



Влияние субклинического кетоза на гематологические показатели крови



Ширяев Г. В., старший научный сотрудник биохимической группы ВНИИГРЖ

Всероссийская школа-конференция «Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных», 21-24 июня 2022, Пушкин-СПб

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. Это провоцирует повышенный синтез 3-гидроксибутирата в крови, который является самым распространенным (78%) и биохимически стабильным типом среди кетонных тел, синтезируемых печенью. Субклинический кетоз определяется по концентрации 3-гидроксибутирата 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 кетоза на гематологические показатели крови высокопродуктивных молочных коров в послеродовой 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-гидроксибутирата меньше 1,0 ммоль/л, 2 группа – животные с СК с концентрацией 3-гидроксибутирата в крови в диапазоне 1,0-1,4 ммоль/л. Условия содержания и кормления их были одинаковыми для всех групп. Для экспресс-определения 3-гидроксибутирата в крови использовался глюкометр FreeStyle Optium. Определение уровня 3-гидроксибутирата 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) СВС-3D (R&D Systems, США), анализатор автоматический для гематологического анализа «TECOM», 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

Таблица 1. Биохимические и гематологические показатели крови первотелок на 5-ый и 15-ый день после отела

Показатель	Концентрация 3-гидроксибутирата			
	< 1 ммоль/л, n=8		1-1,4 ммоль/л, n=8	
	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела
3-гидроксибутират, ммоль/л	0,58±0,08 ^c	0,58±0,05 ^c	1,29±0,07 ^{bc}	0,95±0,10 ^{bc}
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,15±0,27 ^a	5,43±0,18 ^a	6,13±0,30 ^b	5,59±0,20 ^b
Гемоглобин, г/л	103,84±4,81 ^c	91,50±2,99 ^c	103,75±4,64 ^c	91,83±6,98 ^c
Гематокрит, %	31,89±1,82	29,85±1,32	29,48±1,03	26,90±1,41
Об. объем эритроцитов, фл	52,30±3,05	54,97±1,88	48,65±2,32	48,20±1,78
Сред. сод. гем. в эритроц., пг	16,86±0,29	16,97±0,59	17,13±0,30	16,50±0,25
Сред. конц. гем. в эритроц., г/л	332,45±22,05	312,47±16,70	354,00±16,40	346,67±12,07
Распр. эритроц. в крови, %	15,61±0,24	15,53±0,21	15,91±0,26	16,07±0,15

Примечание. ^{a, b} достоверность значений $p < 0,05$; ^c достоверность значений $p < 0,001$

Уровень 3-гидроксибутирата для фиксации СК выбран 1-1,4 ммоль/л. В группе животных с СК к 15-му дню после отела произошло достоверное снижение 3-гидроксибутирата до показателей нормы (< 1 ммоль/л). Группы между собой достоверно различались ($p < 0,001$). Анализируя данные таблицы 1, можно отметить, что гематологические показатели крови достоверно не различались между собой в случае межгрупповых значений. Показатели содержания эритроцитов и гемоглобина были практически идентичными и сохраняли схожую динамику внутри каждой группы – к 15 дню после отела происходило их достоверное снижение ($p < 0,05$ и $p < 0,001$, соответственно).

Таблица 2. Гематологические показатели крови первотелок, характеризующие иммунитет на 5-ый и 15-ый день после отела

Показатель	Концентрация 3-гидроксибутирата			
	< 1 ммоль/л, n=8		1-1,4 ммоль/л, n=8	
	5-ый день после отела	15-ый день после отела	5-ый день после отела	15-ый день после отела
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	8,35±0,81 ^a	10,21±0,67 ^a	7,45±0,80 ^a	8,65±0,56 ^a
Гранулоциты, %	48,11±4,21 ^a	56,64±2,83 ^a	46,71±4,33 ^a	58,22±3,77 ^a
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,30±0,72 ^a	5,62±0,39 ^a	3,68±0,75 ^a	5,22±0,62 ^a
Моноциты, %	9,38±0,34 ^c	11,20±0,63 ^c	9,11±0,58 ^c	11,02±0,60 ^c
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,78±0,07 ^c	1,07±0,05 ^c	0,69±0,10 ^c	0,94±0,06 ^c
Лимфоциты, %	41,91±4,20 ^a	32,17±3,04 ^a	44,18±4,69 ^a	30,77±3,92 ^a
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,28±0,18	3,69±0,63	3,09±0,24	2,52±0,21
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	349,41±34,69 ^c	522,30±35,89 ^c	320,75±34,85 ^c	549,33±45,82 ^c
Средний объем тромб., фл	5,56±0,22	5,56±0,75	5,45±0,20	5,28±0,13

