

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

На правах рукописи

ИЛЬИНА
Татьяна Николаевна

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

03.00.13 - физиология человека и животных

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 1997

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 ветеринар-
ной 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



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 тиаминаза, которая содержится в сырой рыбе, инактивирует тиамин и создает предпосылки для развития дефицита В₁ у зверей (Jezevska, 1981; Петрова, Изотова, Берестов, 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 тиамина у пушных зверей с использованием комплекса специфических биохимических показателей на различных стадиях онтогенеза и в зависимости от физиологического периода, практически не проводилось. Плотноядные пушные звери изучены менее других животных, в их организме отсутствует синтез тиамина и поэтому они могут представлять интерес в качестве модельного объекта для изучения процессов обмена тиамина.

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

1. Исследовать ряд специфических показателей обмена тиамина 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 тиамина в крови норок и песцов.

3. Исследовать влияние экспериментального алиментарного В₁-авитаминоза на показатели обмена тиамина.

4. Исследовать ряд специфических показателей обмена тиамина у норок и песцов при моделировании окситиаминового авитаминоза.

Научная новизна работы. Впервые получены данные по содержанию тиамина и комплексу показателей его обмена в крови и органах норок и песцов в различные возрастные и биологические периоды. Показано, что уровень тиамина и тиаминзависимых показателей находятся в зависимости от периода индивидуального развития, физиологического состояния организма животных и экзогенного поступления витамина. При моделировании алиментарного и окситиаминового авитаминоза у норок и песцов впервые получены данные об изменениях, происходящих на путях прохождения тиаминзависимых реакций. Установлено, что плотноядные 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: одномесячные щенки - через молоко матери (последним его вводили в корм в дозе 1 мл на зверя); трехмесячные

щенко получали по 0,3, а шести 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 исследовани содержание тиамин в органах.

Изменения обмена тиамин, связанные с физиологическим состоянием норок 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 норок и песцов. Пищевой экспериментальный авитаминоз у норок 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 норок 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 натошак 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 Вгунс 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 преинкубации образцов крови с ТДФ (Dreyfus, 1962). Величина ТДФ-эффекта до 15%

свидетельствует об адекватной обеспеченности, от 15 до 30% - о легком дефиците тиамина, от 30 до 40 % - об умеренной, выше 40% - о тяжелой недостаточности. Содержание тиамина 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 тиамина 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 тиамина у норок и песцов. В месячном возрасте у щенков норок наблюдалась высокая активность ТК и низкий ТДФ-эффект, характеризующие адекватную обеспеченность тиамином. Высокая активность ТК характерна в раннем онтогенезе (Хмелевский, 1967, 1970; Френкель, 1972). В печени новорожденных (2-й день) обнаружено высокое содержание общего тиамина ($5,69 \pm 0,48$ мкмоль/кг), которое резко снижалось к 20 дню жизни ($1,80 \pm 0,26$ мкмоль/кг) с последующим увеличением концентрации к 49-дневному возрасту ($7,69 \pm 0,41$ 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 тиаминовых ферментов (Хмелевский, 1970).

В 3-месячном возрасте, характеризовавшимся интенсивным ростом молодняка, активность ТК у норок 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%, характеризуя легкий дефицит тиамин.

В 6-месячном возрасте у норок наблюдалось снижение активности фермента и обнаружился дефицит тиамин по величине ТДФ-эффекта. Дополнительное введение тиамин 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, Побсрезкина 1990; Виноградов, Водоевич, Рожко, 1995). Исследование органов норок, показало, что наибольшая концентрация тиамин обнаружена в сердце, затем в почках, головном мозгу и печени. У песцов содержание тиамин 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 тиамин 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 тиамин, 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, Берстов, 1987).

2. Влияние биологического периода на показатели обмена тиамин у норок и песцов. Проведенные исследования показали, что в период подготовки к гону активность ТК у норок была высокой в обеих группах. Уровни общего тиамин, ТДФ и ТТФ-азы не имели различий по группам. У песцов, судя по величине ТДФ-эффекта, наблюдался легкий дефицит тиамин. 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 тиамин была в пределах нормы. По уровню общего тиамин 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 тиамин (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*
Лактация	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 тиамин.

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 тиамин по величине ТДФ-эффекта, что соответствовало и более низкому уровню общего тиамин ($p < 0,001$). 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 тиамин играло стабилизирующую роль в сохранении витаминного статуса в течение всего периода исследования.

