



## БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 612.397.2:616.391.1:636.2  
DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.217

### ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИПОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА У НОВОТЕЛЬНЫХ КОРОВ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОМ И КЛИНИЧЕСКОМ КЕТОЗЕ

Васильева С.В., к.в.н., доц. каф. биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ – ORCID 0000-0002-7324-6250, Карпенко Л.Ю., д.б.н., проф., зав. каф. биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ – ORCID 0000-0003-3005-0968.

**Ключевые слова:** новотельные коровы, кетоз, метаболизм, липидный обмен, глюконеогенез, бета-гидроксibuтират.

**Keywords:** new calved cows, ketosis, metabolism, lipid metabolism, gluconeogenesis, beta-hydroxybutyrate.



#### РЕФЕРАТ

В статье рассмотрены результаты исследования маркеров липолиза и глюконеогенеза у новотельных коров на фоне субклинического и клинического кетоза. Маркером для формирования групп по признаку наличия кетоза и его формы был выбран показатель бета-гидроксимасляной кислоты в сыворотке крови. Коровы, имеющие показатель до 1,0 ммоль/л считались здоровыми, наличие субклинического кетоза определялось при уровне бета-гидроксibuтирата от 1,1 до 1,5 ммоль/л, клинического кетоза – свыше 1,6 ммоль/л. У коров была отобрана кровь в срок 3-7 дней после отёла и проведено исследование концентрации бета-гидроксимасляной кислоты, глюкозы, фруктозамина, неэтерифицированных жирных кислот, кортизола и активности АЛТ. Результаты исследования выявили достоверный рост концентрации неэтерифицированных жирных кислот у коров с умеренной кетонемией на 46,9%, а у коров с выраженным увеличением содержания бета-гидроксibuтирата в крови – на 79,8%. При рассмотрении концентрации глюкозы у коров с разным уровнем бета-гидроксibuтирата в крови отмечается незначительное возрастание показателя на 14,5% ( $P>0,05$ ) у коров с субклиническим кетозом, но у животных с выраженной кетонемией обнаруживается достоверное снижение глюкозы на 38,3%. У коров с субклиническим и клиническим кетозом уровень кортизола значительно выше (в 1,9 и 2,4 раза, соответственно), чем у коров с низким содержанием бета-гидроксимасляной кислоты в крови. При этом у коров с клиническим кетозом выявлено достоверное увеличение концентрации фруктозамина на 22,3%. Субклинический кетоз, проявляющийся умеренным увеличением в крови концентрации бета-гидроксимасляной кислоты (1,1 – 1,5 ммоль/л) вызывает в организме адаптивные реакции, направленные на сохранение гомеостаза глюкозы и на извлечение из депо липидов, компенсирующих временный дефицит энергии. Клинический кетоз сопровождается разобщением регуляторных механизмов анаболических и катаболических процессов в организме новотельной коровы.

## ВВЕДЕНИЕ

Кетоз является одной из наиболее распространённых болезней обмена веществ у новотельных коров [1, 2]. После отёла возникают естественные причины для активации кетогенеза, так как практически все коровы испытывают энергетическое голодание даже при самых оптимальных условиях кормления. В таких условиях происходит резкая липомобилизация под влиянием адипоцитарной триглицеридлипазы и гормон-чувствительной липазы, что приводит к выбросу в кровь незатерифицированных жирных кислот и свободного глицерина [3, 4]. Жирные кислоты утилизируются в аэробном метаболизме в мышцах, почках, сердце, печени, при этом часть продуктов бета-окисления в гепатоцитах вступают в реакции кетогенеза. Кетоновые тела, в частности бета-гидроксимасляная и ацетоуксусная кислоты содержат достаточно много потенциальной энергии, и будучи хорошо растворимыми в воде, легко проникают в головной мозг и компенсируют недостаток глюкозы [4, 5, 6]. Жирные кислоты не могут проникнуть через гематоэнцефалический барьер, поэтому для головного мозга они недоступны. После отёла организм коровы находится под влиянием лактационной доминанты, но в условиях отрицательного энергетического обмена ему необходимо решать ещё одну приоритетную задачу – поддерживать гомеостаз глюкозы для оптимальной работы головного мозга. В ранний новотельный период организм коровы чрезвычайно уязвим, и под влиянием комплекса причин может произойти перекос метаболизма в сторону чрезмерного усиления катаболических процессов [7, 8, 9, 10].

