

УДК 636.321.38: 612.664

Куртасов Г.В.³, аспірант, (geovvk@ukr.net)
Харківська державна зооветеринарна академія

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ КОРІВ ТА ЗМІНИ СПІВВІДНОШЕННЯ ПРОТЕЇНОВИХ ФРАКЦІЙ МОЛОЗИВА ПЕРШОГО ДОЇННЯ

У роботі схарактеризовано функціональну активність молочної залози корів на момент початку лактації (перше доїння). Встановлено зворотній кореляційний зв'язок між синтетичною та транспортною функціями молочної залози при переході від колострогенезу до лактогенезу. Кількісною характеристикою функціональної активності обрано співвідношення місцево синтезованих у молочній тканині та транспортованих із загального кровотоку білкових компонентів молозива як індекс функціональної активності. Встановлено вплив локальних факторів молочної залози на співвідношення протеїнових фракцій молозива першого доїння.

Ключові слова: функціональна активність, молочна залоза, молозиво, колострогенез, лактогенез.

Вступ. Молозиво великої рогатої худоби є основним джерелом факторів імунного захисту для новонароджених телят, а також потенційно може бути використане як сировина для виготовлення фармацевтичних препаратів [1, 2].

Важливість молозива для новонароджених була визнана більше 70 років тому [3]. Незважаючи на це, вторинний імунодефіцит неонатальних телят молочних порід (як наслідок недостатності колострального транспорту) залишається актуальною проблемою для практики тваринництва, як в Україні, так і за кордоном. З метою його профілактики сьогодні впроваджується система заходів, однією зі складових якої є моніторинг якості молозива, призначеного для споживання телятами перших діб життя, за вмістом імуноглобулінів (Ig), що є його найпотужнішим антимікробним компонентом [4-7].

Загальновідомо, що вміст імуноглобулінів у молозиві корів молочних порід часто зазнає значних коливань, а впливає на нього велика кількість факторів, серед яких: імунний статус матері, фонові причини (умови утримання та годівлі), тривалість сухостійного періоду, передчасне видоювання молозива, породні характеристики тварини, об'єм продукованого молозива першого надою тощо. Разом з тим, окремої уваги заслуговує вивчення механізму формування молозива (колострогенезу) з метою подальшої розробки системи заходів із підвищення якості молозива [1, 8].

Колострогенез відбувається протягом трьох тижнів перед родами і припиняється під впливом комплексу гормональних змін під час або одразу після родів. Основна роль у припиненні цього процесу належить пролактину та

³ Науковий керівник – академік НААН України, доктор ветеринарних наук, проф. Головка В.О. Куртасов Г.В., 2010

глюкокортикоїдним гормонам [9]. Дія пролактину викликає перебудову метаболізму маммарних альвеолярних епітеліоцитів від селективного Fc-рецептор опосередкованого перенесення молекул імуноглобулінів класу G₁ з крові у просвіт молочних альвеол у бік синтезу компонентів зрілого молока (казеїну, лактози, а-лактальбуміну тощо) [1,10]. Таким чином, відбувається перехід від переважно транспортної активності молочної залози (колострогенез) до переважно синтетичної (лактогенез). Також є дані про те, що при затриманні першого доїння концентрація імуноглобулінів знижується [8], тобто можна стверджувати про розрідження молозива за рахунок інтенсивної секреції компонентів зрілого молока.

У цьому контексті привертає до себе увагу ідея штучного затримання переходу від колострогенезу до лактогенезу шляхом блокування дії пролактину з метою подовження періоду формування молозива та, таким чином, відвернення стрімкого падіння вмісту імуноглобулінів у молозиві наступних доїнь (Barrington, 2001). Вивчення механізмів регуляції колострогенезу може бути також використане з метою штучного продукування молозива і наступного використання як сировини для фармації [11].

У науковій літературі відсутні відомості про синхронність змін функціональної активності молочної залози під дією пов'язаних із родами гормональних впливів у корів. Таким чином, існує потреба дослідити морфо-функціональний стан молочної залози корів на час першого доїння за властивостями секрету та зробити висновок про характер змін її функціональної активності.

