

УДК 636.2.034.084.523:612.015.33

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2022.2.45-55

**ИССЛЕДОВАНИЕ НАПРАВЛЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА  
ПИРУВАТА У КОРОВ С РАЗНОЙ ЖИРНОСТЬЮ  
МОЛОКА ПРИ ОДИНАКОВЫХ УСЛОВИЯХ КОРМЛЕНИЯ**

Галочкина В.П., Черепанов Г.Г., Харитонов Е.Л.

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФИЦ  
животноводства – ВИЖ им. Л.К. Эрнста, г. Боровск, Калужской обл.,  
Российская Федерация*

Цель работы – изучить направленность метаболизма пировиноградной кислоты высокопродуктивных коров у коров с разной жирностью молока при одинаковых условиях содержания и кормления. Эксперимент проведен на 10 коровах чёрно-пестрой породы второй лактации со среднесуточным удоем 39-40 кг, которые были разделены на две группы в зависимости от содержания жира в молоке (1-я группа с содержанием жира в молоке 4,1; 2-я группа – 2,8%). Пробы крови отбирали пункцией яремной и молочной вен на 75-й день лактации (45-й день опыта). В плазме крови определяли активность пируваткарбоксилазы (ПК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) как индикаторов направленности метаболизма пировиноградной кислоты на уровне целого организма (по активности в крови яремной вены) и в молочных железах (по активности в молочной вене). В рубцовом содержимом 1-й группы отмечены повышенные значения буферной ёмкости ( $P < 0,05$ ) и количества инфузорий ( $P < 0,01$ ) на фоне отсутствия существенной межгрупповой разницы по величине рН и содержанию индивидуальных ЛЖК. У коров 1-й группы были выше активность ЛДГ в плазме крови яремной вены ( $P < 0,001$ ) и соотношение ПК/ЛДГ ( $P < 0,05$ ), но меньше активность ПК ( $P < 0,05$ ) и величина ПК/ЛДГ в плазме крови молочной вены ( $P < 0,001$ ) по сравнению со 2-й группой. По имеющейся для всего стада базы производственных данных, коровы с разными номерами лактаций были разделены на две субпопуляции (группы): I с жирностью молока, равной 4 и свыше 4% ( $Жм \geq 4,0$ ) и II ( $Жм < 4,0$ ). Регрессионный анализ выявил снижение относительной численности этих групп в зависимости от номера лактации ( $y = -0,08 + 0,57x$ ,  $R^2 = 0,78$ ,  $n = 256$ ), что свидетельствует о более короткой продолжительности продуктивной жизни коров I группы. Заключение, что выявленные различия по ферментному профилю крови и продолжительности жизни коров могут быть обусловлены особенностями конституционально-метаболического статуса, формирующегося в ходе пре- и постнатального развития.

*Ключевые слова: лактирующие коровы, рубцовая ферментация, ферменты крови, пируваткарбоксилаза, лактатдегидрогеназа, жир молока, продолжительность продуктивной жизни.*

*Проблемы биологии продуктивных животных, 2022, 2: 45-55.*

### **Введение**

*Список используемых сокращений.* ПДГ – пируватдегидрогеназный комплекс (пируватдегидрогеназа), ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ПК – пируваткарбоксилаза, ППЖ – продолжительность продуктивной жизни (количество законченных лактаций); Жм – жирность молока, %.

Продуктивность животных и качество продукции зависят от поступления в органы и ткани низкомолекулярных веществ (метаболитов), образующиеся в результате гидролитического расщепления структурных углеводов, белков и жиров корма. Эти метаболиты служат в качестве субстратов тканевых ферментов, ответственных за определённую направленность метаболических

процессов и в существенной степени определяющих количество и качество продукции, в частности, содержание в молоке и состав молочного жира (Галочкина, Харитонов, 2010; Харитонов, 2011). Эти факторы особенно важны для жвачных животных, у которых в тканевой метаболизм поступает большое количество продуктов рубцовой ферментации в форме летучих жирных кислот (ацетат, пропионат, бутират), молочной кислоты и солей аммония.

Высококонцентратные рационы, практикуемые в настоящее время для высокопродуктивных коров, нарушают эволюционную приспособленность процессов пищеварения жвачных животных к потреблению грубой растительной пищи. Это влечёт за собой изменения в составе симбионтной микрофлоры рубца и pH содержимого, а также в соотношении образующихся продуктов ферментации кормов, в результате изменяются кислотно-щелочной баланс в крови и тканях и параметры функционирования тканевых ферментов

Основная роль в регуляции обменных процессов в организме млекопитающих принадлежит основным метаболическим циклам (цикл трикарбоновых кислот, гликозофосфатный цикл (аэробное окисление глюкозы), процессы гликолиза и глюконеогенеза (Gardon, 1985). В цикле Кребса ключевым звеном являются изоцитрат- и альфа-кетоглутаратдегидрогеназы – ферменты с самой низкой активностью. Снижение активности этих ферментов приводит к накоплению цитрата, являющегося ингибитором фосфофруктокиназы в процессе гликолиза, и к снижению концентрации пирувата – субстрата пируватдегидрогеназного комплекса (ПДГ), продукт которого (ацетил-КоА) служит субстратом для электрон-транспортной цепи и ферментов цикла Кребса (рис. 1).

