

Научная статья/Research Article

УДК 636. У22/.28:619:616-07:616.3

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-10-202-207

Александр Иванович Ашенбреннер<sup>1✉</sup>, Нина Юрьевна Беляева<sup>2</sup>,  
Юлия Александровна Чекунова<sup>3</sup>, Юрий Александрович Хаперский<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Федеральный Алтайский научный центр агробιοтехнологий, Барнаул, Россия

<sup>1</sup>ashen.77@yandex.ru

<sup>2</sup>n9635244526@yandex.ru

<sup>3</sup>89130847532@mail.ru

<sup>4</sup>uax23@mail.ru

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ У НОВОТЕЛЬНЫХ КОРОВ

*Цель исследований – изучение биохимических показателей крови коров для поиска информативных биомаркеров оценки гепатобилиарных нарушений в ранний лактационный период. Задачи: комплексное биохимическое исследование крови коров в ранний лактационный период и определение активности ферментов печени и скелетных мышц как показателей, характеризующих поражение клеток печени. Экспериментальные исследования проводились в 7 хозяйствах Алтайского края. Всего в течение периода исследований было отобрано 87 образцов крови от животных. Материалом для исследований служила сыворотка крови коров в период до 45 дней лактации. В результате исследований установлено, что у коров с жировой дистрофией печени наблюдается значительное увеличение в крови концентрации билирубина – до 13,72 мкмоль/л, снижение за пределы стандартных интервалов концентрации альбумина до 26,4 г/л, холестерина до 1,74 ммоль/л по сравнению со здоровыми животными. Уровень триглицеридов в крови больных коров снижается до 0,33 ммоль/л по сравнению со здоровыми животными (0,47 ммоль/л), однако данные изменения находятся в пределах стандартных интервалов (0,22–0,55 ммоль/л). Исследование циркулирующих ферментов печени показало, что у коров с жировой дистрофией наблюдается значительное увеличение ферментативной активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) до 148,3 Ед/л, глутамилтрансферазы (ГГТ) до 30,0 Ед/л и креатинкиназы (КК) до 667,8 Ед/л, что в 1,95, 1,55 и 6,71 раза больше, чем у здоровых животных, соответственно. Таким образом, изменения концентрации билирубина, холестерина, альбумина, АСТ и ГГТ можно использовать в качестве диагностического алгоритма, имеющего высокую информативность при тестировании нарушений функционального состояния печени, что позволит своевременно его корректировать.*

**Ключевые слова:** биохимические маркеры, дисфункция печени, новотельные коровы

**Для цитирования:** Биохимические маркеры дисфункции гепатобилиарной системы у новотельных коров / А.И. Ашенбреннер [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2023. № 10. С. 202–207. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-10-202-207.

Alexander Ivanovich Aschenbrenner<sup>1✉</sup>, Nina Yurievna Belyaeva<sup>2</sup>,  
Yulia Aleksandrovna Chekunkova<sup>3</sup>, Yuri Alexandrovich Khapersky<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnologies, Barnaul, Russia