Кількісною характеристикою функціонального стану молочної залози у період переходу від одного типу активності до іншого може бути співвідношення у молозиві першого доїння вмісту місцево синтезованих у молочній тканині білків (α-лактальбумін, казеїн, β-лактоглобулін) [12,13] та білків, транспортованих із загального кровотоку до просвіту молочних альвеол (імуноглобуліни G₁, сироватковий альбумін), а порівняння співвідношень білкових фракцій перших порцій молозива з різних чвертей молочної залози дозволить зробити висновок про наявність впливу локальних чинників молочної залози.

Метою роботи було схарактеризувати функціональну активність молочної залози корів на момент першого доїння та визначити фактори, що обумовлюють зміни складу її секрету. Відповідно до цього поставлені завдання:

- визначити процентне співвідношення основних протеїнових фракцій молозива корів з різних чвертей молочної залози;
- схарактеризувати транспортний та секреторний типи функціональної активності молочної залози корів на момент першого доїння, визначити характер взаємозв'язку між ними;
- зробити висновок про вплив місцевих факторів молочної залози на склад білків секрету.

Матеріал і методи. Дослідження проводили у ВАТ «Племзавод ім. 20-річчя Жовтня» Сахновщинського району Харківської області. Відбір проб

молозива проводився від 32 клінічно здорових корів чорно-рябої породи різного віку. Спосіб одержання – ручне видоювання молозива першого доїння (перед машинним доїнням), з кожної чверті молочної залози окремо.

Після відбирання проби підлягали центрифугуванню (проба відстоювання), у разі наявності прозорого супернатанту та осаду тварин виключали з досліджу у зв'язку з підозрою на захворювання маститом.

Молозиво консервували заморожуванням при -18°C , білковий склад молозива визначали методом електрофорезу білків у поліакриламідному гелі (система з додецилсульфатом натрію, градієнт 7-21%) на базі лабораторії молекулярної біології НДІ біології ХНУ ім. В.Н.Каразіна. Фарбування гелю проводили з використанням барвника Coomassie Blue G-250 [14].

Облік результатів електрофорезу здійснювали скануванням гелю для отримання цифрового зображення та за допомогою пакету програмного забезпечення MCID Analysis 7.0 Software [15]. Окремі білкові фракції - імуноглобуліни (~140 кДа), 4 – сироватковий альбумін (67 кДа), 5 – казеїни (~35-40 кДа), 6 – β -лактоглобулін (~18 кДа), 7 – α -лактальбумін (~14 кДа) були ідентифіковані (рис. 1) за допомогою маркерів молекулярної ваги та з використанням даних наукових джерел [16, 17].

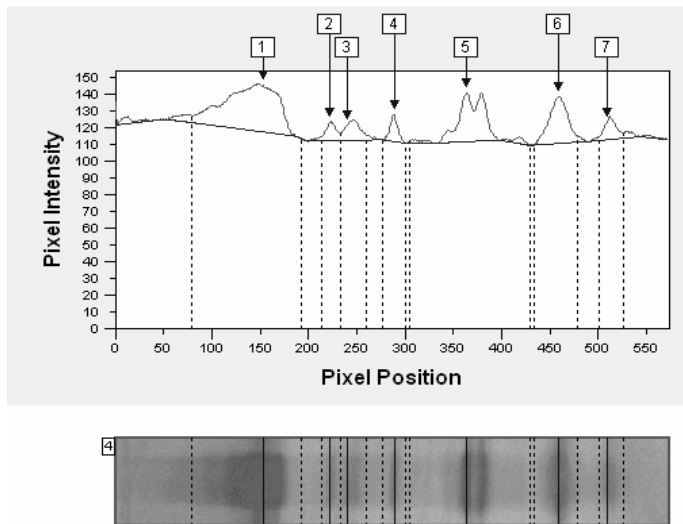


Рисунок 1. Денситограма та електрофореграма білків молозива. Визначено наступні фракції білків: 1 – імуноглобуліни, 4 – сироватковий альбумін, 5 – казеїни, 6 – β -лактоглобулін, 7 – α -лактальбумін.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили вираховуючи середнє (M), стандартне відхилення (SD), рівень достовірності (P), коефіцієнт кореляції Пірсона (r) та з використанням дисперсійного аналізу [18].