В связи с вышеизложенным нами была поставлена задача изучить активность липолиза и глюконеогенеза у новотельных коров при субклиническом и клиническом кетозе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В одном из животноводческих хозяйств Ленинградской области было отобрано 30 полновозрастных высокопродуктивных коров (удой за предыдущую

лактацию более 8000 кг), у которых на 3-7 сутки после отёла были взяты пробы крови для биохимического исследования. Кровь брали утром перед раздачей корма из хвостовой вены с помощью вакутейнера (иглы 18G и вакуумной пробирки с красной крышкой). Пробы немедленно доставляли в клиничко-биохимическую лабораторию ФГБОУ ВО СПбГУВМ, центрифугировали и исследовали на содержание бета-гидроксимасляной кислоты – кондуктометрическим методом; глюкозы, фруктозамина, незатерифицированных жирных кислот (NEFA), АЛТ – с помощью тест-систем («Ольвекс диагностикум», «DiaSys», «BSBE») и полуавтоматического биохимического анализатора CLIMA MC-15, концентрацию кортизола определяли с помощью тест-системы для иммуноферментного анализа «Алкор-Био» и микропланшетного анализатора вертикального сканирования MULTISCAN.

По итогам проведённого анализа на содержание бета-гидроксibuтирата в крови результаты исследования были сгруппированы согласно данным табл.1.

Полученные в результате были статистически обработаны методом t-критерия Стьюдента с использованием пакета Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведённого исследования представлены в таблице 2.

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание односторонность изменений показателя бета-гидроксимасляной кислоты в сравнении с показателями катаболизма липидов. Так, концентрация незатерифицированных жирных кислот достоверно возрастает у коров с умеренной кетонемией на 46,9%, а у коров с выраженным увеличением содержания бета-гидроксibuтирата в крови – на 79,8%. Активность липомобилизации отражает степень дефицита доступной энергии, поэтому у коров третьей группы отмечаются признаки наиболее активной компенсаторной реакции организма на недостаток энергоёмких субстратов. При рассмотрении концен-

Таблица 1

## Группировка результатов исследования

№ группы	Уровень гидроксибутирата, ммоль/л	Количество животных в группе
Группа 1 (отсутствие кетоза)	0,6 – 1,0	10
Группа 2 (субклинический кетоз)	1,1 – 1,5	11
Группа 3 (клинический кетоз)	1,6 – 3,4	9

Таблица 2

Результаты биохимического исследования новотельных коров ( $M \pm m$ )

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Бета-гидроксибутират, ммоль/л	0,85±0,4	1,32±0,04 P<0,001	2,74±0,21 P<0,001
Глюкоза, ммоль/л	2,90±0,15	3,32±0,24	1,79±0,08 P<0,001
Фруктозамин, мкмоль/л	276,66±6,18	287,05±7,50	338,43±11,79 P<0,001
Неэтерифицированные жирные кислоты, мкмоль/л	392,42±29,79	576,55±23,44 P<0,001	705,54±45,94 P<0,001
АЛТ, МЕ/л	20,81±0,77	21,89±1,15	28,07±0,98 P<0,001
Кортизол, нмоль/л	23,37±2,15	44,82±1,93 P<0,001	55,45±2,84 P<0,001

Примечание: проведена оценка достоверности изменения показателей в сравнении с группой 1.

трации глюкозы у коров с разным уровнем бета-гидроксибутирата в крови отмечается незначительное возрастание показателя на 14,5% ( $P>0,05$ ) у коров с субклиническим кетозом, но у животных с выраженной кетонемией обнаруживается достоверное снижение глюкозы на 38,3%. Известно, что образование фруктозамина напрямую зависит от концентрации глюкозы в крови в ретроспективе, так как является продуктом её связывания с плазменными белками (преимущественно с альбумином). Поэтому фруктозамин является надёжным маркером постоянного или транзиторного увеличения уровня глюкозы за предшествующие две недели до взятия крови на анализ. Этот показатель практически не отличается у коров первой и второй группы, однако в третьей группе определяется его повышение на 22,3% ( $P<0,001$ ). Следовательно, у этих животных были эпизоды увеличения глю-

козы за последние несколько дней, возможно гипергликемия проявилась на фоне отёла. Чтобы внести ясность о происхождении гипергликемии рассмотрим концентрацию кортизола в исследуемых группах. Результаты исследования показывают, что у коров с субклиническим и клиническим кетозом уровень кортизола значительно выше (в 1,9 и 2,4 раза, соответственно), чем у коров с низким содержанием бета-гидроксимасляной кислоты в крови. Известно, что кортизол, являясь глюкокортикоидным гормоном, активно секретируется не только в ответ на стресс-фактор или боль, также мощным стимулом для его выброса в кровь является гипогликемия. При рассмотрении результатов мы наблюдаем, что у коров второй группы кетогенез умеренно активирован, при этом наблюдается увеличение концентрации кортизола и глюкозы. Таким образом, эпизод гипогликемии, который

