субстратными и гормональными индукторами оказались фосфатный буфер (Диахим[™] – Буфер-Г), молочная кислота (40%, ОКП 26 3451 0331, Вектон), глицерин (чда, Германия, Лаверна) и гидрокортизон-ацетат (Гедеон-Рихтер, Венгрия).

После получения этих данных, эксперименты были проведены на крупном рогатом скоте. Фосфатный буфер pH 6,8-7,2, вводили коровам внутрь в дозе 2,5 мл на 1 кг живой массы. Молочную кислоту задавали *per os* из расчета 0,6 мл на кг, предварительно разбавив ее водой в соотношении 1:3. Глицерин также вводили *per os* из расчета 2 г на 1 кг живой массы коров. Гидрокортизон-ацетат инъецировали в предлопаточную область внутримышечно, из расчета 2,2 мг/кг. Указанные индукторы активности ферментов вводили животным натощак. Забор крови проводили из яремной вены до дачи препаратов, а затем через 3, 6 и 24 часа после их приема. Следует подчеркнуть, что при этих воздействиях активность ферментов крови, а также молока через сутки не отличалась от тощаковых значений.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере Pentium IV с помощью стандартного пакета статистических программ Microsoft Excel. Достоверность различий определяли методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $P < 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Активность ферментов крови у коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы

Установлено (таблица 1), что активность всех исследованных нами ферментов крови у контрольных животных и коров, реагирующих на КАМ (-), была практически одинаковой. У коров, же реагирующих на туберкулин (+) или на туберкулин и КАМ (=) активность АСТ, ЛДГ, ЩФ оказалась выше, чем в контроле на 10,0 - 23,2% ($P < 0,02$). В то же время активность каталазы и пероксидазы в крови больных животных имела иную направленность, она не повышалась, а понижалась, соответственно на 11,8 - 13,3% и на 32,6 - 34,1% ($P < 0,02$).

Следовательно, в крови у коров, позитивно реагирующих на туберкулиновые пробы, развивается явный дисбаланс ферментов, относящихся к разным классам. Полученные дан-

ные позволяют считать, что изменение активности ферментов следует использовать в качестве дополнительного диагностического теста у коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы. Они предполагают также применение соответствующих, патогенетически обоснованных корректирующих мероприятий.

Таблица 1 - Активность ферментов крови у обследованных коров

Группы животных Показатели	Контроль	Реагирующие на КАМ(-)	Реагирующие на туберкулин(+)	Реагирующие на туберкулин и КАМ(=)
	1	2	3	4
АСГ, мккат/л	0,168±0,006	0,168 ±0,010	0,196±0,005	0,196±0,008
АЛТ, мккат/л	0,160±0,009	0,145±0,010	0,177±0,008	0,176±0,010
ЛДГ, мккат/л	3,23±0,05	3,24±0,08	3,66±0,05	3,67±0,04
ЩФ, нмоль/(с·л)	436,4±24,0	467,0±18,0	537,5±18,0	536,1±13,0
Каталаза, (ката-лазное число)	15,50±0,07	15,38±0,18	13,68±0,26	13,43±0,36
Пероксидаза (% активности)	51,6±1,4	50,4±1,7	34,8±2,8	34,0±3,8

3.2 Особенности индукции ферментов крови

Установлено, что после введения коровам *per os* фосфатного буфера в крови у них лишь незначительно и статистически не достоверно изменялась активность АСТ, АЛТ, ЛДГ, каталазы и пероксидазы. Иная картина оказалась характерной для щелочной фосфатазы. Активность этого фермента статистически достоверно повышалась через 3 часа после введения фосфатного буфера только у контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-), соответственно на 33,3 и 27,8% ($P < 0,05$). У коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=) полностью отсутствовала индукция щелочной фосфатазы в ответ на введение фосфатного буфера. Оказалось (рисунок 1), что общий подъем активности ЩФ в контрольной группе коров составил 22,9%, тогда как у животных 2 и 4 групп он был равен соответственно 19,3 и 2,3%. Что касается животных 3 группы, то у них общая активность этого фермента было даже пониженной, на 3,4%. Иными словами, у больных коров развивается отчетливо выраженная резистентность щелочной фосфатазы в ответ на действие специфического индуктора.