Результати дослідження. Дані щодо відсоткової частки протеїнових фракцій від загального білка у молозиві першого надою представлені у таблиці 1 та на гістограмі (рис. 2).

Таблиця 1.

Частка фракції імуноглобулінів від загального білка молозива з окремих чвертей та середнє значення у окремих тварин (n=20), %.

№ тварини	Чверті				Середнє	Стандартне відхилення
	1	2	3	4		
1	36,9	41,2	50,4	45,5	43,5	±5,8
2	41,2	33,8	37,6	42,5	38,8	±3,9
3	33,0	37,1	32,6	40,2	35,7	±3,6
4	32,5	37,5	37,3	34,0	35,3	±2,5
5	39,2	35,4	38,1	33,9	36,7	±2,4
6	29,7	31,0	30,1	31,3	30,5	±0,7
7	41,1	37,6	43,1	42,6	41,1	±2,5
8	28,7	27,8	27,7	33,0	29,3	±2,5
9	36,4	38,6	41,2	44,8	40,2	±3,6
10	41,5	37,2	43,1	38,2	40,0	±2,8
11	39,0	35,9	39,2	48,3	40,6	±5,3
12	48,2	55,9	45,1	45,2	48,6	±5,0
13	44,7	38,9	30,3	29,3	35,8	±7,3
14	47,8	39,3	44,4	39,0	42,6	±4,2
15	42,1	37,5	35,0	35,7	37,6	±3,2
16	33,4	42,1	42,0	32,7	37,5	±5,2
17	33,8	39,2	33,6	45,7	38,1	±5,7
18	37,0	34,4	33,0	40,2	36,2	±3,1
19	30,1	38,1	39,6	38,3	36,5	±4,4
20	47,8	49,9	46,6	49,9	48,5	±1,7



Рисунок 2. Частка імуноглобулінів від загального білка у молозиві з різних чвертей молочної залози корів, n=20.

Окремі ряди гістограм (1, 2, 3, 4) відображають частку протеїнової фракції у молозиві з різних чвертей молочної залози (відповідно – ліва передня, права передня, права задня та ліва задня) .

Візуальний аналіз гістограми показує істотні різниці між окремими чвертями за часткою імуноглобулінів у загальному білку молозива (від 27,7 до 55,85%). У той же час, середні значення вмісту імуноглобулінової фракції для окремих чвертей групи корів складають 38,2±6,1% (ліва передня), 38,4±6,0% (права передня), 38,5±6,1% (права задня) та 39,5±6,0% (ліва задня). Таким

чином, при $P < 0,05$ виявлені розбіжності між чвертями молочної залози є випадковими.

Між окремими тваринами коливання середнього вмісту імуноглобулінової фракції у загальному білку молозива теж виглядають вагомими – від 29,3 до 48,6%, тоді як середній вміст імуноглобулінів у загальному білку молозива дослідних корів складає $38,7 \pm 4,86\%$.

Середня частка сироваткового альбуміну від загального білку молозива для всієї дослідної групи складає $3,0 \pm 1,0\%$, казеїну – $25,4 \pm 4,5\%$, β -лактоглобулінів – $11,3 \pm 2,1\%$, α -лактальбуміну – $3,5 \pm 0,8\%$. Відсоткова частка протеїнових фракцій зазнає коливань як між чвертями молочної залози, так і між окремими тваринами. Зокрема декотрі з представлених даних виходять за межі інтервалу довіри для $P < 0,05$. Ймовірно, на це впливає низка факторів, аналіз яких в межах даної роботи не був першочерговим завданням.

Сумарна відсоткова частка транспортованих з кровотоку матері у просвіт альвеоли білків – імуноглобулінів і сироваткового альбуміну - в середньому для групи корів (76 чвертей вимені) склала $42,0 \pm 5,8\%$ (транспортна активність), а сумарна відсоткова частка синтезованих молочною залозою білків – казеїну, β -лактоглобулінів та α -лактальбуміну – $40,1 \pm 7,29\%$ (синтетична активність). Ці кількісні характеристики типів функціональної активності представлені на рис.3 в умовних одиницях.

