

УДК 619:636.2: 577.1

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ПАТОЛОГИИ ОБМЕНА У КОРОВ

А. А. Эленшлегер, доктор ветеринарных наук, профессор

А. В. Требухов, кандидат ветеринарных наук, доцент

Алтайский государственный аграрный университет

E-mail: aleks_tav@mail.ru

Ключевые слова: ветеринария, обмен веществ, дистрофия, печень, ацетонемия, кетоз, крупный рогатый скот.

Реферат. В условиях современного скотоводства одной из наиболее часто встречающихся патологией обмена является кетоз молочных коров. Цель исследования – изучение зависимости уровня кетоновых тел в крови у коров от степени поражения их печеночной ткани. Исследования проводились в АО «Учхоз “Пригородное”» в зимне-весенний период на больных кетозом коровах черно-пестрой породы. Отбор животных осуществлялся по результатам анализа уровня общих кетоновых тел (ОКТ) и их фракций (бета-оксимасляной кислоты (ВН) и ацетона с ацетоуксусной кислотой (АсАс)) в крови по мере поступления животных. Пробы печени для гистологического исследования забирали сразу после убоя и обескровливания животных. Гистологические срезы готовили методом заливки в парафин на микротоме. Предварительно коров подвергали клиническому исследованию, при котором учитывали общее состояние, температуру тела, пульс, дыхание, частоту сокращения рубца. Было установлено, что у больных кетозом коров отмечалась различная гистологическая картина: от полного отсутствия видимых изменений при световой микроскопии до крупнокапельной центрлобулярной и тотальной жировой дистрофии. Наиболее высокие значения показателей ОКТ, ВН и ВН/АсАс отмечались у коров с отсутствием выраженной жировой дистрофии печени – соответственно $3,4 \pm 0,3$ ммоль/л, $2,69 \pm 0,2$ ммоль/л и $3,8 \pm 0,5$. Более интенсивное поражение печени сопровождается понижением указанных показателей и повышением АсАс. Крупнокапельная тотальная жировая дистрофия сопровождалась относительно низким уровнем ОКТ ($2,25 \pm 0,24$ ммоль/л), коэффициента ВН/АсАс ($1,1 \pm 0,2$) и наибольшей концентрацией АсАс ($1,07 \pm 0,07$ ммоль/л). Жировая инфильтрация печени при кетозе коров сопровождается повышением в их крови уровня наиболее токсичной фракции кетоновых тел – АсАс, глюкозы и щелочного резерва, снижением концентрации ОКТ, ВН и коэффициента ВН/АсАс.

INTERRELATION OF CHANGES IN SOME BLOOD BIOCHEMICAL INDICES AND HEPATIC DYSTROPHY IN CASE OF METABOLIC DISORDER IN COWS

A. A. Oenslager, doctor of veterinary Sciences, Professor

A. V. trebukhov, candidate of veterinary Sciences, associate Professor

The Altai state agrarian University

Key words: veterinary medicine; metabolism; hepatic steatosis, acetonemia; ketosis; cattle.

Abstract. Ketosis of dairy cows is one of the most common metabolic disorders in contemporary cattle breeding. The research goal was to study the dependence of ketone body level in cow blood on the degree of hepatic injury. The study was conducted on the Training and Experimental Farm «Prigorodnoye» of the Altai State Agricultural University in winter and spring; ketotic Black-Pied cows were investigated. The animals were selected on an on-going basis according to the tests which determined total ketone bodies (TKB) and their fractions – beta-hydroxybutyric acid (BHB), and acetoacetic acid and acetone (AcAc) in their blood. Liver samples for histological study were taken immediately after slaughter and bleeding. Histological sections were prepared by paraffin-embedding technique in microtome. Previously, the cows were subjected to clinical examination to

check the general condition, body temperature, pulse rate, respiration rate and rumen contraction rate. Different histological patterns were found in ketotic cows: from a total absence of visible changes under light microscopy to macrovesicular centrilobular and total hepatic steatosis. The highest levels of TKB, BHB and BHB/AcAc were found in cows without high-grade fatty liver – 3.34 ± 0.23 mmol / L; 2.69 ± 0.2 mmol / L; and 3.8 ± 0.5 , respectively. More severe liver damage is accompanied by the decrease of the above levels and AcAc increase. Macrovesicular total hepatic steatosis was accompanied by a relatively low levels of TKB (2.25 ± 0.24 mmol / L), BHB/AcAc (1.1 ± 0.2), and the highest AcAc concentration (1.07 ± 0.07 mmol / L). Fatty liver infiltration in ketotic cows is accompanied by increased blood levels of the most toxic fraction of ketone bodies – AcAc, glucose, alkaline reserve, and decreased levels of TKB, BHB, and BHB/AcAc ratio.