Далее, в качестве субстратного индуктора была использована молочная кислота. После ее введения не наблюдалось достоверных изменений активности АСТ, ЩФ, каталазы и пероксидазы у животных всех групп. Под действием лактата у коров контрольной группы и коров, реагирующих на КАМ (-), статистически достоверно повысилась только активность

ЛДГ через 3 часа на 18,8-20,3% ($P<0,05$), а через 6 часов – на 30,6-26,3% ($P<0,01$) У коров же 3 и 4 подопытных групп активность ЛДГ под влиянием лактата не изменялась Расчетные данные показали (рисунок 1), что общий подъем активности ЛДГ в контрольной группе коров составил 18%, тогда как у животных 2 и 3 групп он был равен соответственно 15,9 и 2,1% Что касается животных 4 группы, то у них общая активность этого фермента оказалась сниженной – на 1%

В то же время у животных, реагирующих на туберкулин (+), на губеркулин и КАМ (=), под действием лактата произошла индукция АЛТ Так, у коров, реагирующих на туберкулин (+) активность этого фермента через 6 часов после введения молочной кислоты увеличилась на 24,6% ($P<0,02$), у реагирующих на туберкулин и КАМ (=) через 3 часа – на 15,9% ($P<0,05$), а через 6 часов – на 29,8% ($P<0,02$) Итак, у больных животных на введение молочной кислоты увеличивается активность не лактатдегидрогеназы, а индуцируется активность аланинаминотрансферазы

Под влиянием нагрузки глицерином, статистически значимо изменялась активность лишь АСТ и АЛТ. Причем эти сдвиги были весьма своеобразными У контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-) активность трансаминаз увеличилась, по сравнению с тощачевыми показателями, через 3 и 6 часов А у коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=), лишь через 6 часов и в гораздо меньшей степени При анализе общего подъема активности АСТ оказалось (рисунок 1), что в контрольной группе коров и у животных 2-й группы он составил 31,5% и 53,2% В то же время у животных 3 и 4 групп подъем активности АСТ под влиянием глицерина был равен соответственно 16,5 и 10,9% Следовательно, животные с явной положительной реакцией на туберкулиновые пробы весьма неадекватно реагировали повышением активности АСТ и АЛТ в ответ на введение глицерина

Гидрокортизон у коров контрольной и подопытных групп более широко изменял спектр ферментов крови У контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-) наблюдалось увеличение активности АСТ и АЛТ через 3 и 6 часов после его введения У животных, реагирующих на туберкулин (+) и туберкулин и КАМ (=), активность АСТ и АЛТ под влиянием гормона повышалась лишь к 6-му часу, причем в гораздо меньшей степени Иными словами, для животных 3 и 4 групп была характерна запоздалая реакция в ответ на гормональный стимул Общий подъем активности АЛТ (рисунок 1) составил у контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-) 22,9 и 24,8%, а у реагирующих на туберкулин (+) и туберкулин и КАМ (=) – 13 и 11,6% Введение гидрокортизона способствовало статистически достоверному возрастанию активности ЛДГ через 3 и 6 часов только у коров первых двух групп У коров, же положительно реагирующих на туберкулиновые пробы, напротив, активность этого фермента снижалась на 6,3-8%

Таким образом, впервые показано, что у коров, положительно реагирующих на туберкулиновые пробы а) понижена чувствительность ряда ферментов к индуцирующему действию внешних стимулов, б) развивается дисбаланс в ферментном спектре крови, в) в ответ на специфический индуктор может повышаться активность ряда других ферментов