Активность ПДГ и всех дегидрогеназ цикла Кребса регулируется энергетическим состоянием клетки, т.е. ингибируется при высоких соотношениях АТФ/АДФ, НАДН<sub>2</sub>/НАД, ацетил-КоА/КоА (с активацией при низких их соотношениях) (Ньюсхолм, Старт, 1977); в связи с этим, ПДГ считают ответственной за активность этого цикла. Большую роль в обмене веществ играют пируваткарбоксилаза (ПК) – фермент, который катализирует первый этап глюконеогенеза путём карбоксилирования пирувата до оксалоацетата, и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, катализирующий обратимую реакцию окисления лактата в пируват; направленность реакции определяется уровнем концентрации восстановленного или окисленного кофактора (НАДН<sub>2</sub> или НАД). У лактирующих коров эта реакция сдвинута в сторону образования пирувата.

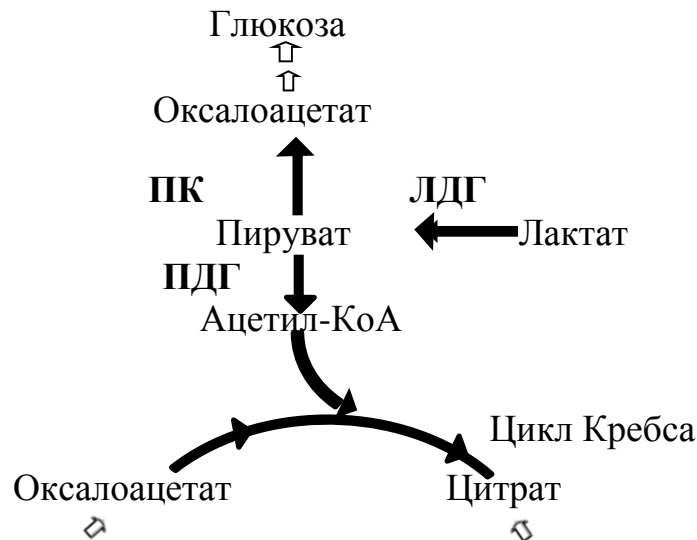


Рис. 1. Основные пути метаболизма пирувата у лактирующих коров.

Пируват является стратегическим метаболитом, поскольку находится на развилке метаболических путей. Его особенность и значимость для функционирования цикла Кребса заключается в том, что он может быть источником субстратов цикла, оксалоацетата и ацетил-КоА, а направленность потоков регулируется энергетическим уровнем клетки. Являясь конечным

продуктом аэробного гликолиза, в зависимости от метаболической ситуации пируват может быть использован в качестве субстрата для ПК с образованием оксалоацетата, который после конденсации с ацетил-КоА может окислиться в цикле Кребса, использоваться на пути глюконеогенеза или аминироваться до аланина. В связи с дефицитом глюкозы, у жвачных животных он наиболее значим в глюконеогенезе.

У лактирующих коров большое количество глюкозы требуется для синтеза лактозы и НАДФН в молочной железе, а также для синтеза гликопротеидов, быстро обменивающихся белков крови и тканей, слизистых оболочек кишечника и других клеточных структур. В связи с дефицитом глюкозы, у высокопродуктивных коров эти процессы наиболее уязвимы. У жвачных животных основным источником глюкозы являются пропионат и глюкогенные аминокислоты, но пируват также активно используется в глюконеогенезе. На дойных коровах и на бычках, выращиваемых на мясо, была показана активность пируваткарбоксилазы в печени, в стенке рубца, в почках и плазме крови животных (Галочкина и др., 2015, 2018),

Направленность и активность ферментативных реакций зависит от двух факторов: 1) от общей массы фермента (количества молекул фермента в данном клеточном компартменте или в органе), определяющей величину потока продукта при насыщающей концентрации субстрата, и 2) от текущей концентрации субстратов данного фермента. Первичным источником таких субстратов является желудочно-кишечный тракт, а размеры потоков всасывания зависят от качественного и количественного состава кормов и наполненности рационов биологически активными веществами, необходимыми для поддержания обменных процессов и формирования продуктивных качеств животных. Величина первого фактора – максимальная каталитическая активность при насыщающей концентрации субстрата (которая соответствует величине активности фермента, обычно определяемой в тканевых экстрактах или в пробах крови), пропорциональная массе фермента в данном компартменте или в органе, определяет метаболический потенциал или функциональную мощность данного органа в данный момент времени. Этот потенциал формируется на ранних этапах развития (в качестве конститутивного фактора), и может изменяться в процессе адаптации к внешним воздействиям (как индуцибельный фактор).

Для продуктивных животных важное значение имеет получение информации о процессах обмена веществ в организме, в частности, определение активности тканевых ферментов в пробах крови. Межиндивидуальные различия в распределении внутриклеточных, межклеточных и межорганных метаболических потоков могут обуславливать у лактирующих коров развитие ряда так называемых «болезней продуктивности», включая кетозы, ацидозы, ламиниты, смещения сычуга, нарушения воспроизводительных функций, а также снижение процентного содержания жира в молоке и продуктивного долголетия. Особенно это важно для высокопродуктивных коров, в первую очередь, в период раздоя – период наивысшей продуктивности и максимальной напряженности обмена веществ. В зависимости от количественного и качественного состава рациона, в желудочно-кишечном тракте происходит всасывание разного количества низкомолекулярных веществ, которые используются как субстраты для разнообразных ферментов, от которых зависит биосинтез компонентов молока. С другой стороны, потенциал продуктивности и резистентность к развитию патологий могут быть обусловлены не только факторами питания, но и особенностями конституционально-метаболического статуса у отдельных особей и групп, составляющих продуктивное стадо, т.е. теми факторами, которые формируются в процессе раннего развития и в процессе адаптации к технологическим условиям.