<sup>1</sup>ashen.77@yandex.ru

<sup>2</sup>n9635244526@yandex.ru

<sup>3</sup>89130847532@mail.ru

<sup>4</sup>uax23@mail.ru

## BIOCHEMICAL MARKERS OF HEPATOBILIARY SYSTEM DYSFUNCTION IN FRESHLY CALVED COWS

*The purpose of research is to study the biochemical parameters of the blood of cows to search for informative biomarkers for assessing hepatobiliary disorders in the early lactation period. Objectives: a comprehensive biochemical study of the blood of cows in the early lactation period and determination of the activity of liver and skeletal muscle enzymes as indicators characterizing liver cell damage. Experimental studies were carried out in 7 farms of the Altai Region. A total of 87 blood samples were collected from animals during the study period. The material for research was the blood serum of cows during the period up to 45 days of lactation. As a result of research, it was found that in cows with fatty liver degeneration there is a significant increase in the concentration of bilirubin in the blood - up to 13.72  $\mu\text{mol/l}$ , a decrease in the concentration of albumin beyond the standard ranges to 26.4 g/l cholesterol to 1.74 mmol/l, compared to healthy animals. The level of triglycerides in the blood of sick cows decreases to 0.33 mmol/l, compared to healthy animals (0.47 mmol/l), however, these changes are within standard intervals (0.22–0.55 mmol/l). A study of circulating liver enzymes showed that in cows with fatty degeneration there is a significant increase in the enzymatic activity of aspartate aminotransferase (AST) to 148.3 U/l, glutamyltransferase (GGT) to 30.0 U/l and creatine kinase (CK) to 667.8 U/l, which is 1.95, 1.55 and 6.71 times more than in healthy animals, respectively. Thus, changes in the concentrations of bilirubin, cholesterol, albumin, AST and GGT can be used as a diagnostic algorithm that is highly informative when testing disorders of the functional state of the liver, which will allow for timely correction.*

**Keywords:** biochemical markers, liver dysfunction, freshly calved cows

**For citation:** Biochemical markers of hepatobiliary system dysfunction in freshly calved cows / A.I. Aschenbrenner [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2023;(10): 202–207. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-10-202-207.

**Введение.** Метаболизм молочных коров претерпевает существенные изменения на протяжении периода стельности, отела и начала лактации [1]. Физиологический отрицательный энергетический баланс наблюдается в послеродовом периоде, потому что животные не в состоянии адекватно увеличить потребление корма для удовлетворения потребности в энергии и питательных веществах, вызванной продолжающимся восстановлением тканей и производством молока [2]. Как следствие, наблюдается мобилизация тканей из запасов, образовавшихся в предшествующую лактацию и сухостойный период [3]. В этом процессе печень играет ключевую роль, отвечая за метаболизм свободных жирных кислот, образующихся из мобилизованных триглицеридов, в цикле  $\beta$ -окисления до ацетил-КоА, который либо вступает в цикл трикарбоновых кислот, либо метаболизируется до кетоновых тел [4], обеспечивая доставку липопротеинов очень низкой плотности в периферические ткани, такие как молочная железа [5] и метаболизм аминокислот для синтеза белка [6]. Чтобы справиться с этими проблемами, метаболизм печени ускоряется в течение нескольких дней от состояния с относительно

низкой потребностью до самого высокого уровня потребности в метаболических возможностях на протяжении всего лактационного цикла [7]. В этот период различные факторы риска (например, неадекватные условия содержания, кормления и общего ухода, сохраняющиеся проблемы со здоровьем) могут привести к дисбалансу питания и снижению упитанности, вызывая отрицательный энергетический баланс и мобилизацию липидов в нефизиологическом масштабе, нарушая функцию печени, восстановление тканей и иммунную защиту [8]. Как следствие, наблюдается ряд клинических последствий, которые так или иначе взаимосвязаны и часто имеют синергетическое действие и которые можно обобщить под термином «болезни коров в транзитный период» [9]. Лабораторный анализ крови становится важным инструментом для практикующих молочное животноводство при оценке здоровья коров и профилактике метаболических заболеваний [10]. Знание, какие метаболиты измерять, в какое время и как интерпретировать результаты, может быть полезно для прогнозирования последующего состояния здоровья и продуктивности.

**Цель исследования** – изучение биохимических показателей крови коров для поиска информативных биомаркеров оценки гепатобилиарных нарушений в ранний лактационный период.

**Задачи:** провести комплексное биохимическое исследование крови коров в ранний лактационный период; определить ферментативную активность ферментов печени и скелетных мышц как показателей, характеризующих поражение клеток печени.