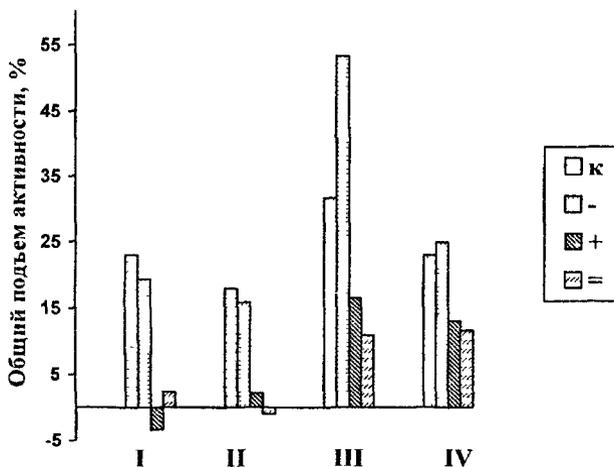


Рисунок 1 – Изменение в крови коров общей активности ШФ (I) под влиянием фосфатного буфера, ЛДГ (II) - лактата, АСТ (III) - глицерина и АЛТ(IV) - гидрокортизона

3.3 Сдвиги качественного состава молока

При анализе физико-химических показателей молока было установлено, что они у контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-), оказались практически одинаковыми. В то же время у коров, реагирующих на туберкулин (+) и реагирующих на туберкулин и КАМ (=), нами отмечено снижение плотности молока, титруемой кислотности, на 14%-17% ($P < 0,01$), сухих веществ, на 8,0-10,3% ($P < 0,02$). В молоке у этих коров, содержание белка и казеина было ниже на 4,0-8,6% ($P < 0,02$), а уровня лактозы – на 2,3-3,0% ($P < 0,02$).

Своеобразные изменения были присущи и ферментам молока (таблица 2). Так, в молоке у коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=) статистически достоверно по сравнению с контролем была повышена активность АСТ, АЛТ и ЛДГ. В то же время у них активность щелочной фосфатазы и пероксидазы в молоке была на 24,3-48,8% ($P < 0,02$) ниже, чем в норме.

Таблица 2 - Активность ферментов молока у обследованных коров

Группы животных Показатели	Контроль	Реагирующие на КАМ(-)	Реагирующие на туберкулин(+)	Реагирующие на туберкулин и КАМ (=)
	1	2	3	4
АСТ, мккат/л	0,030±0,003	0,028±0,006	0,042±0,003	0,042±0,004
АЛТ, мккат/л	0,027±0,003	0,025±0,003	0,032±0,002	0,034±0,001
ЛДГ, мккат/л	0,49±0,02	0,49±0,03	0,63±0,03	0,67±0,05
ЩФ, нмоль/(с×л)	152,9±9,0	150,1±12,0	115,8±5,1	111,2±8,4
Каталаза, (ката-лазное число)	0,48±0,04	0,48±0,07	0,52±0,05	0,53±0,08
Пероксидаза (% активности)	45,9±2,8	45,5±1,2	27,3±2,7	23,5±4,4

Таким образом, впервые нами установлено, что у коров 3 и 4 групп активность АСТ, АЛТ и ЛДГ оказалась статистически достоверно выше, как в крови, так и в молоке, по сравнению с контрольными животными. Причем, активность этих ферментов в молоке повышалась значительно, чем в крови. Это с большой долей вероятности указывает на повышенный синтез АСТ, АЛТ и ЛДГ в молочной железе коров, явно реагирующих на туберкулиновые пробы.

Отчетливо выраженный дисбаланс установлен нами и в отношении других ферментов. Так, активность пероксидазы у больных коров оказалась в одинаковой степени пониженной как в крови, так и в молоке. Это может свидетельствовать о беспрепятственном переходе фермента из крови в молоко. Вместе с тем, активность щелочной фосфатазы увеличилась в крови коров 3 и 4-й групп, но была снижена в молоке этих животных. Иными словами, транспорт щелочной фосфатазы в молоко больных коров был затруднен. Что касается каталазы, то ее активность в крови коров с подозрением на туберкулез значительно снижалась, оставаясь, однако, неизменной в молоке у этих животных, по-видимому, за счет адекватного синтеза в самой молочной железе.