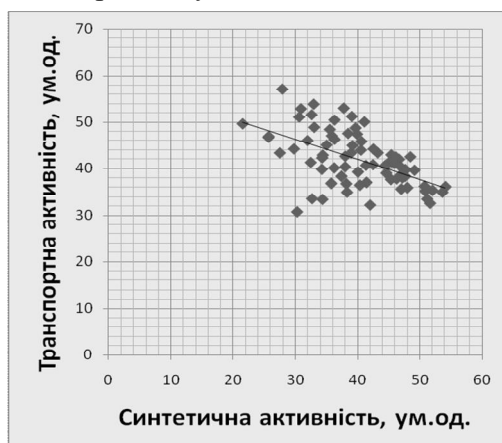


Рисунок 3. Взаємозв'язок типів функціональної активності вимені.

З метою висновку про характер взаємозв'язку між цими двома типами функціональної активності молочної залози нами вираховано коефіцієнт кореляції Пірсона для вибірок, що містили дані для всіх 76 часток молочної залози (19 корів).

Коефіцієнт кореляції Пірсона склав $r = -0,54$, критерій достовірності $t = 5,51$. Оскільки при числі ступенів свободи $\nu = 76 - 2 = 74$, критичне значення t дорівнює 0,385 (рівень достовірності $P < 0,001$), тобто менше, ніж отримане нами, кореляційний зв'язок є достовірним. Таким чином, між синтетичним та транспортним типом активності існує зворотний кореляційний зв'язок.

Виходячи з потреби у комплексному показникові, який би характеризував функціональну активність молочної залози в цілому, нами

запропоновано індекс функціональної активності молочної залози як відношення сумарної відсоткової частки у загальному білку молозива першого доїння місцево синтезованих у молочної тканині білкових компонентів до сумарної відсоткової частки білків, транспортованих із загального кровотоку до просвіту молочних альвеол, виражене в умовних одиницях (табл. 2).

Таблиця 2.

Індекс функціональної активності молочної залози на момент першого доїння, (n=19), ум. од.

№ тварини	Індекс функціональної активності, (n=19), ум. од.					
	Чверті молочної залози				Середнє для окремих тварин	Стандартне відхилення
	1	2	3	4		
1	1,21	1,00	0,61	0,73	0,89	±0,27
2	1,06	1,32	1,20	0,92	1,12	±0,17
3	1,44	1,20	1,53	1,09	1,31	±0,21
4	1,47	1,17	1,14	1,40	1,30	±0,16
5	1,09	1,22	1,04	1,33	1,17	±0,13
6	0,90	1,24	0,89	0,78	0,95	±0,20
7	0,97	0,98	1,30	1,04	1,07	±0,16
8	1,02	0,79	0,87	0,81	0,87	±0,10
9	0,67	0,94	0,55	0,81	0,74	±0,17
10	0,90	1,20	1,10	0,63	0,96	±0,25
11	0,43	0,49	0,76	0,55	0,56	±0,14
12	0,69	0,86	1,53	1,03	1,03	±0,36
13	0,72	0,89	0,60	0,81	0,75	±0,13
14	0,84	1,11	1,24	1,09	1,07	±0,17
15	0,97	0,63	0,78	1,09	0,87	±0,20
16	0,98	0,80	1,11	0,67	0,89	±0,19
17	1,12	1,24	1,50	0,96	1,20	±0,23
18	1,58	1,12	1,14	1,02	1,21	±0,25
19	0,76	0,71	0,82	0,58	0,72	±0,10
Середнє ± SD для чвертей	0,99 ±0,29	1,00 ±0,24	1,04 ±0,31	0,91 ±0,24	0,98±0,27	

Наведені дані відображають різну активність окремих чвертей молочної залози навіть у однієї і тієї ж корови, не кажучи вже про різниці між окремими коровами, що переконливо засвідчує рисунок 4. Для ліпшого візуального сприйняття великих розбіжностей індексу функціональної активності для різних чвертей молочної залози дані таблиці 2 подані у вигляді гістограми.