3. Влияние экспериментального пищевого авитаминоза В₁ на показатели обмена тиамин норок. Моделирование пищевого авитаминоза у норок с использованием высокого содержания сырой тиаминной рыбы в рационе привело к развитию дефицита тиамин, 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_n также была ниже у зверей 1-й группы, чем в контроле ($p < 0,001$).

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

почки, мозг, печень. В содержании общего тиамин в сердце и мозге значительных колебаний по группам не установлено. В печени и почках содержание общего тиамин 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 тиамин.

При развитии дефицита в обмен включаются резервные запасы, и организм в течение определенного времени способен бороться с недостаточностью тиамин, 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, вызванном в модельном эксперименте, в контрольной группе развился спонтанный гиповитаминоз, которого избежали звери, получавшие бенфотиамин.

4. Влияние экспериментального окситиаминового и смешанного авитаминоза В₁ на показатели обмена тиамин у норок и песцов. При моделировании у норок экспериментального окситиаминового авитаминоза на первом этапе опыта отмечалась однонаправленность изменений показателей обмена тиамин. В крови норок всех групп с разной фоновой обеспеченностью после введения ОТ наблюдался резкий подъем изучаемых форм тиамин: общего, ТДФ и ТТФ. При этом проявились типичные клинические признаки В₁-авитаминоза. Через 24 часа после введения ОТ в 1-й группе с исходным дефицитом В₁ наблюдалось сохранение на прежнем уровне концентрации ТДФ и ТТФ и снижение общего тиамин. 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 тиамин основной роль в восстановлении активных форм витамина В₁ играют ферменты синтеза - Т-киназа и ТДФ-киназа, ферменты гидролиза активируются с момента наработки избытка свободных тиаминфосфатов (Черникович, 1996).

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

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 тиаминной 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 тиамин 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 антгмстаболита, 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 тиамин, 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 антиметаболита наблюдался подъем общего тиаминина 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 витамина и его фосфорилированной формы, причем интенсивней на первом этапе эксперимента, затем под действием антиметаболита происходил процесс накопления общего тиаминина при снижении концентрации ТДФ, который обладает менее выраженным, чем антикофермент, сродством к белку (Островский, 1971; 1978). Уровень коферментной формы тиаминина понижался в течении опыта и оставался достоверно сниженным на третьи сутки, отражая тем самым пролонгированное действие ОТ. Большая тканевая концентрация тиаминина в организме, превышающая потребность животных в нем, лимитирует образование окситиаминдифосфата, и поэтому введение ОТ не сказывается сразу на активности ТК (Рыбина и соавт., 1972; Сукристик, 1978; Виноградов, 1995). Очевидно, поэтому же у песцов, которым вводилась высокая доза антиметаболита, активность фермента, уровень общего тиаминина и ТДФ на первом этапе эксперимента снижались незначительно, но затем наблюдалось увеличение обеих форм тиаминина 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 тиаминина в тканях и органах норок и песцов проявлялись на уровне общебиологических 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 витамина 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 антимабо-лита 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 антимабо-лита, 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 норк 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 зверохозяйств 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 белвитамила в звероводстве // Актуальные проблемы биологии и рациональное природопользование, Петрозаводск, 1990. С.33-34.

3. Ильина Т.Н., Петрова Г.Г. Содержание тиамин 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 тиамин // Тез. Междунар. симп., Петрозаводск, 1991. С. 28.

5. Петрова Г.Г., Изотова С.П., Черникович 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 тиамин в адаптации норок к различным факторам внешней среды // Метаболич. регуляция физиологич. сост. пуши. зверей. Петрозаводск, 1992. С. 112-120.

7. Изотова С.П., Петрова Г.Г., Черникович И.П., Ильина Т.Н. Обмен тиамин 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. пуши. зверей. Петрозаводск, 1994. С. 113-128.

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

10. Iljina T., Pietrowa G., Cholewa R., Czerkaszyna E. Wplyw niedoboru witaminy В₁ (tiaminy) na jakosc skor norek // Roczn. AR Pozn. CCLXXII Zootech. 47: 77-82. 1995. - Польша.

11. Ильина Т.Н., Петрова Г.Г., Черникович И.П., Тютюнник Н.Н. Некоторые показатели обмена тиамин 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.Черниковичу за помощь и содействие в выполнении работы.