3.4 Влияние индукторов на активность ферментов молока

Было установлено, что фосфатный буфер, введенный коровам *per os*, практически не изменял в молоке у них активность исследованных нами ферментов, даже щелочной фосфатазы. В то же время под влиянием лактата в молоке коров контрольной группы и коров, реагирующих на КАМ (-) через 6 часов активность лактатдегидрогеназы увеличивалась соответственно на 52,2% ($P<0,02$) и 45,8% ($P<0,05$). Однако, она совершенно не изменялась в молоке коров, реагирующих на туберкулин (+) или туберкулин и КАМ (=). Общий подъем активности ЛДГ молока (рисунок 2) под действием молочной кислоты был равен у контрольных коров 28,9, у коров реагирующих на КАМ (-) – 22,2, а у коров 3 и 4 группы соответственно 8,1 и 4,9%. Иными словами, у коров последних двух групп развивается своеобразная «глухота», резистентность ЛДГ к индуцирующему действию лактата. Как установлено далее, у коров не только в крови, но и в молоке под влиянием лактата повышалась активность АЛТ. Однако только у коров 3 и 4 групп. Так, у животных, реагирующих на туберкулин (+) она оказалась больше, чем натошак на 59,4% ($P<0,05$), а у реагирующих на туберкулин и КАМ (=) – на 62,2% ($P<0,05$). Активность АСТ, ЩФ, каталазы и пероксидазы в молоке под влиянием лактата изменялась незначительно и статистически не достоверно.

Для некоторых групп коров весьма эффективным индуктором ферментов молока оказался глицерин. После его введения у коров контрольной группы активность АСТ молока через 3 часа увеличилась в 2,5 раза ($P<0,02$), а через 6 часов – в 2 раза ($P<0,05$). У коров, реагирующих на КАМ (-) через 3 часа активность АСТ молока увеличилась в 2,7 раза ($P<0,05$), а через 6 часов – в 3 раза ($P<0,05$). Вместе с тем у животных, реагирующих на туберкулин (+) активность АСТ в молоке повысилась только через 6 часов, причем, всего на 47% ($P<0,05$). У животных же, реагирующих на туберкулин и КАМ (=), индукции АСТ мы не наблюдали вообще. Общий подъем активности АСТ молока под действием глицерина (рисунок 2) составлял у контрольных коров 82,6%, у коров, реагирующих на КАМ (-) активность фермента увеличилась в 1,5 раза, а у коров 3 и 4 группы соответственно на 18,9 и 10,7%. Повышение активности другой трансаминазы, АЛТ, под влиянием глицерина мы зафиксировали лишь у коров, реагирующих на КАМ (-), в 2 раза ($P<0,05$). Остальные исследованные нами ферменты молока под влиянием глицерина статистически значимо не изменялись.

Наконец, под влиянием гормонального стимула, у контрольной группы коров активность АСТ молока увеличилась к 6-му часу эксперимента, в 2 раза ($P<0,05$), а у коров, реагирующих на КАМ (-) – на 59,4% ($P<0,05$). У коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=) инъекция гидрокортизона никакого влияния на активность этого фермента молока не оказала. Близкая к описанной картина наблюдалась нами также в отношении АЛТ и ЛДГ молока. Под влиянием гидрокортизона активность АЛТ молока статистиче-

ски достоверно увеличивалась в 2 раза ($P < 0,05$), но только через 6 часов опыта и только у коров, реагирующих на КАМ (-) Общий подъем активности АЛТ молока под действием гидрокортизона (рисунок 2) составлял у контрольных коров 79,6%, у коров, реагирующих на КАМ (-) – 55%, а у коров 3 и 4 группы соответственно 13,5 и 10,4 % Активность ЛДГ также возрастала лишь к 6-му часу эксперимента, как у коров контрольной группы, так и коров, реагирующих на КАМ (-), соответственно на 54,2% ($P < 0,01$) и 47,9% ($P < 0,02$) У коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=) этот фермент молока индукции не подвергался