**Объекты и методы.** Лабораторные исследования крови от коров проводились в период 2018–2022 гг. в лаборатории ветеринарии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», отбор образцов крови проводили в 7 хозяйствах Алтайского края. Всего в течение периода исследования было отобрано 87 образцов крови от животных. Материалом для исследования служила сыворотка крови коров в период до 45-го дня лактации. Кровь от животных брали из подхвостовой вены в утренние часы до кормления. Объект исследования – коровы черно-пестрой и симментальской пород в ранний лактационный период, условно здоровые и с клиническим течением жировой дистрофии печени. Отдельные животные из числа больных, с целью установления диагноза, были вынужденно выбракованы, что позволило нам провести патолого-анатомическое исследование внутренних органов.

Исследование биохимических показателей крови проводили на фотометрическом автоматическом анализаторе ChemWellCombi 2910

(AwarenessTechnology, США), оно включало определение: аланинаминотрансферазы (АлАТ, АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ, АСТ), щелочной фосфатазы, креатинкиназы (КК), у-глутамилтрансферазы (ГГТ) – кинетическим УФ-методом; общего белка – рефрактометрическим методом; альбумина – фотометрическим методом с бромкрезоловым зеленым; креатинина – ферментативным ПАП-методом, кинетическим; билирубина общего – DPD методом; холестерина общего – ферментативным методом; триглицериды – ферментативным колориметрическим методом; кальция – колориметрическим методом с о-крезолфталеином комплексом; фосфора – УФ-методом с молибденово-кислым аммонием; хлоридов – колориметрическим методом с использованием тиоцианата; железа – колориметрическим методом, без депротеинизации, с Nitro-PAPS.

Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью программы MS Excel и оценки критериев достоверности по Стьюденту.

**Результаты и их обсуждение.** Основные результаты исследования по показателям, отражающим основные виды обмена веществ, представлены в таблице 1.

Как видно из данных исследования, у коров с жировой дистрофией печени наблюдается значительное увеличение в крови концентрации билирубина до 13,72 мкмоль/л, а концентрация альбумина и холестерина была значительно снижена за пределы стандартных интервалов по сравнению со здоровыми животными – до 26,4 и 1,74 ммоль/л соответственно.

Таблица 1

### Биохимические показатели здоровых и больных коров в ранний лактационный период

Показатель	Стандартные интервалы	2–8-е недели после отела			
		Здоровые животные		Больные животные	
		Х	Референтный интервал	Х	Референтный интервал
1	2	3	4	5	6
Общий белок, г/л	72–86	80,9	76,3–83,8	73,2**	59,2–89,2
Альбумин, г/л	27,0–43,0	33,9	32,3–36,6	26,4**	16,3–38,8
Глобулины, г/л	32,0–48,0	47,0	43,2–51,4	47,8	35,4–63,4
Креатинин, мкмоль/л	55,8–162,4	82,5	67,7–97,9	65,8	49,5–103,3
Мочевина, ммоль/л	2,8–8,8	4,14	3,13–5,49	4,33	1,63–6,38
Глюкоза, ммоль/л	2,1–3,9	3,27	3,02–3,64	3,69	2,87–5,1
Билирубин, мкмоль	0,20–5,10	2,53	1,68–4,26	13,72***	6,51–35,49

1	2	3	4	5	6
Холестерин, ммоль/л	2,3–6,6	3,35	2,52–5,46	1,74***	0,58–2,47
Триглицериды, ммоль/л	0,22–0,55	0,47	0,34–0,52	0,33**	0,17–0,57
Са, ммоль/л	2,3–3,2	2,43	2,30–2,49	2,13**	1,37–2,66
Р, ммоль/л	1,4–2,9	1,84	1,55–2,14	1,59	0,88–2,43
Fe, ммоль/л	16,1–28,2	21,7	19,4–23,5	11,0**	5,8–16,7
Хлориды, ммоль/л	94–104	99,5	97,7–101,3	93,6*	85,1–104,2

Также отмечается снижение уровня триглицеридов в крови до 0,33 ммоль/л по сравнению со здоровыми животными, однако данные изменения происходили в пределах стандартных интервалов (0,22–0,55 ммоль/л). Наблюдается достоверное снижение за пределы стандартных интервалов в крови животных с жировым гепатозом концентрации таких показателей, как кальций (2,13 ммоль/л), железо (11,0 ммоль/л) и хлориды (93,6 ммоль/л). Уровни глобулинов, креатинина, глюкозы и мочевины в крови здоровых коров и с гепатобилиарными нарушениями печени не различались между собой и находились в пределах стандартных интервалов.