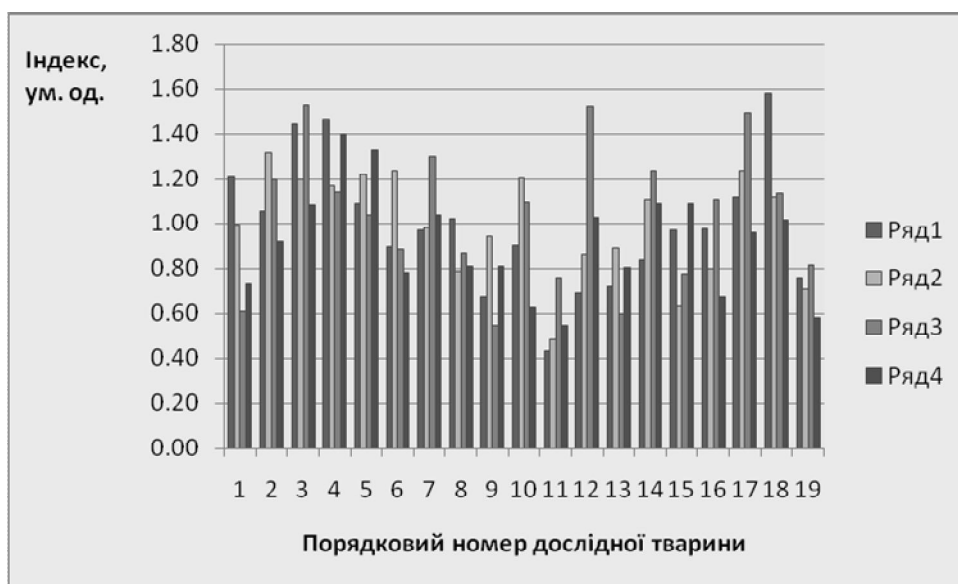


Рисунок 4. Значення індексу функціональної активності окремих чвертей молочної залози.

Середнє значення індексу для групи корів складає $0,98 \pm 0,27$ умовних одиниць, при чому коливання спостерігаються у межах від 0,43 до 1,58 умовних одиниць.

Для визначення, чи розбіжності між окремими чвертями молочної залози (зокрема, передніми і задніми, лівими і правими) у всієї дослідної групи, взятої разом, мають випадковий характер, застосовуємо дисперсійний аналіз. У таблиці 3 представлені середні значення індексу функціональної активності молочної залози для окремих чвертей молочної залози дослідної групи тварин, стандартні відхилення та розраховані значення дисперсій.

Таблиця 3.

Показники дисперсійного аналізу.

Чверті молочної залози	1	2	3	4
Середнє	0,99	1,00	1,04	0,91
Стандартне відхилення	$\pm 0,29$	$\pm 0,24$	$\pm 0,31$	$\pm 0,24$
Дисперсія	0,09	0,06	0,10	0,06

Внутрішньогрупова дисперсія складає 0,07, середнє вибіркового середніх складає 0,98, стандартне відхилення складає 0,05, міжгрупова дисперсія – $19 \times 0,05^2 = 0,475$.

Значення F у дослідній групі:

$$F = \frac{\text{міжгрупова дисперсія}}{\text{внутрішньогрупова дисперсія}} = \frac{0,475}{0,07} = 0,68.$$

При ступенях свободи $v_{\text{вну}} = 4 \times (19-1) = 72$, $v_{\text{міжгруп}} = 4-1=3$, критичне значення F становить 2,74 для рівня достовірності $P < 0,05$. Таким чином, вірогідність того, що розбіжності між групами є випадковими, складає більше 5%.

Висновки.

1. Середнє значення індексу функціональної активності молочної залози корів при переході від колострогенезу до лактогенезу на час першого доїння складає $0,98 \pm 0,27$ умовних одиниць.

2. Встановлено достовірний зворотній кореляційний зв'язок між синтетичним та транспортним типом функціональної активності молочної залози при переході від колострогенезу до лактогенезу ($r = -0,54$, $P < 0,001$).

3. Запропонований індекс функціональної активності може бути використаний у подальших дослідженнях фізіології молочної залози корів.

4. Спостережено значні розбіжності у співвідношенні протеїнових фракцій молозива першого доїння та у значеннях індексу функціональної активності як між чвертями молочної залози у окремих корів, так і у різних корів. Ці розбіжності мають випадковий характер.