Цель данной работы – изучить взаимосвязи между активностью в крови ферментов, определяющих направленность метаболизма пировиноградной кислоты, и продукцией молочного жира у высокопродуктивных коров при одинаковых условиях содержания и кормления.

### **Материал и методы**

Эксперимент проведен на 10 коровах чёрно-пестрой породы на второй-третьей лактации с удоём 36-44 кг молока в сутки, которые были разделены на две группы в зависимости от содержания жира в молоке (1-я группа – со средним содержанием жира в молоке 4,1%, 2-я группа – 3,0%) при

одинаковых условиях содержания и кормления. Состав рациона (кг): силос кукурузный 35,3, сенаж разнотравный 14,4, сено злаковое 0,53, глютенный корм (влажностью до 30%) 2,1, патока свекловичная 1,05, шрот соевый (тостированный) 0,9, жмых соевый 0,6, шрот подсолнечный тостированный 0,6 и 12,2 кг концентратов. Состав комбикорма (кг) – пшеница 40, ячмень 35, подсолнечный и рапсовый шрот по 10; добавки (%)– поваренная соль 2, трикальцийфосфат 1,5 и премикс 1. Корма задавались в виде кормовой смеси, приготовленной в миксере, в которую добавляли размол зерновых кормов из расчёта 6-7 кг на голову; кормовые добавки – индивидуально. Коровы потребляли корма с кормовых столов, воду из автопоилок. В итоге на голову приходилось по 12,2 кг концентратов. Содержание коров привязное, поение из поилок.

Пробы крови отбирали утром до кормления на 75-й день лактации (45-й день опыта). Для приближённой оценки состава крови, притекающей к молочной железе, использовали кровь, взятую пункцией яремной вены; венозную кровь брали пункцией молочной вены. Активность пируваткарбоксылазы (ПК) в плазме крови определяли по методу (Scrutton, White, 1973; Connaughton et al., 2010) в модификации (Галочкина, 1997, способ 2) с использованием кинетического метода или с остановкой реакции. Активность лактатдегидрогеназы определяли с использованием набора фирмы Лахема; при этом в реакционную среду вводили НАД и тетразолий синий. Показатели pH и концентрации ЛЖК в содержимом рубца определяли в пробах рубцовой жидкости, Пробы рубцового содержимого получали перед кормлением с использованием пищеводного зонда после взятия проб крови. Буферную ёмкость рубцового содержимого (мл/ΔpH) определяли путём титрования с регистрацией объёма титранта, расходуемого в расчёте на величину сдвига ΔpH =1.

### Результаты и обсуждение

Уровень pH рубцового содержимого в группах был в диапазоне статистического разброса, более выраженные различия выявлено в 1-й группе по величине буферной ёмкости (снижение буферной ёмкости с 12,5 до 8,5) и по числу инфузорий ( $P < 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1. Показатели ферментативно-микробиологических процессов в содержимом рубца ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )

Показатели	Группы	
	1	2
pH	6,95±0,21	6,61±0,20
Буферная ёмкость, мл/Δ pH	12,5±0,78*	8,5±1,2
ЛЖК, ммоль/100 мл рубцовой жидкости	9,24±1,38	10,3±0,8
Ацетат, %	65,7±1,4	63,7±1,9
Пропионат, %	18,8±0,6	24,0±2,8
Отношение ацетат/пропионат	3,49±1,25	2,66±0,99
Бутират, %	15,5±1,5	14,0±1,2
Число инфузорий, тыс/мл	320±4**	303±2

Примечания выход – суточный выход компонентов молока; здесь и далее в таблицах: \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  по  $t$ -критерию при сравнении со 2-й группой.

На фоне отсутствия существенных межгрупповых различий по большинству показателей ферментации в рубце, статистически значимые различия выявлены по выходу жира с молоком (табл. 2) и по показателям направленности метаболизма пирувата (табл. 3).

По литературным данным, в отличие от двух-трёхкратного кормления, при шестикратном кормлении у высокопродуктивных коров явных признаков кетоза не проявляется (Sutton, 1980). В данном эксперименте коровы половину концентратов получали в виде кормовой смеси, приготовленной в миксере. Возможно, в связи с этим у коров 2-й группы показатели, характеризующие процессы ферментации в содержимом рубца, не свидетельствовали о их явном нарушении.