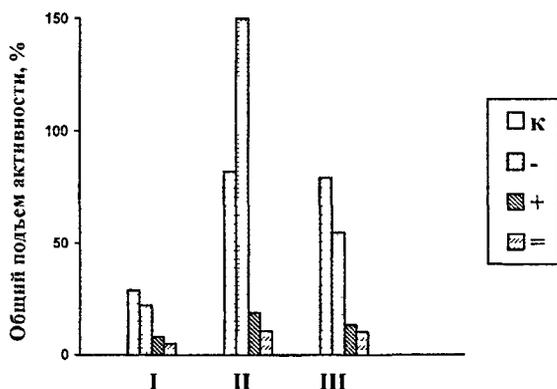


Рисунок 2 – Изменение в молоке коров общей активности ЛДГ (I) под влиянием лактата, АСТ (II) - глицерина и АЛТ(III) - гидрокортизона

3.5 Корреляционные взаимосвязи ферментов крови и молока

Взаимосвязи ферментов крови и молока у обследуемых коров оценивались нами в двух направлениях. Сначала были проанализированы корреляционные связи между различными ферментами крови и молока у коров всех четырех групп. У контрольной группы коров из 30 исследуемых признаков высокие и средние корреляционные взаимосвязи обнаружены нами в 11 случаях. Это, высокие положительные и отрицательные, взаимосвязи между АЛТ крови и АСТ молока, ЛДГ крови и АСТ молока, каталазой крови и АСТ, АЛТ молока (r соответственно 0,841, -0,716, -0,775, -0,732). У этих животных средние положительные и отрицательные связи установлены между АСТ крови и АЛТ, каталазой молока (r 0,677 и -0,633); между ЛДГ крови и АЛТ, щелочной фосфатазой, каталазой молока (r соответственно -0,694, -0,505, 0,619), между щелочной фосфатазой крови и АЛТ молока (r -0,551), каталазой крови и щелочной фосфатазой молока (r -0,645).

У коров, реагирующих на КАМ (-) описываемых взаимосвязей оказалось больше – 17 из 30. Так, статистически значимая корреляция установлена между АСТ крови и АЛТ, ЛДГ и щелочной фосфатазой молока (r 0,845, 0,915, 3,040), АЛТ крови и АСТ и ЛДГ молока (r 0,845, 0,880), ЛДГ крови и щелочной фосфатазой молока (r -0,980), щелочной фосфатазой крови и каталазой молока (r 0,975), каталазой крови и щелочной фосфатазой молока (r 0,752), пероксидазой крови и ЛДГ молока (r 0,787). Средние взаимосвязи оказались характерными между АСТ крови и пероксидазой молока (r 0,522), АЛТ крови и пероксидазой молока (r 0,597), ЛДГ крови и каталазой молока (r 0,657); щелочной фосфатазой крови и АЛТ, пероксидазой молока (r соответственно -0,648 и 0,528), пероксидазой крови и АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазой молока (r 0,612, 0,558, -0,518). Полученные данные позволяют предположить, что у коров, реагирующих на КАМ (-) увеличена лабильность взаимосвязей исследованных нами признаков.

Что касается коров, реагирующих на туберкулин (+), то у них исследуемые признаки оказались взаимосвязаны гораздо реже, чем у контрольных коров и коров, реагирующих на КАМ (-). Высоких и средних, положительных и отрицательных взаимосвязей у них было всего 4 из 30-ти. Это взаимосвязи между АСТ крови и АЛТ молока (r 0,720), АЛТ крови и АСТ молока (r 0,866), ЛДГ крови и пероксидазой молока (r -0,632); щелочной фосфатазой крови и каталазой молока (r -0,761). По нашему мнению, такие результаты свидетельствуют о «разбалансировке» ферментного спектра крови, а значит и метаболизма больных коров.