Современное животноводство направлено на получение максимальной продуктивности скота, что неотъемлемо приводит к значительному увеличению нагрузки на организм животных. При этом даже незначительные погрешности в кормлении, в т. ч. минеральном составе, приводят к развитию заболеваний обмена веществ не только у взрослого скота, но и у молодняка [1–3].

Среди заболеваний, обусловленных нарушением обмена веществ у высокопродуктивных коров, особое место занимает кетоз. Экономический ущерб при кетозе молочных коров складывается преимущественно за счет снижения молочной продуктивности, расстройства функции воспроизводства, сокращения сроков использования скота, ранней выбраковки и т. д. [4].

Одним из ключевых моментов в генезе кетоза является образование большого количества кетоновых тел, синтез которых осуществляется в печеночной ткани [5–7]. При этом повышение в крови больных коров содержания кетоновых тел характеризуется формированием в печени жировой дистрофии, которая значительно осложняет течение заболевания и требует существенных изменений в тактике лечения данной патологии [8, 9].

Цель исследования – изучить взаимосвязи концентрации кетоновых тел в крови и степени развития жировой дистрофии печени.

Исследования коров проводились в АО «Учхоз «Пригородное»» г. Барнаула в конце зимне-стойлового периода. Объектом исследования являлись больные кетозом коровы-аналоги черно-пестрой породы в возрасте 4–7 лет живой массой 480 ± 40 кг. Формирование группы коров проводили в соответствии с результатами проб мочи с нитропруссидом натрия на наличие кетоновых тел при помощи тест-полосок Кетоглюк по мере поступления животных, после чего концентрацию кетоновых тел подтверждали лабораторным (йодометрическим) анализом крови [10]. Диагноз кетоз ставили при концентрации общих кетоновых тел (ОКТ) в крови выше 1,033 ммоль/л и отношении фракций кетоновых тел (бета-оксимасляной кислоты (ВН) к ацетону с ацетоуксусной кислотой (АсАс)) меньше 6:1.

Для гистологического исследования пробы печени брали сразу после убоя и обескровливания коров. Отбирали кусочки ткани размером 1 x 1 см, фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Гистологические срезы готовили методом заливки в парафин на микротоме (МПС-2). Толщина парафиновых срезов – 5–10 мкм. Окраску срезов печени проводили гематоксилин-эозином. Гистологические препараты изучались на австрийском триокулярном микроскопе Micros с видеонасадкой MC-200.

Перед убоем животных подвергали клиническому исследованию, при котором учитывали общее состояние, температуру тела, пульс, дыхание, частоту сокращения рубца. При биохимическом исследовании крови учитывали кетоновые тела и их фракции, глюкозу и щелочной резерв.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием прикладной программы StatSoft Statistica 6.1. Достоверность различий оценивали методом парных сравнений, используя t-критерий Стьюдента, а достоверное различие констатировали при $P < 0,05$.

В ходе исследований установлено, что у больных кетозом коров наблюдается разнообразная гистологическая картина. Так, у нескольких коров при световой микроскопии печени обнаружено, что дольки печени сохранены, окрашены неравномерно – в центральной их части более светлые по сравнению с периферическими участками (рис. 1).

На периферии долек трабекулярное строение сохранено. В центре долек наблюдается крупнокапельная жировая дистрофия, а на периферии структура гепатоцитов преимущественно сохранена и отмечается мелкокапельная жировая дистрофия. Инфильтрированные липидами гепатоциты увеличены в объеме, ядра округлой формы и смещены к периферии.

