

УДК 619:612.1:636.2.034:615.918
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.151

ВЛИЯНИЕ СУБКЛИНИЧЕСКОГО И КЛИНИЧЕСКОГО КЕТОЗА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

Никитин Г.С. – к. вет. н., Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины; Ширяев Г.В. – кандидат с/х наук, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста»; Никиткина Е.В. – кандидат с/х наук, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста»

Ключевые слова: субклинический кетоз, 3-гидроксипутират, глюкоза, голштинская порода. **Keywords:** subclinical ketosis, 3-hydroxybutyrate, glucose, Golstein breed.



РЕФЕРАТ

Целью исследования было изучение влияния субклинического кетоза на гематологические показатели крови высокопродуктивных молочных коров в послеродовой период. Исследуемые животные подобраны по принципу условных аналогов и разделены на 3 группы по 5 голов в каждой. В зависимости от концентрации в крови 3-гидроксипутирата животные были разделены на 3 группы: 1-я группа – меньше 0,8 ммоль/л; 2 группа – 1,2-1,4 ммоль/л; 3-ья группа – больше 1,4 ммоль/л. Условия содержания и кормления их были одинаковыми для всех групп. Определение уровня 3-гидроксипутирата происходило 2 раза: на 5-ый и 15-ый день после отела. Взятие крови осуществляли из хвостовой вены перед утренним кормлением. Сыворотка крови получена центрифугированием (3000 об/мин) с последующим замораживанием при -20°C. В образцах определяли следующие показатели: эритроциты, гемоглобин, гематокрит, общий объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, распределение эритроцитов в крови, лейкоциты, гранулоциты, моноциты, лимфоциты, тромбоциты, средний объем тромбоцитов. Установлены достоверные различия в случае показателей уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита в сравнении 1-ой и 2-ой групп с 3-ей группой. Установлена достоверная корреляционная связь между уровнем 3-гидроксипутирата и некоторыми гематологическими показателями (в различные дни после отела).

ВВЕДЕНИЕ

Субклинический кетоз (СК) встречается повсеместно в течение первых трех недель после отела (во вторую половину транзитного периода). Нарушение энергетического баланса в это время ведет к резкому углеводному дефициту, уменьшению запасов гликогена в печени и развитию гипогликемии [1]. Это провоцирует повышенный синтез 3-гидроксипутирата в крови, который является самым распространенным (78%) и

биохимически стабильным типом среди кетонных тел, синтезируемых печенью. СК определяется по концентрации 3-гидроксипутирата при $<3,0$ и $\geq 1,2$ ммоль/л (у некоторых авторов от $\geq 1,0$ до $\leq 1,4$ ммоль/л) при отсутствии клинических признаков, тогда как клинический кетоз определяется при концентрации $\geq 3,0$ ммоль/л. Учитывая большую распространенность СК в молочном скотоводстве, представляет интерес изучение его влияния на гематологические показатели крови животных.

Цель. Изучение влияния субклинического и клинического кетоза на гематологические показатели крови высокопродуктивных молочных коров в послеотельный период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые животные подобраны по принципу условных аналогов и разделены на 2 группы по 8 голов в каждой. 1 группа – животные с концентрацией в крови 3-гидроксипутирата меньше 1,0 ммоль/л, 2 группа – животные с СКК с концентрацией 3-гидрокси-бутирата в крови в диапазоне 1,0-1,4 ммоль/л. Условия содержания и кормления их были одинаковыми для всех групп. Для экспресс-определения 3-гидроксипутирата в крови использовался глюкометр Free Style Optium. Определение уровня 3-гидроксипутирата происходило 2 раза: на 5-ый и 15-ый день после отела. Взятие крови осуществляли из хвостовой вены перед утренним кормлением. Сыворотка крови получена центрифугированием (3000 об/мин) с последующим замораживанием при -20°C. В образцах определяли следующие показатели: эритроциты, гемоглобин, гематокрит, общий объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, распределение эритроцитов в крови, лейкоциты, гранулоциты, моноциты, лимфоциты, тромбоциты, средний объем тромбоцитов (гематологический контроль (контрольная кровь) CBC-3D (R&D Systems, США), анализатор автоматический для гематологического анализа «ТЕСОМ», КНР). Полученные данные обработаны при помощи программы IBM Statistics, (США). Нормальность распределения проверяли с помощью теста Холмогорова-Смирнова. Использовали дисперсионный анализ с повторными измерениями (Repeated-measures ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе животных с СК к 15-му дню после отела произошло достоверное снижение 3-гидроксипутирата до показателей нормы (<1 ммоль/л). В группе с клиническим кетозом (КК) происходило повышение уровня 3-гидроксипутирата.