Таблица 2. *Продуктивность коров по группам* (M±m, n= 4)

Группы	Жир		Белок		
	%	Суточный выход, г	%	Суточный выход, г	
1	39,0±0,7	4,15±0,10***	1624±66*	3,17±0,02	1240±31
2	40,5±0,7	2,85±0,07	1153±34	3,17±0,02	1283±27

Примечание: выход – суточный выход компонентов молока

Таблица 3. *Активность ферментов метаболизма пировиноградной кислоты* (M±m, n= 4)

Группы	Активность, мкМ/мин		
	ПК	ЛДГ	ПК/ЛДГ
В плазме крови яремной вены			
1	2,74±0,17	21,17±2,33***	0,15±0,02*
2	3,35±0,28	32,1±1,21	0,11±0,01
В плазме крови молочной вены			
1	1,88±0,09*	55,8±0,6	0,035±0,004***
2	3,68±0,28	55,4±3,2	0,071±0,006

В плазме крови яремной и молочной вен выявлена очень низкая активность ПК (табл. 3), т.е. пируват в организме коров в целом в большей степени использовался для окисления в цикле Кребса, нежели в процессе глюконеогенеза. У коров 1-й группы были выше процент жира в молоке ( $P<0.001$ ), суточный выход жира с молоком ( $P<0.01$ ), активность ЛДГя в плазме крови яремной вены ( $P<0.001$ ) и соотношение ПК/ЛДГя ( $P<0.05$ ), но меньше активность ПКм ( $P<0.05$ ) и величина ПК/ЛДГм в плазме крови молочной вены ( $P<0.001$ ) по сравнению со 2-й группой. Более высокая активность ПКм и величины ПК/ЛДГм во 2-й группе указывает на преимущественное использование пирувата в процессе глюконеогенеза в молочной железе, по сравнению с его поступлением в дыхательную цепь и цикл Кребса.

Выявленные существенные различия по ферментному профилю плазмы крови между группами коров с разным содержанием жира в молоке на фоне отсутствия таких различий по основным показателям рубцовой ферментации при одинаковых условиях кормления представляют собой существенный элемент новизны, поэтому необходим поиск возможных вариантов его объяснения.

Один из вариантов трактовки полученных результатов может состоять в том, что сформированные группы представляют собой выборки из популяции, гетерогенной по признакам конституционально-метаболического статуса (КМС), т.е. по тем признакам, которые формируются в процессе развития и определяют функциональные резервы организма к моменту начала лактационной деятельности. Ранее было показано, что продолжительность хозяйственного использования высокопродуктивных коров существенно зависит от начального уровня конститутивной резистентности - численного показателя, обратного величине относительного выбытия на первой лактации (Черепанов, 2015; Cherepanov et al., 2022). Поскольку этот показатель косвенно характеризует потенциал общих защитных сил и метаболических резервов организма, его можно рассматривать в качестве одного из количественных признаков КМС.

Для проверки сделанного предположения о гетерогенности стада по параметрам ППЖ был проведен анализ записей в системе СЕЛЭКС по численности коров в группах с последовательными номерами завершённых лактаций и средним уровнем Жм по всем завершённым лактациям в этих группах; последовательности записей для коров с данным количеством завершённых лактаций были разделены на две группы: I с Жм, равной 4,0 и свыше 4,0% (Жм  $\geq$  4,0) и II (Жм < 4,0) и ставилась задача оценить некоторые параметры ППЖ для этих групп.

Для количественной оценки средней ППЖ в субпопуляциях необходимо проведение специально планируемого исследования, при этом необходимым условием является отсутствие в

используемых массивах производственных данных значительных колебаний по численности коров на первой лактации за ряд лет, а также резких колебаний темпов выбытия в когортах (в группах коров одного года рождения), т.е. должно выполняться условие стационарности системы обновления стада. Этому условию не удовлетворяли имеющиеся в хозяйстве записи учёта количества дойных коров по последовательным лактациям. Анализ результатов численного моделирования показывает, что оценить «долголетие» коров в стаде по численности коров с последним номером лактации можно лишь с большой ошибкой, поскольку количество «рекордисток» очень мало, к тому же для хозяйственно-экономических расчётов важно знать не максимальную, а среднюю ППЖ в стаде или в составляющих субпопуляциях, которая оценивается при наличии данных по динамике относительного выбытия по сумме причин (рис. 2а) (Черепанов, 2020, 2022). Основные закономерности этой динамики можно проследить на численном примере, задавая ориентировочные значения параметров и сопоставляя фактические данные с результатами модельных расчётов.

С этой целью по имеющимся массивам производственных данных использовались фактические значения средней жирности молока по всем законченным лактациям в двух группах и была рассчитана доля численности I и II групп относительно общей численности стада по последовательным лактациям. При этом не было выявлено существенной возрастной динамики по средней Жм в группах на фоне значительного снижения относительной численности I группы в стаде (табл. 4, рис. 3).

Таблица 4. Средняя жирность молока в группах I ( $\geq 4.0$ ) и II ( $< 4.0$ ) и относительная численность группы I в стаде по последовательным лактациям

Показатели	№ лактации				
	2	3	4	5	6
Средняя жирность молока	4,28	4,36	4,21	4,3	4,47
I $\geq 4.0$					
II $< 4.0$	3,68	3,69	3,67	3,77	3,73
Относительная численность I в стаде	0,44	0,43	0,24	0,3	0,2