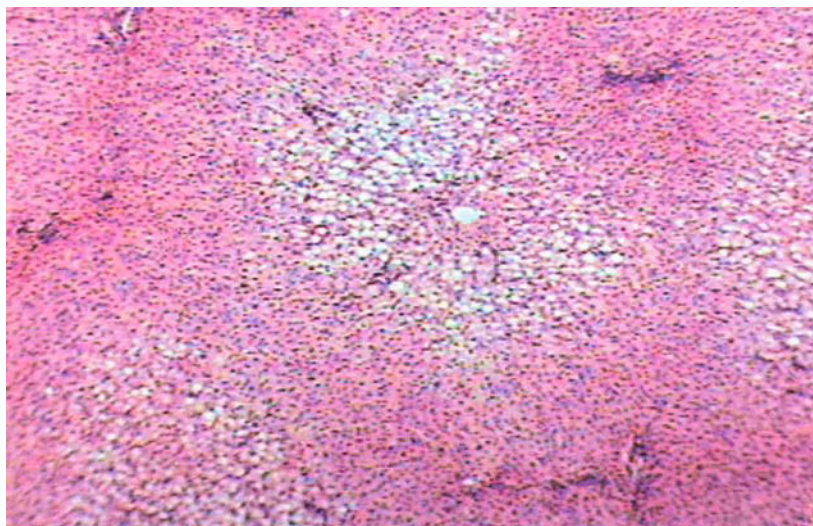


Рис. 1. Жировая инфильтрация печени. Корова 6 лет
Гематоксилин-эозин; ок. 7, об. 10

У некоторых коров ядра клеток печени уменьшены в объеме и деформированы. Протоплазма представлена небольшим ободком, располагающимся вдоль клеточной мембраны, преимущественно вокруг сморщенного ядра. В части клеток жир полностью заполняет весь их объем, что сопровождается полным разрушением ядра и цитоплазмы клетки (рис. 2).

При этом у некоторых коров отложение липидов выявлялось не только в центральных, но и в периферических участках долек. Отмечалось нарушение трабекулярного строения долек и разрастание соединительной ткани. Гепатоциты, инфильтрированные жиром, были увеличены в объеме и тесно прилегали друг к другу. Во многих клетках отмечалось разрушение ядра. В то же время несмотря на жировую инфильтрацию периферической части дольки в междольковом аппарате – триаде подобные изменения отсутствовали.

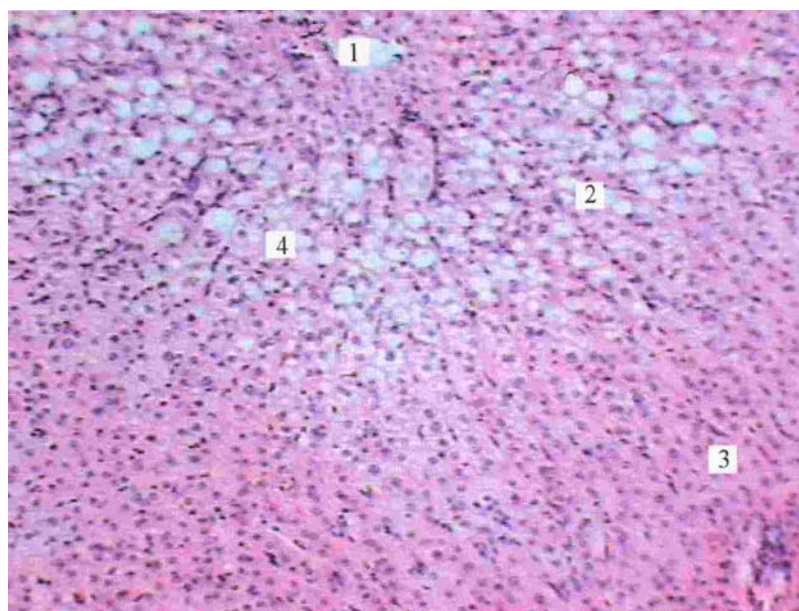


Рис. 2. Жировая инфильтрация печени (центр дольки). Корова 4 года.
Гематоксилин-эозин. ок. 10, об. 100. 1 – деформированные ядра с атрофированной цитоплазмой на периферии гепатоцитов; 2 – отсутствие ядер гепатоцитов

Следует отметить, что у нескольких больных кетозом коров при гистологическом исследовании выраженной жировой инфильтрации в печени нами обнаружено не было.

Таким образом, на основании результатов гистологического исследования больных кетозом коров можно разделить на три группы: первая группа коров с развитием крупнокапельной жировой дистрофии преимущественно центрлобулярной локализации; вторая – с крупнокапельной центрлобулярной и тотальной жировой дистрофией, третья – с отсутствием видимой (при световой микроскопии) жировой дистрофии.