Группы между собой достоверно различались ($p < 0,01$). Анализируя данные таблицы 1, можно отметить, что гематологические показатели крови достоверно различались между собой только в случае 2-ой и 3-ей групп по показателям уровня эритроцитов и гематокрита ($p < 0,01$). Показатели содержания эритроцитов и гемоглобина в 1-ой и 2-ой группе были практически идентичными и сохраняли схожую динамику внутри каждой группы – к 15 дню после отела происходило их достоверное снижение ($p < 0,01$). При этом обращает на себя внимание показатель общего объема эритроцитов, который во второй группе с субклиническим кетозом был ниже на протяжении всего опыта.

В случае показателей, характеризующих иммунитет животных (табл. 2) обращает на себя внимание пониженная концентрация лейкоцитов в группе с СК. В случае внутригрупповых значений стоит отметить, что практически все показатели крови кроме лимфоцитов и среднего объема тромбоцитов достоверно изменились в сторону увеличения. На протяжении всего рассматриваемого периода в обеих группах соотношение гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов практически не изменялось (гранулоцитов было больше всего, далее следуют лимфоциты и моноциты).

Корреляционный анализ выявил сильную отрицательную связь в 1-ой группе между средним объемом тромбоцитов на 5-ый с уровнем 3-гидроксипутирата на 15 день после отела ($p < 0,01$) (чем выше уровень MPV, тем ниже уровень ВНВА) (табл. 3).

Обращает на себя внимание положительная корреляционная связь между содержанием 3-гидроксипутирата на 5 день и средним содержанием гемоглобина в эритроцитах на 5 день после отела ($p < 0,05$) (чем выше уровень ВНВА, тем выше уровень МСН). При этом зафиксировано, что повышение уровня 3-гидроксипутирата на 5-ом дне после отела вызывало понижение общего объема эритроцитов ($p < 0,01$).

Интересная тенденция прослеживается

Таблица 1

Биохимические и гематологические показатели крови первотелок на 5-ый и 15-ый день после отела

Показатель	Концентрация 3-гидроксibuтирата					
	<0,8 ммоль/л, n=5		1,2-1,4 ммоль/л, n=5		>1,4 ммоль/л, n=5	
	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела
ВНБА, ммоль/л	0,70±0,08 ^{1,2}	0,64±0,07 ^{1,2}	1,36±0,02 ^{1,2b}	0,80±0,11 ^{1,2b}	1,94±0,47 ^{1,2}	2,46±0,83 ^{1,2}
RBC, × 10 ¹² /л	5,77±0,25 ^{1a}	5,80±0,28 ^{1a}	5,63±0,17 ^{2b}	5,08±0,20 ^{2b}	7,15±0,53 ^{1,2c}	5,72±0,13 ^{1,2c}
HGB, г/л	98,80±5,40 ^a	93,60±4,15 ^a	100,00±6,52 ^b	85,67±2,11 ^b	119,00±0,53 ^c	101,25±1,53 ^c
HCT, %	30,98±2,21	31,12±1,15	30,78±1,83 ^{1b}	23,47±0,42 ^{1b}	42,85±3,86 ^{1c}	28,58±0,34 ^{1c}
MCV, фл	53,82±3,42	55,57±2,93	53,24±2,95	46,43±1,04	60,35±4,37	49,98±1,46
MCH, пг	17,00±0,43	16,80±0,80	17,40±0,40	17,00±0,46	16,75±0,88	17,50±0,22
MCHC, г/л	322,20±18,45	304,40±25,07	326,8±19,60	365,00±3,97	289,25±28,39	354,25±5,28
RDW, %	15,34±0,21	15,38±0,28	15,50±0,39	15,90±0,18	15,18±0,27	15,83±0,35

Примечания: ВНБА – 3-гидроксibuтират; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; HCT – гематокрит; MCV – общий объем эритроцитов; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах; MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах; RDW – распределение эритроцитов в крови.