Примечание. ^{a, b} достоверность значений $p < 0,05$; ^c достоверность значений $p < 0,001$

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

Пара сравниваемых показателей	Концентрация 3-гидроксибутирата	
	< 1 ммоль/л, n=8	1-1,4 ммоль/л, n=8
	3-гидроксибутират (на 5 день ПО) – лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (на 15 день ПО)	-0,766*
3-гидроксибутират (на 15 день ПО) – лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (на 15 день ПО)	-0,749*	0,212
Гранулоциты, % (на 5 день ПО) – 3-гидроксибутират (на 15 день ПО)	-0,764*	0,707*
3-гидроксибутират (на 15 день ПО) – моноциты, % (на 15 день ПО)	0,742*	0,853
3-гидроксибутират (на 5 день ПО) – моноциты, % (на 5 день ПО)	0,069	-0,739*
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$ (на 5 день ПО) – 3-гидроксибутират (на 15 день ПО)	0,878**	-0,079
3-гидроксибутират (на 5 день ПО) – моноциты, % (на 15 день ПО)	-0,166	-0,731*
Лимфоциты, % (на 5 день ПО) – 3-гидроксибутират (на 15 день ПО)	0,783*	-0,663
3-гидроксибутират (на 15 день ПО) – об. объем эритроц., фл (на 15 день ПО)	0,021	0,793*

* Корреляция значима на уровне 0,05 (двусторонняя) ** Корреляция значима на уровне 0,01 (двусторонняя)

В случае показателей, характеризующих иммунитет животных (табл. 2) обращает на себя внимание пониженная концентрация лейкоцитов в группе с СК главным образом за счет моноцитов и лимфоцитов. 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 содержанием в крови 3-гидроксибутирата на 5-ый и 15-ый дни после отела с уровнем лейкоцитов на 15 день (чем ниже уровень 3-гидроксибутирата, тем выше уровень лейкоцитов) (табл. 3). Обращает на себя внимание корреляционная связь между содержанием гранулоцитов на 5 день и концентрацией 3-гидроксибутирата на 15 день после отела. В зависимости от группы эта связь была сильной отрицательной (1 группа) и сильно положительной (2 группа). Интересная тенденция прослеживается в случае моноцитов – уровень 3-гидроксибутирата на 15 день после отела положительно коррелировал с уровнем моноцитов на 15 день после отела в обеих группах (в первой группе корреляция была значимой $p < 0,05$). Т.е. положительная связь фиксируется в момент, когда животные уже без субклинического кетоза. Но на 5 день после отела уровень 3-гидроксибутирата коррелировал отрицательно с моноцитами только в группе с субклиническим кетозом (чем ниже концентрация 3-гидроксибутирата, тем выше содержание моноцитов). Связь интересная и заслуживает дальнейшего изучения, т.к. моноциты являются одними из основных лейкоцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины, обеспечивающих мобилизацию воспалительного ответа

Выводы

Не выявлено достоверных различий между гематологическими показателями крови коров-первотелок в зависимости от концентрации 3-гидроксибутирата. Возможно это связано с выбранными диапазонами (1-1,4 ммоль/л). Установлена корреляционная связь между уровнем 3-гидроксибутирата и уровнем моноцитов (в различные дни после отела), косвенно показывающая, что уровень воспалительных процессов у животных с субклиническим кетозом ниже в сравнении со здоровыми животными.

Работа проведена в рамках выполнения научных исследований
Министерства науки и высшего образования РФ
по теме № AAAA-A18-118021990006-9