При сопоставлении результатов биохимического и гистологического исследования была выявлена зависимость между степенью жировой дистрофии печени и содержанием в крови у больных кетозом коров кетоновых тел и их фракций, глюкозы и щелочного резерва. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Зависимость жировой дистрофии печени и некоторых биохимических показателей крови

Показатель	Крупнокапельная жировая дистрофия преимущественно центрлобулярной локализации (n=9)	Крупнокапельная центрлобулярная и тотальная жировая дистрофия (n=3)	Отсутствие видимой (при световой микроскопии) жировой дистрофии (n=6)
Глюкоза, ммоль/л	1,79 ± 0,12*	2,40 ± 0,18*	1,62 ± 0,20
Щелочной резерв, ммоль/л	14,30 ± 1,30	18,60 ± 1,50*	13,65 ± 1,10
ОКТ, ммоль/л	2,83 ± 0,19*	2,25 ± 0,24*	3,4 ± 0,3*
ВН, ммоль/л	1,85 ± 0,12*	1,18 ± 0,06*	2,69 ± 0,2*
АсАс, ммоль/л	0,98 ± 0,07*	1,07 ± 0,07*	0,71 ± 0,09*
ВН/АсАс	1,9 ± 0,4*	1,1 ± 0,2*	3,8 ± 0,5*

* P<0,05.

Из таблицы видно, что максимальная концентрация ОКТ, ВН и ВН/АсАс регистрировались у коров с отсутствием выраженной жировой инфильтрации печеночной ткани и составили соответственно 3,40 ± 0,30; ммоль/л, 2,69 ± 0,20 ммоль/л и 3,8 ± 0,5.

С другой стороны, более интенсивное поражение печени сопровождается снижением данных показателей и увеличением концентрации АсАс. Так, при крупнокапельной жировой дистрофии преимущественно центрлобулярной локализации, которая наиболее характерна для субклинического кетоза [11], концентрация ОКТ, ВН и ВН/АсАс составили 2,83 ± 0,19, 1,95 ± 0,14 ммоль/л и 1,9 ± 0,4 соответственно, уровень АсАс в крови данных животных, напротив, был выше и составил 0,98 ± 0,07 ммоль/л.

Более значительная инфильтрация печеночной ткани – крупнокапельная тотальная жировая дистрофия печени – характеризовалась относительно низким уровнем ОКТ (2,25 ± 0,24 ммоль/л), коэффициентом ВН/АсАс (1,1 ± 0,2) и наибольшей концентрацией АсАс (1,07 ± 0,07 ммоль/л). Высокое значение АсАс, на наш взгляд, свидетельствует о серьезном нарушении процессов ассимиляции и диссимиляции в печеночной ткани.

В то же время у коров с отсутствием видимых дистрофических изменений печени при световой микроскопии уровень глюкозы крови и щелочного резерва был минимальным относительно коров с выявленной жировой дистрофией печени – соответственно 1,62 ± 0,20 и 13,65 ± 1,10 ммоль/л.

Наибольшее содержание глюкозы и щелочного резерва в крови больных кетозом коров отмечалось у коров с тотальной жировой дистрофией, что, на наш взгляд, объясняется снижением окислительно-восстановительных процессов в печени и снижением в результате этого различных недоокисленных продуктов обмена в крови.

Концентрация глюкозы и щелочного резерва у больных кетозом коров, в печени которых отмечалась крупнокапельная жировая дистрофия преимущественно центрлобулярной локализации, имела промежуточные значения.

Таким образом, кетоз у коров сопровождается различной степенью поражения печени – от крупнокапельной центрлобулярной и тотальной жировой дистрофии до полного отсутствия видимых изменений при световой микроскопии.