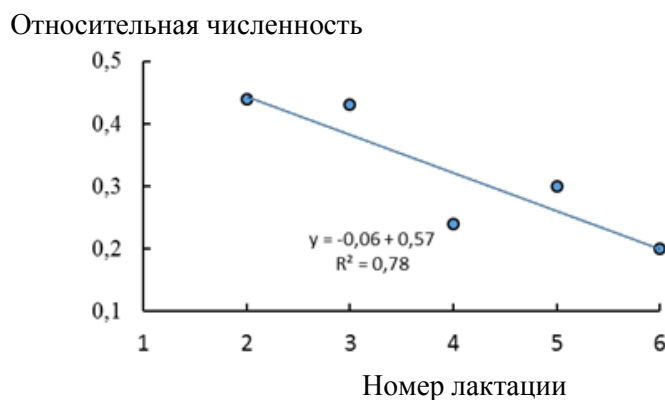


Рис. 3. Возрастная динамика относительной численности двух субпопуляций (групп) в стаде коров с высокой жирностью молока (I группа, средняя жирность молока по всем законченным лактациям  $\geq 4.0$ )

Величина ППЖ определяется динамикой выбытия коров из стада по сумме причин, основные из которых – это спад продуктивности, нарушения воспроизводительных функций и «болезни продуктивности». В основе своей эти три причинных факторов проявляются не сразу, каждой болезни предшествует период предболезни, каждая предболезнь имеет свои специфические факторы риска, снижающие уровень резистентности к действию повреждающих факторов, т.е.

снижающие «изначальный уровень здоровья» (первичного здоровья – primal health, см Odent, 1986; Один, 2011).

Для популяций дойных коров уровень первичного здоровья (конститутивной резистентности) можно измерить, определив величину, обратную относительному выбытию на первой лактации (Черепанов, 2020; Cherepanov et al., 2022). В последующие лактации темп увеличения относительного выбытия описывается положительной экспонентой (функция Гомпертца, рис. 2а), а текущий уровень здоровья – величиной, обратной значению относительного выбытия на данной лактации (рис. 2б).

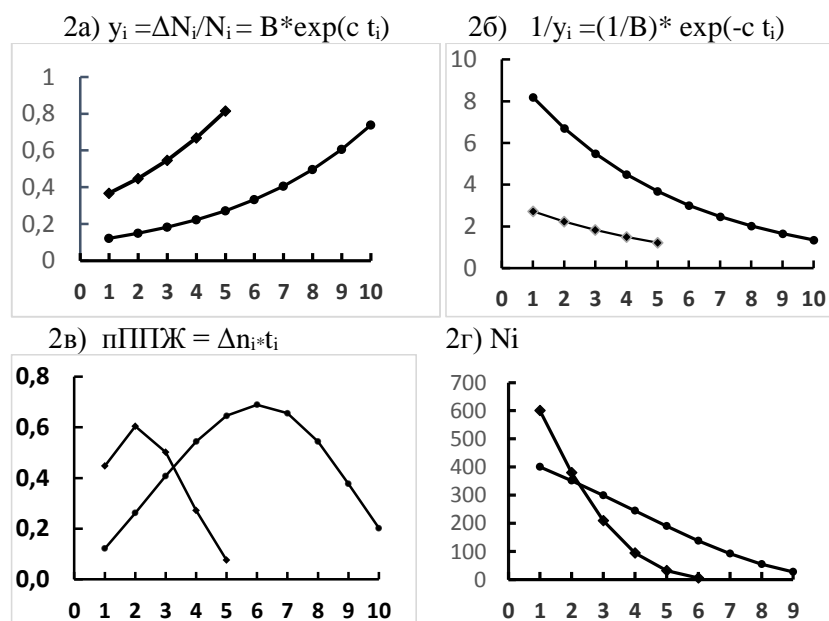


Рис. 2. Динамика показателей выживаемости в гетерогенной популяции дойных коров, состоящей из двух субпопуляций, различающихся по величине относительного выбытия на первой лактации.

Обозначения на рис. 2:  $N_i$  – количество коров на  $i$ -ой лактации,  $\Delta N_i/N_i$  – относительное выбытие,  $n_i = N_i/N_1$  – доля коров на  $i$ -ой лактации;  $\Delta N_1 = (N_1 - N_2)$  – выбытие на первой лактации и т.д.; величина  $\Delta n_i \cdot t_i$  представляет собой парциальную продолжительность продуктивной жизни (пППЖ). Средняя ППЖ,  $T = \Sigma(\Delta n_i \cdot i)$ .  $B$  и  $c$  – константы. Значение параметра  $B$  для двух субпопуляций – 0,3 и 0,1; значение  $c$  в показателе экспоненты одинаковое (0,15).

В приведенном численном примере размеры субпопуляций различаются на первых лактациях, а короткоживущая когорта практически исчезает на 5-й лактации (рис. 2в и 2г). В этих расчётах для наглядности использовались достаточно контрастные значения параметра  $B$ , но на модели и на массиве фактических данных проявляется одна и та же закономерность – снижение в стаде доли короткоживущей группы по последовательным лактациям. Это можно считать положительным аргументом в пользу предположения о более низкой ППЖ в группе коров с повышенной жирностью молока. Другая возможная интерпретация выявленной закономерности могла иметь место, если бы наблюдаемый эффект снижения относительной численности первой группы был обусловлен более быстрым снижением жирности молока по последовательным лактациям у этих коров, в таком случае он не был бы связан со снижением жизнеспособности коров этой группы. Однако данные табл. 4 указывают на отсутствие заметного возрастного снижения средней жирности молока в обеих группах.