мог быть спровоцирован энергозатратным отёлом и лактогенезом был эффективно компенсирован за счёт включения в метаболизм процессов кетогенеза и глюконеогенеза. Причём наиболее вероятным субстратом для глюконеогенеза был глицерин, высвобождаемый за счёт активного липолиза (подтверждается повышением концентрации незатерифицированных жирных кислот), тогда как аминокислоты у коров второй группы конвертировались в глюкозу, по-видимому, гораздо в меньшей степени. Об этом свидетельствует отсутствие выраженного увеличения активности АЛТ – важнейшего фермента глюкозо-аланинового цикла. Именно данный цикл включается в метаболизм при необходимости извлечения аминокислот из мышечных белков для последующего их вливания в реакции глюконеогенеза. У коров с выраженной кетонемией наблюдается максимальное увеличение при межгрупповом сравнении как концентрации кортизола, так и активности АЛТ, что подтверждает активацию глюконеогенеза на основе аминокислот. Стимуляция данных процессов привела к нормализации уровня глюкозы в крови, однако выброс кортизола явился причиной транзиторной инсулинорезистентности, о чём свидетельствует увеличение уровня фруктозамина. Таким образом, в третьей группе на фоне выраженной кетонемии выявляются признаки активного липолиза и глюконеогенеза на основе глицерина и аминокислот. Однако чрезмерная секреция кортизола может привести метаболизм в «порочный круг»: при таком сценарии компенсаторные реакции вызывают желаемый эффект – увеличение уровня глюкозы в крови, но вместе с этим тормозят механизмы её утилизации в периферических тканях для получения энергии.

## ВЫВОДЫ

По результатам проведённых исследований можно сделать вывод, что тотальный дефицит энергоёмких и глюкопластических веществ или невозможность их полноценного усвоения может привести к разобщению регуляторных механизмов анаболических и катаболических процес-

сов в организме новотельной коровы на фоне клинического кетоза. Субклинический кетоз, проявляющийся умеренным увеличением в крови концентрации бета-гидроксимасляной кислоты (1,1 – 1,5 ммоль/л) вызывает в организме адаптивные реакции, направленные на сохранение гомеостаза глюкозы и на извлечение из депо липидов, компенсирующих временный дефицит энергии. Таким образом, у коров при субклиническом кетозе не развиваются процессы, приводящие к декомпенсации обмена веществ, они носят адаптивно-приспособительный характер и имеют высокие метаболические предпосылки к благоприятному исходу.

## STUDY OF THE ACTIVITY OF LIPOLYSIS AND GLUCONEOGENESIS IN NEW-CALF COWS WITH SUBCLINICAL AND CLINICAL KETOSIS

Vasileva S.V., Ph.D., Associate Professor; Karpenko L.Yu. – doctor of biological sciences, Head of the Department of Biochemistry and Physiology, Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine

The article discusses the results of a study of markers of lipolysis and gluconeogenesis in new-calf cows against the background of subclinical and clinical ketosis. The indicator of beta-hydroxybutyric acid in blood serum was chosen as a marker for the formation of groups based on the presence of ketosis and its form. Cows with an indicator of up to 1.0 mmol/l were considered healthy, the presence of subclinical ketosis was determined at a level of beta-hydroxybutyrate from 1.1 to 1.5 mmol/l, clinical ketosis - over 1.6 mmol/l. Cows were bled 3-7 days after calving and a study was made of the concentration of beta-hydroxybutyric acid, glucose, fructosamine, non-esterified fatty acids, cortisol and ALT activity. The results of the study revealed a significant increase in the concentration of non-esterified fatty acids in cows with moderate ketonemia by 46.9%, and in cows with a pronounced increase in the content of beta-hydroxybutyrate in the blood - by 79.8%. When considering the concentration of glucose in cows with different levels of beta-hydroxybutyrate in the blood, there is a slight increase in the