Жировая инфильтрация печени при кетозе коров сопровождается повышением в их крови уровня наиболее токсической фракции кетоновых тел – ацетона с ацетоуксусной кислотой (АсАс), снижением концентрации общих кетоновых тел (ОКТ), бета-оксимасляной кислоты (ВН) и коэффициента отношения кетоновых фракций друг к другу (ВН/АсАс), а также увеличением уровня глюкозы и щелочного резерва.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кондрахин И.П. Полиморбидность внутренней патологии // Ветеринария. – 1998. – № 12. – С. 38–40.
2. Машикина Е.И., Степаненко Е.С. Влияние витаминно-минерального питания на развитие телят-молочников// Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. – 2017. – № 3 (149). – С. 111–115.
3. Никулина Н.Б., Гурова С.В., Аксенова В.М. Функциональные расстройства желудочно-кишечного тракта у дойных коров в некоторых хозяйствах Пермского края// Агротехнологии XXI века: сб. науч.-практ. конф. – Пермь, 2017. – С. 196–199.
4. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике кетозов сельскохозяйственных животных / К.Х. Папуниди, А.В. Иванов, М.Я. Тремасов [и др.]. – М.: ФГНУ Росинформагротех, 2007. – 97 с.
5. Andrews T. Ketosis and liver in cattle// In Practice. – 1998. – Vol. 20, N 9. – P. 509–513.
6. Требухов А.В. Клинико-биохимические аспекты кетоза у молочных коров// Ветеринария. – 2017. – № 10. – С. 46–49.
7. Требухов А.В. Эленшлегер А.А., Ковалев С.П. Кетоз молочных коров: монография. – Барнаул, 2016. – С.16–21.
8. Грачева О.А., Мухутдинова Д.М., Армиров Д.Р. Показатели печеночных маркеров сыворотки крови при кетозе коров // Уч. зап. Казан. акад. вет. медицины. – 2017. – № 2 (230). – С. 67–71.
9. Личук Н.Г., Сливинская Л.Г., Березовский А.В. Функциональное состояние печени молочных коров при кетозе после применения кормовой добавки «Нормотел» // Уч. зап. Витеб. ордена «Знак Почета» гос. акад. вет. медицины. – 2016. – № 3 (52). – С. 57–62.
10. Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.Н. Методы ветеринарной клинической диагностики: справочник. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
11. Стряпунина И.В. Структурно-функциональные изменения печени при субклиническом кетозе// Научные основы профилактики и лечения болезней животных: сб. науч. ст. – Екатеринбург, 2005. – С. 560–563.

REFERENCES

1. Kondrahin I.P. Polimorbidnost vnutrenney patologii // Veterinariya. – 1998. – N 12. – S. 38–40.
2. Mashkina E.I., Stepanenko E.S. Vliyaniye vitaminno-mineralnogo pitaniya na razvitiye telyat-molochnikov// Vestn. Alt. gos agrar. un-ta. – 2017. – N 3 (149). – S. 111–115.
3. Nikulina N.B., Gurova S.V., Aksenova V.M. Funktsionalnyie rasstroystva zheludochno-kishechnogo trakta u doynnyih korov v nekotoryih hozyaystvah Permskogo kraya// Agrotehnologii XXI veka: sb. nauch. – prakt. konf. – Perm, 2017. – S. 196–199.
4. Rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike ketozov selskohozyaystvennyih zhivotnyih / K. H. Papunidi, A. V. Ivanov, M. Ya. Tremasov [i dr.]. – M.: FGNU Rosinformagroteh, 2007. – 97 s.
5. Andrews T. Ketosis and liver in cattle// In Practice. – 1998. – Vol. 20, N 9. – R. 509–513.
6. Trebuhov A.V. Kliniko-biohimicheskie aspektyi ketoza u molochnyih korov//Veterinariya. – 2017. – N10. – S. 46–49.
7. Trebuhov A.V. Elenshleger A.A., Kovalev S.P. Ketoz molochnyih korov: monografiya. – Barnaul, 2016. – S.16–21.
8. Gracheva O.A., Muhutdinova D.M., Armirov D.R. Pokazateli pechenochnyih markerov syivorotki krovi pri ketoze korov // Uch. zap. Kazan. akad. vet. meditsinyi. – 2017. – N2 (230). – S. 67–71.
9. Lichuk N. G., Slivinskaya L. G., Berезovskiy A. V. Funktsionalnoe sostoyaniye pecheni molochnyih korov pri ketoze posle primeneniya kormovoy dobavki «Normotel» // Uch. zap. Viteb. ordena «Znak Pocheta» gos. akad. vet. meditsinyi. – 2016. – N3 (52). – S. 57–62.
10. Kondrahin I.P., Arhipov A.V., Levchenko V.N. Metodyi veterinarnoy klinicheskoy diagnostiki: spravochnik/ – M.: KolosS, 2004. – 520 s.
11. Stryapunina I. V. Strukturno-funktsionalnyie izmeneniya pecheni pri subklinicheskom ketoze//Nauchnyie osnovyi profilaktiki i lecheniya bolezney zhivotnyih: sb. nauch. st. – Ekaterinburg, 2005. – S. 560–563.