Используемое в данной работе представление о конституционально-метаболическом статусе применительно к продуктивным животным можно проиллюстрировать на примере

синдрома внезапной смерти у высокопродуктивных кросов бройлеров, который обусловлен тем, что печень у значительной части поголовья «не справляется» с потоком недоокисленных продуктов деградации миофибриллярных белков при высокой скорости их синтеза и повышенного индекса «омускуленности». Схожая ситуация может иметь место у голштинизированного молочного скота, если увеличение в процессе селекции объёма вымени у части потомства не сопровождается пропорциональным повышением массы и функциональной мощности печени и почек, обеспечивающих нужное количество субстратов для синтеза лактозы, а возникающее при этом состояние хронической субклинической гипогликемии служит фактором риска для снижения общей резистентности, развития комплекса «болезней продуктивности» и сокращения сроков хозяйственного использования коров.

Другим вариантом объяснения полученных данных по экспрессии тканевых ферментов, определяющих направленность метаболизма пирувата у лактирующих коров при одинаковых условиях кормления, может быть предположение о сдвиге экспрессии ключевых ферментов глиоксилатного цикла (изоцитратлиазы и малатсинтазы) у коров с высокой жирностью молока. Общий результат функционирования этого цикла состоит в том, что при определённом состоянии метаболизма часть углеродного скелета субстратов, поступающих из рубца, может превращаться в глюкозу; при этом продукция молочного жира снизится, но, возможно, увеличится ППЖ за счёт стимуляции неспецифической резистентности (Aschenbach et al., 2010; Агафонова, Галочкина, 2015; Cherepanov et al., 2022). Метаболиты и ферменты глиоксилатного цикла в настоящее время идентифицированы (Kunze et al., 2003; Kondrashov et al., 2006). В опытах на лабораторных животных было показано, что при голодании происходит индукция ключевых ферментов глиоксилатного цикла (Кондрашова, Родионова. 1971; Попов и др., 2000). В определённых метаболических ситуациях глиоксилатный цикл может не только индуцироваться и функционировать, но и оказывать влияние на направленность потоков метаболитов в организме крупного рогатого скота (Галочкина и др., 2011).

Изложенная трактовка результатов проведенных экспериментов в известной степени является гипотетической, что объясняется сложностью проблемы. Вопросы, касающиеся методологии анализа выживаемости в гетерогенных популяциях, слабо проработаны даже в общей теории биологии продолжительности жизни, а применительно к популяциям продуктивных животных в мировой литературе нет и постановки проблемы, и концепции, не разработаны методические подходы и протоколы анализа эмпирических данных. Выявленные в проведенном исследовании различия по ферментному профилю в плазме крови между группами коров с разной жирностью молока при одинаковых условиях кормления позволяют сделать заключение о гетерогенности популяций высокопродуктивных коров по признакам конституционально-метаболического профиля, формирующегося в период, предшествующий достижению возраста репродуктивной зрелости.

В связи с этим становится особенно актуальной проблема создания экспериментального стада с системами идентификации животных, автоматизированного съёма видео- и измерительной информации и анализа «больших данных». При наличии таких систем можно проводить мониторинг всего дойного стада по наиболее значимым показателям метаболического статуса в транзитный период, в том числе по индексу упитанности (body condition score) и активности индикаторных ферментов в молоке. При внедрении в практику технологии чипирования всех животных становится возможным проследить отдалённые (через 3 года) эффекты влияния метаболического стресса у коров на жизнеспособность и репродуктивные функции полученного потомства.

Вторая проблема обусловлена тем обстоятельством, что в настоящее время практически исчерпаны возможности более детального и углублённого исследования процессов пищеварения и метаболизма у жвачных животных на малых выборках с анализом немногочисленных проб крови и рубцового содержимого. При одинаковом составе рациона отдельные субпопуляции (группы) животных могут различаться по длительности жвачки и слюноотделения, по потреблению воды, моторики рубца, темпам эвакуации рубцовой жидкости и другим параметрам пищеварения. Для получения информации, необходимой для прогноза поступления в кишечник конечных продуктов



рубцового пищеварения и выявления факторов конституционально-метаболического статуса, необходим переход к широкому применению микродатчиков для мониторинга параметров рубцовой ферментации и процессов метаболизма на многочисленных группах животных при разных условиях содержания и кормления.

### Заключение

Из представленных данных следует, что при одинаковых условиях кормления организм лактирующих коров может реагировать по-разному, и выражается это в изменении направленности метаболических процессов, что сказывается на продуктивности и качестве продукции, т.е. продуктивные показатели могут быть в значительной степени зависеть от уровня экспрессии тканевых ферментов. В целом, потенциал продуктивности и резистентность к развитию патологий могут быть обусловлены не только факторами питания, но и особенностями конституционально-метаболического статуса у отдельных особей и групп, составляющих продуктивное стадо, т.е. теми факторами, которые формируются в период, предшествующий достижению возраста репродуктивной зрелости. В связи с этим становится особенно актуальной проблема создания экспериментального стада с системами идентификации животных, автоматизированного съёма физиологически значимой информации и анализа «больших данных».