Література

1. Barrington G.M. Regulation of colostrumogenesis in cattle / G.M. Barrington [та ін.] // *Livestock Production Science*. – 2001. – Вип. 70. – С. 95-104.
2. Weaver D.M. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves / D.M. Weaver [та ін.] // *J. Vet. Intern. Med.* – 2000. – Вип. 14. – С. 569-577
3. Wheeler T.T. Immune components of colostrum and milk – a historical perspective / T.T. Wheeler [та ін.] // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*. – 2007. – Вип. 12. – С. 237-247.
4. Чумаченко В.Ю. Хвороби імунної системи у тварин. Імунітет. Механізми та фактори, що зумовлюють його стан. / В.Ю. Чумаченко, В.В. Чумаченко // *Ветеринарна медицина України*. – 2008. – № 9. – С. 16-19.
5. McGuirk S. M. Managing the production, storage, and delivery of colostrum / S. M. McGuirk, M. Collins // *Vet. Clin. Food Anim.* - 2004. – Вип. 20. – С. 593–603.
6. Gulliksen S. M. Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows / S. M. Gulliksen [та ін.] // *J. Dairy Sci.* - 2008. – Вип. 91. – С. 704-712.
7. Stefaniak T. Propozycja programu ochrony zdrowia cieląt ras mlecznych. / T. Stefaniak [та ін.] // *Noworodek a Środowisko. Programy ochrony zdrowia cieląt i krów: temat. nauk. zбірник.* – Wrocław, 2009. – Вип. 5. – С. 132-145.
8. Зароза В.Г. Эшерихиоз. / В.Г. Зароза. - М.: Агропромиздат, 1991. – 238 с.
9. Winger K. Immunoglobulin G1 transfer into induced mammary secretions: The effect of dexamethasone / K. Winger, C.C. Gay, T.E. Besser // *J. Dairy Sci.* – 1995. – Вип. 78. – С. 1306-1309.
10. Barrington G.M. Regulation of immunoglobulin G1 receptor: effect of prolactin on in vivo expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor / G.M. Barrington [та ін.] // *J. Endocrinology*. – 1999. – Вип. 163. – С. 25-31.

11. Smith K.L. Selective transport of IgG1 into the mammary gland: role of estrogen and progesterone / K.L. Smith [та ін.] // J. Dairy Sci. – 1971. – Вип. 54. - №12. – С. 1886-1894.
12. Boutinaud M. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production / M. Boutinaud, J. Guinard-Flament, H. Jammes // Reprod. Nutr. Dev. – 2004. – Вип. 44. – С. 499-508.
13. Pyorala S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis Pyorala S. // Vet. Res. – 2003. – Вип. 34. С. 565-578.
14. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование: практическое пособие. / Л.А. Остерман. - М.: Наука, 1981. - 288 с.
15. Quantitative Gel & Blot Analysis [Электронный ресурс] MCID Analysis 7.0 Software. – Режим доступа : www/ URL: <http://www.mcid.co.uk/> - 04.08.2009 р. – Загол. з екрану.
16. Gapper L.W. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum, and dietary supplements: a review // Anal. Bioanal. Chem. -2007. - v.389. – p. 93-109.
17. Zou S. Protective factors in mammary gland secretions during the periparturient period in the mare // J. Equine Vet. Sci. – 1998. – v.18. - №3. – p. 184-188.
18. Гланц С. Медико-биологическая статистика ; [пер. с англ. Данилова Ю.А.] – М., Практика, 1998. – 459 с.

Summary

It has been characterized bovine mammary functional activity at the beginning of lactation period (first milking period) in the article. It has been established an invert correlation between synthesis and transport function of mammary gland at the transition from colostrogenesis to lactogenesis. It has been selected a quantitative characteristic of the mammary functional activity as a proportion of locally synthesized proteins in mammary tissue to transported proteins from circulatory blood (functional activity index). It has been established mammary local factors influence on first milking colostrum protein fractions proportion.

Key words: *functional activity, mammary gland, colostrum, colostrogenesis, lactogenesis.*

Стаття надійшла до редакції 10.03.2010