Степень изменения биохимических показателей крови, таких как билирубин, АСТ, холестерин у коров с дисфункцией печени, зависела от тяжести поражения органа. Снижение концентрации железа в ранний лактационный период на фоне гепатобилиарных нарушений, вероятнее всего, связано с воспалительной анемией.

Определение циркулирующих в крови ферментов печени (табл. 2) преследует двоякую цель: во-первых, установить наличие поражения клеток печени и их восстановления и, во-вторых, обнаружить повышенную продукцию ферментов, вызванную холестазами или индуцированную лекарственными агентами [11].

Таблица 2

**Циркулирующие ферменты печени здоровых и больных коров в ранний лактационный период, Ед/л**

Показатель	Стандартные интервалы	2–8-е недели после отела			
		Здоровые животные		Больные животные	
		Х	Референтный интервал	Х	Референтный интервал
Щелочная фосфатаза	29–155	88,3	53–124	140,2**	76–258
АСТ	48–110	76,0	53–102	148,3**	74–360
АЛТ	17–37	22,3	17–34	20,0	11–34
ГГТ	5–25	19,3	15–25	30,0**	16–66
КК	44–228	99,5	78–115	667,8*	139–2781

Как видно из данных таблицы 2, у коров с жировой дистрофией наблюдается значительное увеличение ферментативной активности АСТ до 148,3 Ед/л, ГГТ до 30,0 Ед/л и КК до 667,8 Ед/л, что в 1,95, 1,55 и 6,71 раза больше по сравнению со здоровыми животными соответственно. Некоторое повышение уровня АСТ, возможно, было вызвано повреждением мышц, о чем свидетельствуют результаты повышения КК как основного маркера поражения скелетных мышц. Также следует отметить некоторое повышение активности щелочной фосфатазы за

пределы стандартных интервалов у коров с функциональным нарушением печени.

Известно, что АЛТ присутствует в цитоплазме клеток печени и является чувствительным индикатором повреждения гепатоцитов, однако при жировой дистрофии печени его ферментативная активность была практически одинаковой, как у здоровых, так и у больных животных, и находилась в пределах стандартного интервала (17–37 Ед/л).

**Заключение.** Наиболее информативными биохимическими маркерами нарушения функ-

ционального состояния печени у коров в ранний лактационный период являются уровень общего билирубина, холестерина и альбумина, характер изменений которых имеет определенную закономерность и проявляется повышением уровня билирубина и снижением концентрации холестерина и альбумина относительно стандартных интервалов. Из ферментов печени высокой диагностической информативностью обладают такие ферменты, как АСТ и ГГТ, в то время как АЛТ имеет низкую диагностическую ценность, а использование щелочной фосфатазы затруднительно ввиду повышения общей ферментативной активности этого фермента за счет костной изоформы.