### Список литературы

1. Агафонова А.В. Функционирование ключевых ферментов глиоксилатного цикла у жвачных животных. // В сб.: Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования. (Материалы международной конференции). Киров, 2015. С. 6-9.
2. Агафонова А.В., Галочкина В.П. Активность ферментов изоцитратлиазы, малатсинтазы, малатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы в клеточных фракциях гомогената печени жвачных животных. // 19-я Международная школа-конференция молодых ученых. Пущино, 2015. С. 124–125).
3. Галочкин В.А., Галочкина В.П., Агафонова А.В., Черепанов Г.Г. Межсистемные связи иммунитета, нейроэндокринной регуляции и факторов питания в свете концепции общего иммунофизиологического контроля резистентности. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2016. № 3. С. 24-46.
4. Галочкина В.П., Харитонов Е.Л. Влияние сбалансированности рационов по лимитирующим биосинтез аминокислотам на метаболизм пировиноградной кислоты у коров в период раздоя. // Материалы V межд. конф. ВНИИФБиП. Боровск, 2010. С. 22-24.
5. Галочкина В.П., Солодкова А.В., Галочкин В.А. О специфике взаимосвязей в метаболизме три- и дикарбоновых кислот у высокопродуктивных жвачных животных (гипотеза). // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. № 4. С. 5-18.
6. Галочкина В.П., Галочкин В.А., Агафонова А.В. Активность дегидрогеназ цикла Кребса, гликолиза, глюконеогенеза и функционирование у свиней ключевых ферментов глиоксилатного цикла. // Труды регионального конкурса проектов фундаментальных научных исследований. Вып. 20. Калуга: Изд-во АНО «Калужский региональный научный центр им. А.В. Дерягина», 2015. С. 173-180.
7. Галочкина В.П., Харитонов Е.Л., Агафонова А.В., Обвинцева О.В., Остренко К.С., Галочкин В.А. Процессы рубцовой ферментации и обмен пировиноградной кислоты в молочной железе у коров с разной жирностью молока. // Проблемы биологии продуктивных животных, 2018. № 2. С. 39-47.
8. Кондрашова М.Н., Родионова М.А. Реализация глиоксилевого цикла в митохондриях ткани животных. // Доклады АН СССР. 1971. Т. 196. № 5. С. 1225-1227.
9. Ньюсхолм Э., Старт К., Регуляция метаболизма, Мир, М., 1977. 407 с.
10. Один В.И. Кризис геронтологии: к вопросу о первичном здоровье в XX веке. // Успехи геронтологии. 2004. № 4. С. 27-40.
11. Попов В.Н., Волвенкин С.В., Епринцев А.Т., Игамбердиев С.В. Индукция ферментов глиоксилатного цикла в различных тканях голодающих крыс. // Изв. Росс. акад. наук, сер. биол. 2000. № 6. С. 672-678
12. Харитонов Е.Л. Физиология и биохимия питания молочного скота. Боровск: ВНИИФБиП, 2011. 372 с.
13. Черепанов Г.Г. Новые подходы в изучении жизнеспособности высокоудойных коров: концепции, модели, анализ данных. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2020. № 2. С. 5-42.
14. Aschenbach J.R., Kristensen N.B., Donkin S.S., Hammon H.M., Penner G.B. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. // IUBMB Life. 2010. Vol. 62. nr 12. P. 869-877.

15. Cherepanov G.G., Kharitonov E.L., Ostrenko K.S. In silico predictions on the productive life span and theory of its developmental origin in dairy cows. // *Animals*. 2022. Vol. 12. nr 6. P. 684. <https://doi.org/3390/ani12060684>
16. Connaughton S., Chowdhury F., Attia R.R. et al. Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase isoform 4 (PDK4) gene expression by glucocorticoids and insulin. // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010. Vol. 315. nr 1-2. P. 159-167. DOI: 10.1016/j.mce.2009.08.011.
17. Gardon A. Hamiltonю. Peroxisomal oxidases and suggestionfort for the mechanism of action of insulin and other hormones. // *Advances in Enzymology* (Ed. By Meister A.). New-York, Che Chester, Brisbane, Toronto, Singapore. 1985, Vol. 57. P. 85-178.
18. Kondrashov F.A., Koonin E.V., Morgunov I.G., Kondrashova M.N. Evolution of glyoxylate cycle enzymes in Metazoa: evidence of multiple horizontal transfer events and pseudogene formation. // *Biol. Direct.* 2006, Vol. 23. nr 1. P. 31.
19. Kunze M., Pracharoenwattana I., Smith S.M. A central role for the peroxisomal membrane in glyoxylate cycle function. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. nr 12. P. 1441-1452.
20. Odent M. Primal health. London: Hutchinson, 1986.