^{a, b, c} – достоверность значений (внутригрупповые сравнения) $p < 0,01$;

^{1, 2} достоверность значений (межгрупповые сравнения) $p < 0,01$

в случае эритроцитов на 5-ый день – уровень 3-гидроксibuтирата на 15 день после отела: отмечена отрицательная корреляция ($p < 0,05$) (чем ниже уровень RBC, тем выше уровень ВНБА). Такая же тенденция прослеживается и в случае гемоглобина – его уровень на 5-ый день отрицательно коррелировал с уровнем 3-гидроксibuтирата на 15 день после отела ($p < 0,05$) (чем ниже уровень HGB, тем выше уровень ВНБА).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя литературу, в которых приводятся данные сравнительного изучения гематологических показателей крови у коров с субклиническим и клиническими кетозами, можно отметить их недостаточность и противоречивость. В большом количестве источников негативное

влияние кетозов на воспроизводственные показатели увязывается со снижением иммунитета животных. Как правило в большинстве из них не приводится конкретных значений подобного воздействия. Учитывая, что иммунный ответ в настоящее время вполне можно характеризовать точными значениями, представляется интересным поднять вопрос об их изменениях в зависимости от наличия субклинических значений 3-гидроксibuтирата в крови.

В наших исследованиях гематологические показатели содержания эритроцитов, гемоглобина и гематокрит в случае межгрупповых сравнений имели достоверные различия 1-ой и 2-ой групп в сравнении с 3-ей ($p < 0,01$). Это совпадает с результатами ранее проведенных опытов других

Таблица 2

Гематологические показатели крови первотелок, характеризующие иммунитет на 5-ый и 15-ый день после отела

Показатель	Концентрация 3-гидроксибутирата					
	<0,8 ммоль/л, n=5		1,2-1,4 ммоль/л, n=5		>1,4 ммоль/л, n=5	
	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела
WBC, x 10 ⁹ /л	7,56±0,89 ^a	9,12±0,59 ^a	7,26±0,98 ^b	9,60±0,69 ^b	7,63±1,33 ^c	8,10±0,75 ^c
GRA, %	44,86±6,01 ^a	56,72±3,97 ^a	46,78±4,83 ^b	64,37±3,00 ^b	44,18±4,51 ^c	56,38±4,46 ^c
GRA, x 10 ⁹ /л	3,58±0,86 ^a	5,26±0,54 ^a	3,56±0,80 ^b	7,37±0,17 ^b	3,68±1,02 ^c	4,43±0,65 ^c
MON, %	9,36±0,43 ^a	11,84±0,90 ^a	8,66±0,56 ^b	9,80±0,03 ^b	8,95±1,01 ^c	9,30±0,32 ^c
MON, x 10 ⁹ /л	0,71±0,10 ^c	0,65±0,13 ^c	1,07±0,08 ^d	0,94±0,07 ^d	0,72±0,2 ^c	0,71±0,05 ^c
LYM, %	45,78±6,00 ^a	31,44±4,42 ^a	44,56±5,28 ^b	25,83±2,98 ^b	46,88±5,04 ^c	34,33±4,41 ^c
LYM, x 10 ⁹ /л	3,27±0,25	2,86±0,45	3,06±0,27	2,35±0,13	3,24±0,16	2,50±0,18
PLT, x 10 ⁹ /л	381,00±50,19 ^a	569,80±34,78 ^a	314,20±45,48 ^b	485,00±41,46 ^b	353,75±49,01 ^c	604,50±82,52 ^c
MPV, фл	5,64±0,31	5,66±0,10	5,82±0,39	5,27±0,17	5,73±0,31	5,15±0,05

Примечания: WBC – лейкоциты; GRA – гранулоциты; MON – моноциты; LYM – лимфоциты; PLT – тромбоциты; MPV – средний объем тромбоцитов.