В последней группе коров, которые реагировали на туберкулин и КАМ (=), взаимосвязей между ферментами крови и молока, оказалось – 13 из 30. Так, высокие связи установлены между АСТ крови и АЛТ, щелочной фосфатазой, каталазой молока (r 0,836, -4,900, 0,572), АЛТ крови и АСТ, каталазой молока (r 0,917, 0,660), ЛДГ крови и АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазой, каталазой и пероксидазой молока (r соответственно 0,591, 0,552, -0,519, 0,590, -0,699), щелочной фосфатазой крови и каталазой молока (r -0,532), пероксидазой крови и ЛДГ, щелочной фосфатазой молока (r -0,590, 0,582).

Следовательно, у обследованных коров корреляционные связи между разноименными ферментами крови и молока изменяются в зависимости от реакции организма на туберкулиновые пробы. Причем, у них развивается более широкая и менее регулируемая лабильность таких важных метаболитов гомеостаза как ферменты.

Далее были изучены корреляционные связи между одноименными ферментами крови и молока (таблица 3). Установлено, что с увеличением активности АСТ и АЛТ в крови у всех обследованных животных возрастает активность этих ферментов и в молоке. Причем, корреляционные связи всегда были более тесными у коров 3 и 4-й групп. Четких коррелятивных различий между ЛДГ крови и молока у коров контрольной группы и коров, реагирующих на

КАМ (-) нам установить не удалось. В то же время у коров, реагирующих на туберкулин (+) корреляция оказалась средней положительной, а у коров, реагирующих на туберкулин и КАМ (=) – высокой положительной. Следовательно, в процессе заболевания, изменяются взаимосвязи между ЛДГ крови и молока. Причем, корреляция по мере усугубления болезни, становится более выраженной и тесной, отражая возможность индукции синтеза ЛДГ в самой молочной железе.

Эти практически значимые факты, установленные нами впервые, могут иметь несколько объяснений. По-видимому, у животных с отчетливой реакцией на туберкулиновые пробы увеличивается проницаемость молочных цистерн вымени для ряда ферментов крови. В результате, в молоке у них повышается активность АСТ, АЛТ и особенно ЛДГ. Не исключено также, что сама молочная железа больных коров оказывается способной к биосинтезу указанных ферментов.

Отрицательные коррелятивные взаимосвязи в отношении щелочной фосфатазы крови и молока обнаружены нами у всех обследованных групп животных. Это подтверждает сделанное нами ранее заключение об уменьшении активности щелочной фосфатазы в молоке животных с разной реакцией на туберкулиновые пробы. Кроме того, корреляционные взаимосвязи твердо свидетельствуют о том, что ЩФ не синтезируется молочной железой коров, а заболевание этот синтез не индуцирует.

У больных животных постепенно ослабевают корреляционные связи между каталазой крови и молока: они из средних положительных становятся слабыми положительными. Такие взаимосвязи, вероятнее всего характеризуют возможность синтеза каталазы в молочной железе коров с явно выраженной реакцией на туберкулиновые пробы.

Корреляционные взаимосвязи между пероксидазой крови и молока у контрольных коров были слабо отрицательными, у коров, реагирующих на КАМ (-) – слабо положительными, а у животных, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=) – более тесными, вплоть до высоких положительных. Это, на наш взгляд, отражает значительную степень индукции пероксидазы в молочной железе коров, реагирующих на туберкулин (+) и на туберкулин и КАМ (=).