indicator by 14.5% ( $P > 0.05$ ) in cows with subclinical ketosis, but in animals with severe ketonemia, a significant decrease in glucose by 38.3 %. Cows in subclinical and clinical ketosis had significantly higher levels of cortisol (1.9 and 2.4 times, respectively) than cows with low blood levels of beta-hydroxybutyric acid. At the same time, cows with clinical ketosis showed a significant increase in the concentration of fructosamine by 22.3%. Subclinical ketosis, manifested by a moderate increase in the concentration of beta-hydroxybutyric acid in the blood (1.1 - 1.5 mmol / l), causes adaptive reactions in the body aimed at maintaining glucose homeostasis and extracting lipids from the depot that compensate for a temporary energy deficit. Clinical ketosis is accompanied by dissociation of the regulatory mechanisms of anabolic and catabolic processes in the body of a freshly calved cow.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Симонова, Л. Н. Эффективность диагностики и комплексного лечения кетоза коров в условиях промышленного молочного производства / Л. Н. Симонова, Ю. И. Симонов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 6(86). – С. 209-213. – EDN BKKJUI.
2. Никитина, А. А. Распространенность и диагностика субклинического кетоза у молочных коров в транзитный период / А. А. Никитина // Материалы 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий, Санкт-Петербург, 05–09 апреля 2021 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – С. 159-161. – EDN MZDJEX.
3. Гормональный статус молочных коров до- и послеотельного периодов / М. Р. Симонов, В. В. Влизло, В. И. Буцяк, И. М. Петрух // Ученые записки учреждения образования Витебская академия ветеринарной медицины. – 2017. – Т. 53. – № 2. – С. 132-137. – EDN ZHUAZR.
4. Clinical biochemistry of domestic animals / Ed. by: J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss. – 6th ed. – NY: Academic Press, 2008. – 928 p.
5. Боголюбова, Н. В. Особенности обменных процессов в организме коров с использованием в рационах комплекса дополнительного питания / Н. В. Боголюбова, В. Н. Романов, Р. А. Рыков // Генетика и разведение животных. – 2019. – № 4. – С. 92-97. – EDN ZILCXI.
6. Vasilieva, S. V. Influence of subclinical ketosis in cows on formation of colostral immunity in calves / S. V. Vasilieva, R. M. Vasiliev // Medical Immunology (Russia). – 2021. – Vol. 23. – No 4. – P. 981-986. – DOI 10.15789/1563-0625-IOS-2274. – EDN EQNGSP.
7. Абашкина, Е. Профилактика гипокальциемии и кетоза / Е. Абашкина // Животноводство России. – 2019. – № 9. – С. 39-40. – EDN CFPTHG.
8. Никитина, А. А. Изучение терапевтического эффекта комбинированной кормовой добавки при кетозе у молочных коров / А. А. Никитина // Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук : Материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры "Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза" Колесова Александра Михайловича, Саратов, 14–15 апреля 2021 года. – Саратов: Саратовская региональная общественная организация Центр вынужденных переселенцев "Саратовский источник", 2021. – С. 362-366. – EDN VLJJYG.
9. Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53. – No S2. – P. 153. – EDN YKVLIT.
10. Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev

[et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36. – No S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. – EDN VDGVPC.

#### REFERENCES

1. Simonova, L. N., Simonov, Yu. I. Efficiency of diagnostics and complex treatment of cow ketosis in industrial dairy production [Известия Оренбургского государственного аграрного университета]. 2020; 6 (86):209-213. [in Russ.]
2. Nikitina, A. A. Prevalence and diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows during the transition period [Материалы 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий, Санкт-Петербург, 05–09 апреля 2021 года.]. 2021:159-161.
3. [in Russ.]
4. Hormonal status of dairy cows before and after calving / M. R. Simonov, V. V. Vlizlo, V. I. Butsyak, I. M. Petrukh [Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины.]. 2017; 53 (2): 132-137. [in Russ.]
5. Clinical biochemistry of domestic animals / Ed. by: J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss. – 6th ed. – NY: Academic Press, 2008. – 928 p.
6. Bogolyubova, N.V., Romanov, V.N., Rykov, R.A. Features of metabolic processes in the body of cows with the use of supplementary nutrition in the diets [Генетика и разведение животных.]. 2019; 4: 92-97. [in Russ.]
7. Vasilieva, S. V. Influence of subclinical ketosis in cows on formation of colostral immunity in calves / S. V. Vasilieva, R. M. Vasiliev // Medical Immunology (Russia). – 2021. – Vol. 23. – No 4. – P. 981-986. – DOI 10.15789/1563-0625-IOS-2274. – EDN EQNGSP.
8. Abashkina, E. Prevention of hypocalcemia and ketosis [Животноводство России]. 2019; 9: 39-40. [in Russ.]
9. Nikitina, A. A. Study of the therapeutic effect of a combined feed additive in ketosis in dairy cows [Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук : Материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры "Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза" Колесова Александра Михайловича, Саратов, 14–15 апреля 2021 года.]. 2021: 362-366. [in Russ.]
10. Mycotoxin eliminator "Elitox" in last trimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53. – No S2. – P. 153. – EDN YKVLIT.
11. Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36. – No S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. – EDN VDGVPC.