^{a, b, c} – достоверность значений (внутригрупповые сравнения) $p < 0,05$;

^{1, 2} – достоверность значений (межгрупповые сравнения) $p < 0,01$

авторов. В работе Marutsova V. и др. (2015) продемонстрировано, что уровни гемоглобина, гематокрит, средняя концентрация и содержание гемоглобина в эритроцитах в группах здоровых животных и СК практически оставались прежними [2]. При этом у животных с клиническим кетозом эти показатели были достоверно повышенными. Уровень лейкоцитов в случае с субклиническим кетозом был выше по сравнению со здоровыми животными: $9,61 \pm 4,76$, $\times 10^9/\text{л}$ и $14,87 \pm 7,73$, $\times 10^9/\text{л}$, соответственно. Также, в работе Schulz K. и др. (2015) указывается, что в послеотельный период у коров с субклиническим кетозом общий уровень лейкоцитов, за счет практически всех составляющих лейкограммы повышался: $7,22 \pm 0,41$, $\times 10^3/\mu\text{л}$ у здоровых и $8,45 \pm 0,42$, $\times 10^3/\mu\text{л}$ – у коров с субклиническим кетозом [3].

Это идет в разрез с нашими исследо-

ваниями, в которых уровень лейкоцитов снижался в варианте с субклиническим кетозом и повышался в случае клинического. Возможно это связано с выбранными диапазонами. В работе Marutsova V. и др. (2015) субклинический кетоз фиксировался в довольно широком диапазоне – 1,2-2,6 ммоль/л (в исследованиях Schulz K. и др. (2015) – 1,2-2,5 ммоль/л). Значения выше фиксировали клинический кетоз.

Интересно то, что в этих исследованиях при клиническом кетозе уровень моноцитов и лимфоцитов значительно снижен. Связь интересная и заслуживает дальнейшего изучения, т.к. моноциты являются одними из основных лейкоцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины (интерлейкины (ИЛ)), обеспечивающих мобилизацию воспалительного ответа. К примеру, в исследованиях Кибкало Д. В. (2017), отмечено, что субклинический

Таблица 3

Коэффициенты линейной корреляции r-Пирсона между концентрацией 3-гидроксибутирата и гематологическими показателями крови

Пара сравниваемых показателей	Концентрация 3-гидроксибутирата		
	<0,8 ммоль/л, n=5	1,2-1,4 ммоль/л, n=5	>1,4 ммоль/л, n=5
MPV (на 5 день ПО) – ВНВА (на 15 день ПО)	-0,991**	-0,521	-0,393
ВНВА (на 5 день ПО) – МСН (на 5 день ПО)	0,433	0,913*	-0,022
ВНВА (на 5 день ПО) – МСV (на 5 день ПО)	-0,224	-0,986**	-0,018
RBC (на 5 день ПО) – ВНВА (на 15 день ПО)	-0,645	-0,939*	0,379
HGB (на 5 день ПО) – ВНВА (на 15 день ПО)	-0,486	-0,924*	0,659

Примечания: ВНВА – 3-гидроксибутират; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; МСV – общий объем эритроцитов; МСН – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах; MPV – средний объем тромбоцитов.

* Корреляция значима на уровне 0,05 (двусторонняя)

**Корреляция значима на уровне 0,01 (двусторонняя)

кетоз практически не изменял уровень провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 и ИЛ-6 и противовоспалительных ИЛ-4 в сыворотке крови коров [4]. В наших исследованиях в процентном соотношении уровень моноцитов в варианте с субклиническим кетозом был наименьшим.