Таким образом, результаты наших исследований позволили установить ранее неизвестные изменения ферментного спектра в организме коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы. Выявлены особенности сдвигов активности ферментов крови и молока коров, реагирующих на КАМ (-), туберкулин (+) и туберкулин и КАМ (=) под влиянием субстратных и гормональных индукторов. Установлены особенности ферментного спектра молока и

Таблица 3 – Взаимосвязь одноименных ферментов крови и молока (г)

Группы животных Показатели	Контроль	Реагирующие на КАМ(-)	Реагирующие на туберкулин(+)	Реагирующие на туберкулин и КАМ (=)
	1	2	3	4
АСТ крови – АСТ молока	0,903	1,000	1,000	1,000
АЛТ крови – АЛТ молока	0,746	0,785	0,901	0,942
ЛДГ крови – ЛДГ молока	-0,678	0,173	0,562	0,724
ЩФ крови – ЩФ молока	-0,488	-0,697	-0,096	-0,325
Каталаза крови – каталаза молока	0,645	-0,279	0,008	0,028
Пероксидаза крови – пероксидаза молока	-0,049	0,079	0,772	0,849

раскрыты новые механизмы образования составных частей молока у коров, в зависимости от их реакции на туберкулиновые пробы. Полученные данные могут иметь значение для более глубокого понимания механизма действия туберкулиновых проб, а также служить дополнительными диагностическими критериями при постановке соответствующего диагноза.

4 ВЫВОДЫ

1 В крови у коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=), по сравнению со здоровыми и реагирующими на КАМ (-) животными, повышается активность аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы, при одновременном существенном снижении активности каталазы и пероксидазы.

2 Впервые установлено, что у коров с разной реакцией на туберкулиновые пробы понижена чувствительность ряда ферментов к индуцирующему действию внешних стимулов. У коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=) отсутствовала индукция щелочной фосфатазы в ответ на введение фосфатного буфера, лактатдегидрогеназы – на введение молочной кислоты, глицерина и гидрокортизона, развивалась запоздалая и ослаб-

ленная реакция аспаргатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы на введение глицерина и гидрокортизона

3 Молоко коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=), по сравнению с контрольными и коровами, реагирующими на КАМ (-), имеет меньшую плотность и титруемую кислотность, в нем снижено содержание общего белка, казеина, лактозы и сухих веществ

4 Установлено, что в молоке у коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=) увеличивается активность аспаргатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы и снижается активность щелочной фосфатазы и пероксидазы

5 Установлено ранее не известное влияние субстратных (фосфатный буфер, лактат, глицерин) и гормональных (гидрокортизон-ацетат) индукторов на активность ферментов молока коров У коров, реагирующих на туберкулин (+) под влиянием лактата в молоке увеличивается активность аланинаминотрансферазы, но не лактатдегидрогеназы, глицерина – активность аспаргатаминотрансферазы. У коров, реагирующих на туберкулин и КАМ (=) после введения лактата наблюдается увеличение активности аланинаминотрансферазы, а не лактатдегидрогеназы

6 Впервые показано, что из 30 разноименных признаков (ферментов) у контрольной группы коров взаимосвязаны 11, у коров, реагирующих на КАМ (-) – 17, на туберкулин (+) – 4, а на туберкулин и КАМ (=) – 13 У коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=), ослабляется регулирующее влияние организма на качественный состав молока

7 У коров, реагирующих на туберкулиновые пробы вклад ферментов крови в аналогичные ферменты молока существенно отличается от нормы Высокие корреляционные связи между трансаминазами, лактатдегидрогеназой и пероксидазой крови и молока у коров, реагирующих на туберкулин (+), на туберкулин и КАМ (=) свидетельствуют о более значительном вкладе активности указанных ферментов крови в аналогичные ферменты молока, чем у коров контрольной группы и реагирующих на КАМ (-)

5 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1 Изменение ферментного спектра крови коров с различной реакцией на туберкулиновые пробы следует использовать в качестве дополнительного диагностического критерия при дифференциации неспецифических реакций у крупного рогатого скота, обследуемого на наличие туберкулеза

2 Полученные результаты необходимы для оценки метаболического, resp. ферментативного, статуса коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы При проведении углубленной верификации диагноза у крупного рогатого скота, особенно высокопродук-