### References (for publications in Russian)

1. Agafonova A.V. [Functioning of key enzymes of the glyoxylate cycle in ruminants]. In: *Materialy mezhdunarodnoi konferentsii: Teoreticheskie i prikladnye problemy sovremennoi nauki i obrazovaniya* (Mat. Intern. Conf.: Theoretical and applied problems of modern science and education). Kirov, 2015. C. 6-9.
2. Agafonova A.V., Galochkina V.P. [Activity of isocitrate lyase, malate synthase, malate dehydrogenase and succinate dehydrogenase enzymes in cellular fractions of ruminant liver homogenate]. In: *19-ya Mezhdunarodnaya shkola-konferentsiya molodykh uchenykh* (19th International School-Conference of Young Scientists). Pushchino, 2015. P. 124-125.
3. Cherepanov G.G. [New approaches to the study of the viability of high-yielding cows: concepts, models, data analysis]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2020. 2: 5-42.
4. Galochkin V.A., Galochkina V.P., Agafonova A.V., Cherepanov G.G. [Intersystem connections of immunity, neuroendocrine regulation and nutritional factors in the light of the concept of general immunophysiological control of resistance]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2016. 3: 24-46.
5. Galochkina V.P., Solodkova A.V., Galochkin V.A. [On the specificity of relationships in the metabolism of tri- and dicarboxylic acids in highly productive ruminants: an hypothesis]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2011. 4: 5-18.
6. Galochkina V.P., Kharitonov E.L. [Influence of the balance of diets for limiting biosynthesis of amino acids on the metabolism of pyruvic acid in cows during the period of milking]. *Materialy V mezhd. konf. VNIIFBiP* (Mat. V Int. Conf. VNIIFBiP). Borovsk, 2010. P. 22-24.
7. Galochkina V.P., Galochkin V.A., Agafonova A.V. [The activity of dehydrogenases of the Krebs cycle, glycolysis, gluconeogenesis and the functioning of key enzymes of the glyoxylate cycle in pigs]. *Trudy regional'nogo konkursa proektov fundamental'nykh nauchnykh issledovaniy. Vyp. 20.* (Proceedings of the regional competition of projects of fundamental scientific research. Issue. 20). Kaluga: Publishing House of the ANO Deryagin Kaluga Regional Scientific Center. 2015. P. 173-180.
8. Galochkina V.P., Kharitonov E.L., Agafonova A.V., Obvintseva O.V., Ostrenko K.S., Galochkin V.A. [Processes of cicatricial fermentation and metabolism of pyruvic acid in the mammary gland in cows with different fat content of milk]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2018. 2: 39-47.
9. Kondrashova M.N., Rodionova M.A. [Implementation of the glyoxyl cycle in mitochondria of animal tissue]. *Doklady AN SSSR – Rep. Acad. Sci. USSR*. 1971. 196(5): 1225-1227.
10. Kharitonov E.L. Fiziologiya i biokhimiya pitaniya molochnogo skota. {Physiology and biochemistry of dairy cattle nutrition). Borovsk: VNIIFBiP Publ., 2011. 372 p
11. N'yuskholm E., Start K. Regulyatsiya metabolizma (Metabolism regulation). Moscow: Mir Publ., 1977. 407 p.
12. Odin V.I. [Crisis of gerontology: to the question of primary health in the twentieth century]. *Uspekhi gerontologii - Successes of gerontology*. 2004. 4: 27-40.

UDC 636.2.034.084.523:612.015.33

**Study of the indicators of pyruvate metabolism in cows with different milk fat under the same feeding conditions**

Galochkina V.P., Cherepanov G.G., Kharitonov E.L.

*Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition - Branch of Federal Research Center of Animal Husbandry - Ernst VIZh, Borovsk, Kaluga oblast, Russian Federation*

**ABSTRACT.** The aim was to study the direction of pyruvate metabolism in highly productive cows with different milk fat content (MFC) under the same conditions of feeding. The experiment was carried out on 10 Black-and-White cows of the second lactation with an average daily milk yield of 39-40 kg, which were divided into two groups depending on MFC (1st group, with an average 4.1; 2nd group – 2.8%). Blood samples were taken by puncture of the jugular and milk veins on the 75th day of lactation (the 45th day of the experiment). The activity of pyruvate carboxylase (PC) and lactate dehydrogenase (LDH) was determined in blood plasma as indicators of the direction of pyruvic acid metabolism at the level of the whole organism (according to the activity in the blood of the jugular vein) and in the mammary glands (according to the activity in the mammary vein). In the rumenal contents of the 1st group, increased values of buffer capacity ( $P < 0.05$ ), and the number of ciliates ( $P < 0.01$ ) were noted against the background of the absence of a significant intergroup difference in pH and the content of individual VFA. Cows of the 1st group had higher LDH activity in the blood plasma of the jugular vein ( $P < 0.001$ ) and the ratio of PC/LDH ( $P < 0.05$ ), but less activity of PC ( $P < 0.05$ ) and the value of PC/LDH in the blood plasma of the mammary vein ( $P < 0.001$ ) compared with the 2nd group. According to the production database available for the entire herd, cows with different lactation numbers were divided into two subpopulations (groups): I with MFC equal to 4 and over 4% ( $MFC \geq 4$ ) and II with  $MFC < 4\%$ ). Regression analysis revealed a decrease in the relative size of groups depending on the lactation number ( $y = -0.08 + 0.57x$ ,  $R^2 = 0.78$ ,  $n = 256$ ), which indicates a shorter productive life of group I cows. Concluded that the revealed differences in the blood enzyme profile and productive life span of cows may be due to the peculiarities of the constitutional and metabolic status, which has been forming during pre- and postnatal development.

*Keywords: lactating cows, rumen fermentation, blood enzymes, pyruvate carboxylase, lactate dehydrogenase, milk fat, productive life span.*

**Problemy biologii productivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology. 2022. 2: 45-55.**

Поступило в редакцию: 11.04.2022

Получено после доработки: 16.06.2022

Сведения об авторах:

**Галочкина Валентина Петровна**, д.б.н., с.н.с., тел. +7 (903)394-72-20

**Черепанов Геннадий Георгиевич**, д.б.н., с.н.с., 89611243110@mail.ru

**Харитонов Евгений Леонидович**, д.б.н., проф., evgenijkharito@eandex.ru