#### Список источников

- Nutritional management of the transition cow in the 21st century A paradigm shift in thinking / *J. Roche* [et al.] // *Anim. Prod. Sci.* 2013; 53:1000–1023. DOI: 10.1071/AN12293.
- Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame / *B.J. Bradford* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2015; 98:6631–6650. DOI: 10.3168/jds.2015-9683.
- Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare / *J.R. Roche* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2009; 92:5769–5801. DOI: 10.3168/jds.2009-2431.
- Ingvartsen K.L.* Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases // *Anim. Feed Sci. Technol.* 2006: 126:175–213. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.003.
- Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver / *D. Gruffat* [et al.] // *Reprod. Nutr. Dev.* 1996: 36:375–389. DOI: 10.1051/rnd:19960404.
- Circulating amino acids in blood plasma during the peripartal period in dairy cows with different liver functionality index / *Z. Zhou* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2016: 99:2257–2267. DOI: 10.3168/jds.2015-9805.
- Bobé G., Young J.W., Beitz D.C.* Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows // *J. Dairy Sci.* 2004: 87:3105–3124. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3.
- Sordillo L.M., Raphael W.* Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders // *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 2013: 29:267–278. DOI: 10.1016/j.cvfa.2013.03.002.
- Identification of predictive biomarkers of disease state in transition dairy cows / *D. Haimariam* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2014: 97:2680–2693. DOI: 10.3168/jds.2013-6803.
- Oetzel G.R.* Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease // *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2004: 20:651–674. DOI: 10.1016/j.cvfa.2004.06.006.
- Мейер Д., Харви Дж.* Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация результатов: пер. с англ. М.: Софион, 2007. 456 с.

#### References

- Nutritional management of the transition cow in the 21st century A paradigm shift in thinking / *J. Roche* [et al.] // *Anim. Prod. Sci.* 2013; 53:1000–1023. DOI: 10.1071/AN12293.
- Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame / *B.J. Bradford* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2015; 98:6631–6650. DOI: 10.3168/jds.2015-9683.
- Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare / *J.R. Roche* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2009; 92:5769–5801. DOI: 10.3168/jds.2009-2431.
- Ingvartsen K.L.* Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases // *Anim. Feed Sci. Technol.* 2006: 126:175–213. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.003.
- Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver / *D. Gruffat* [et al.] // *Reprod. Nutr. Dev.* 1996: 36:375–389. DOI: 10.1051/rnd:19960404.
- Circulating amino acids in blood plasma during the peripartal period in dairy cows with different liver functionality index / *Z. Zhou* [et al.] // *J. Dairy Sci.* 2016: 99:2257–2267. DOI: 10.3168/jds.2015-9805.

7. *Bobe G., Young J.W., Beitz D.C.* Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows // *J. Dairy Sci.* 2004: 87:3105–3124. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3.
8. *Sordillo L.M., Raphael W.* Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders // *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 2013: 29:267–278. DOI: 10.1016/j.cvfa.2013.03.002.
9. Identification of predictive biomarkers of disease state in transition dairy cows / *D. Haimariam [et al.]* // *J. Dairy Sci.* 2014: 97:2680–2693. DOI: 10.3168/jds.2013-6803.
10. *Oetzel G.R.* Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease // *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2004: 20:651–674. DOI: 10.1016/j.cvfa.2004.06.006.
11. *Mejer D., Harvi Dzh.* Veterinarnaya laboratornaya medicina. Interpretaciya rezul'tatov: per. s angl. M.: Sofion, 2007. 456 s.

Статья принята к публикации 11.04.2023 / The article accepted for publication 11.04.2023.

Информация об авторах:

**Александр Иванович Ашенбреннер**<sup>1</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук

**Нина Юрьевна Беляева**<sup>2</sup>, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии

**Юлия Александровна Чекункова**<sup>3</sup>, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук

**Юрий Александрович Хаперский**<sup>4</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук, доцент

Information about the authors:

**Alexander Ivanovich Aschenbrenner**<sup>1</sup>, Leading Researcher at the Veterinary Laboratory, Candidate of Veterinary Sciences

**Nina Yurievna Belyaeva**<sup>2</sup>, Senior Researcher at Veterinary Laboratory

**Yulia Aleksandrovna Chekunkova**<sup>3</sup>, Senior Researcher, Veterinary Laboratory, Candidate of Veterinary Sciences

**Yuri Alexandrovich Khapersky**<sup>4</sup>, Leading Researcher at the Veterinary Laboratory, Candidate of Veterinary Sciences, Docent