Есть также интересные данные Бабухина С. Н. (2018), которые показывают, что у нетелей при субклиническом кетозе также отмечается тенденция к снижению лейкоцитов за счет понижения уровней лимфоцитов и моноцитов [5]. При этом уровень моноцитов у нетелей с субклиническим кетозом составлял $10,38 \pm 0,15\%$, а у здоровых – $11,3 \pm 0,16\%$, соответственно.

ВЫВОДЫ

Установлены достоверные различия показателей концентрации эритроцитов, гемоглобина и гематокрита в сравнении 1-ой и 2-ой групп с 3-ей группой. Установлена достоверная корреляционная связь между уровнем 3-гидроксибутирата и некоторыми гематологическими показателями (в различные дни после отела).

Работа проведена в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по те-

ме № AAAA-A18-118021990006-9

THE EFFECT OF SUBCLINICAL KETOSIS ON THE HEMATOLOGICAL INDICATORS OF THE BLOOD OF HIGHLY PRODUCTIVE COWS.

Shiryaev G. – PhD (Agr. Sci), RRIFAGB; Nikitin G. – PhD (Vet. Sci), FSBEI HE "SPbSUV" ,

Nikitkina E. PhD (Agr. Sci), RRIFAGB; e-mail: nikitkinae@mail.ru.

ABSTRACT

Purpose: to study the effects of subclinical ketosis on the hematological indicators of the blood of highly productive milk cows in the postal period. The studied animals are selected according to the principle of conditional analogues and divided into 3 groups of 5 goals each. Depending on the concentration in the blood of 3-hydroxybutirate, animals were divided into 3 groups: 1st group-less than 0.8 mmol/l; Group 2-1.2-1.4 mmol/l; 3rd group-more than 1.4 mmol/l. The conditions of their detention and feeding were the same for all groups. The determination of the level of 3-hydroxybutirates took place 2 times: on the 5th and 15th day after the hotel. Taking blood was carried out from the tail vein in front of the morning

feeding. The blood serum was obtained by centrifugation (3000 rpm) with subsequent freezing at -20 ° C. The following indicators were determined in the samples: red blood cells, hemoglobin, hematocrit, the total volume of red blood cells, the average hemoglobin content in red blood cells, the distribution of red blood cells in the blood, leukocytes, granulocytes, monocytes, lymphocytes, thrombocytes, the average volume of platelets. Reliable differences have been established in the case of indicators of the level of red blood cells, hemoglobin and hematocrit in comparison of the 1st and 2nd groups with the 3rd group. A reliable correlation between the level of 3-hydroxybutirates and some hematological indicators (on various days after the hotel) has been established.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Племяшов К. В. Проблема продуктивных возможностей и производственного долголетия коров в ленинградской области / К. В. Племяшов, Г. М. Андреев, Т. Дмитриева, М. Стахеева / *Международный вестник ветеринарии.* – 2008. – № 3. – С. 6-8.

2. Marutsova V. Comparative clinical and hematological investigations in lactating cows with subclinical and clinical ketosis // V. Marutsova, R. Binev, P. Marutsov // *Macedonian Veterinary Review.* – 2015. – № 38 (2). – P. 159-166. doi:10.14432/j.mavetrev.2015.04.042

3. Schulz K. Effects of elevated parameters of subclinical ketosis on the immune system of dairy cows: in vivo and in vitro results / K. Schulz, J. Frahm, S. Kersten, U. Meyer, D. Reiche, H. Sauerwein, S. Dänicke // *Archives of Animal Nutrition.* – 2015. – № 69 (2). – P. 113-127. doi:10.1080/1745039x.2015.1013666

4. Кибкало Д. В. Анализ цитокинового статуса сыворотки крови коров при субклинической форме кетоза / Д. В. Кибкало // *Біологія тварин.* – 2017. – Т. 19. – № 3. – С. 50-54.

5. Бабухин С. Н. Диагностика, терапия и профилактика субклинического кетоза с осложнением беременности у импортных нетелей / С. Н. Бабухин: дис. ... канд. вет. наук: Саратов, 2018. – 144 с.