тивных пород, впервые предложено использовать субстратную и гормональную индукцию ферментов, которая значительно отличается у больных животных от нормы

3 Данные об изменении составных частей молока коров, реагирующих на туберкулиновые пробы, следует учитывать при использовании такого молока в технологических процессах

4 Материалы диссертации рекомендуется использовать в учебном процессе при подготовке специалистов ветеринарного профиля, на курсах повышения квалификации, а также при подготовке учебников и учебно-методических пособий

6 СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Платонова, Ю В Изменение активности ферментов крови коров больных туберкулезом / Ю В Платонова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции посвященной 117-й годовщине со дня рождения академика Николая Ивановича Вавилова – Саратов: СГАУ, 2004 – С 42-44

2 Платонова, Ю В Изменение составных частей молока у коров реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова, В А Блинов // "Современные технологические и селекционные аспекты развития животноводства России в рамках межведомственной координационной программы". Материалы 3 Международной научно-практической конференции – Т 1. – Дубровица, 2005. – С 269-270

3 Платонова, Ю В Ферментный спектр молока у коров, подозреваемых в заболевании туберкулезом // Молодые ученые АПК Поволжского региона Сб науч работ / Ю В Платонова. – Саратов СГАУ, 2005 – С. 209-212

4 Платонова, Ю В Субстратная и гормональная индукция ферментов у кроликов породы шиншилла / Ю В. Платонова // Материалы конференции посвященной 118-й годовщине со дня рождения академика Николая Ивановича Вавилова – Саратов. СГАУ, 2005 – С 84-86

5 Платонова, Ю.В. Индукция ферментов молока у коров, реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова // Ветеринарная медицина Современные проблемы и перспективы развития Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции – Саратов, 2006 – С.272-275.

6 Платонова, Ю В Субстратная и гормональная индукция ферментов крови, у коров реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова // Ветеринарная медицина Современные проблемы и перспективы развития Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции – Саратов, 2006 – С 275-279.

7. Платонова, Ю В Характеристика ферментного спектра крови коров с подозрением на туберкулез / Ю В Платонова, В А Блинов // Ветеринария Поволжья -- 2006. – №2(11) – С 46-48

8 Платонова, Ю В. Определенне активности ферментов крови у коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова // Информационный листок №8 - 2006. – Саратов. Саратовский ЦНТИ, 2006 – 2с

9. Платонова, Ю В Изменение составных частей и ферментного спектра молока у коров, реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В. Платонова // «Актуальные проблемы развития АПК» Материалы Всероссийской научно-практической конференции – Саратов СГАУ, 2006. – С 74-76

10 Платонова Ю В Ферментный спектр крови и молока у коров, реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова, В А Блинов // Практик – 2006. – №4 – С 62-67

11 Платонова, Ю В Корреляционные взаимосвязи ферментов крови и молока у коров, по-разному реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю.В. Платонова // Материалы конференции посвященной 119-й годовщине со дня рождения академика Николая Ивановича Вавилова – Саратов СГАУ, 2006 – С 77-82

12 Платонова Ю.В Особенности ферментного спектра крови у коров положительно реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю.В Платонова, В.А. Блинов // Вестник Саратовского госагроуниверситета им НИ Вавилова – Саратов СГАУ, 2006 – №6 Выпуск 2 – С 6-8.

13. Платонова Ю В Индукция ферментов крови у коров, реагирующих на туберкулиновые пробы / Ю В Платонова // Актуальные проблемы ветеринарной патологии, физиологии, биотехнологии, селекции животных Материалы Всероссийской научно-практической конференции – Саратов «Саратовский источник», 2007 - С. 103-106

Подписано к печати 16 02 2007
Формат А5 Гарнитура Times New Roman Печать RISO.
1 печ л Тираж 100 экз Заказ № 24

Отпечатано в типографии "Техно-Декор"
410012, г. Саратов, ул. Московская, 160
тел 50-78-88, 51-19-93, 51-23-30