

УДК 591.4

DOI: 10.24412/1999-6837-2021-2-112-118

## **АНАЛИЗ РАЦИОНА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У МОЛОЧНОГО СКОТА С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ГИПОКАЛЬЦИЕМИИ**

**Никита Игоревич Максимов, Антон Павлович Лашин**

*Дальневосточный государственный аграрный университет, Благовещенск*

**Аннотация.** Для того, чтобы выяснить причины возникновения и способы регулирования гипокальциемии у молочного скота, был поставлен опыт на животноводческой ферме в провинции Хэйлунцзян, где по принципу пар-аналогов было отобрано 30 коров голштинской породы с учетом конституции, экстерьера и объема лактации. В соответствии с уровнем кальция в крови и клиническими симптомами экспериментальные молочные коровы были разделены на следующие группы: контрольная группа (содержание кальция  $>2,20$  ммоль/л и здоровый скот без клинических симптомов), опытная группа 1 с признаками послеродовой гипокальциемии (содержание кальция  $<2,00$  ммоль/л с выраженными клиническими признаками), опытная группа 2 с признаками субклинической гипокальциемии (содержание кальция  $<2,00$  ммоль/л с отсутствием явных клинических симптомов), и для этих тестов исследовались кальций, паратиреоидный гормон, кровь крупного рогатого скота. Измерялись витамин D, фосфор, натрий, магний, калий, хлор, щелочная фосфатаза. Результаты показали, что концентрация кальция в плазме у всех экспериментальных животных имела очень значительную положительную связь с хлором, натрием и щелочной фосфатазой. В то же время прослеживалась очень значимая отрицательная связь с плазменным паратиреоидным гормоном ( $p < 0,01$ ). Однако по сравнению с контрольной группой только группа с послеродовой гипокальциемией имеет значительные различия в концентрациях водорода, натрия и хлора в плазме ( $p < 0,05$ ), по другим показателям достоверной разницы нет ( $p > 0,05$ ). Таким образом, механизм гомеостаза кальция в крови у молочного скота играет определенную роль, но данный процесс способен проявлять свою активность не в полной мере.

**Ключевые слова:** молочный крупный рогатый скот, гипокальциемия, механизм регуляции кальция.

## **DIET ANALYSIS AND COMPARATIVE ASSESSMENT OF BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD IN DAIRY CATTLE WITH VARIOUS FORMS OF HYPOCALCEMIA**

**Nikita I. Maksimov, Anton P. Lashin**

*Far Eastern State Agrarian University, Blagoveshchensk*

**Abstract.** In order to find out the causes and methods of hypocalcemia regulating in dairy cattle, an experiment was set up on a livestock farm in Heilongjiang province, where 30 Holstein cows were selected according to the principle of analogous pairs, taking into account the constitution, exterior and lactation volume. According to the blood calcium level and clinical symptoms, the experimental dairy cows were divided into the following groups: control group (calcium content  $> 2.20$  mmol/L and healthy cattle without clinical symptoms), experimental group 1 with signs of postpartum hypocalcemia (calcium content  $< 2.00$  mmol/L with pronounced clinical signs), experimental group 2 with signs of subclinical hypocalcemia (calcium content  $< 2.00$  mmol/L

with no obvious clinical symptoms), and for these tests calcium, parathyroid hormone, and bovine blood were examined. The Vitamin D, phosphorus, sodium, magnesium, potassium, chlorine, alkaline phosphatase were measured. The results showed that the plasma calcium concentration in all experimental animals had a very significant positive relationship with chlorine, sodium and alkaline phosphatase. At the same time, there was a very significant negative relationship with plasma parathyroid hormone ( $p < 0.01$ ). However, in comparison with the control group, only the group with postpartum hypocalcemia has significant differences in the concentrations of hydrogen, sodium and chlorine in plasma ( $p < 0.05$ ), there is no significant difference in other indicators ( $p > 0.05$ ). Thus, the mechanism of blood calcium homeostasis in dairy cattle plays a certain role, but this process is not fully capable of showing its activity.

**Key words:** dairy cattle; hypocalcemia; mechanism of calcium regulation.

Послеродовая гипокальциемия (молочная лихорадка) – заболевание, в основном молочного скота, характеризующееся пониженным уровнем кальция в крови. Это происходит после родов, в начале лактации, когда потребность в кальции для молозива и производства молока превышает способность организма мобилизовать кальций. На фоне этого возможно развитие признаков родового пареза и кетоза, сопровождающиеся снижением продуктивности молочного скота. В свою очередь, низкий уровень кальция может снизить чувствительность иммунных клеток к патогенным раздражителям, тем самым увеличивая вероятность развития инфекционных заболеваний, таких как мастит и эндометрит. Возможно уменьшение сокращения гладких мышц пищеварительного тракта, приводящее к угнетению подвижности рубца и сычуга [1]. Клинически, когда концентрация кальция в сыворотке крови молочного крупного рогатого скота менее 2 ммоль/л, и проявляются клинические признаки, то, как правило, говорят о клинической форме гипокальциемии. Если концентрация кальция в сыворотке крови выше 1,7 ммоль/л и меньше 2,2 ммоль/л., при отсутствии явных клинических симптомов, дойный скот оценивают, как больных субклинической формой гипокальциемии, однако этиология и механизм её регуляции до конца не изучены [2].

Целью данного эксперимента является установление биохимических факторов, связанных с регуляцией кальция при возникновении послеродовой гипокальциемии у молочного скота, таких как: паратиреоидный гормон, витамин D, фосфор, натрий, магний, калий, хлор, щелочная фосфатаза, что обеспечивает научно-теоретическую основу для дальнейшего выявления этиопатогенеза гипокальциемии у молочных коров и способов профилактики и лечения болезни в животноводческих комплексах.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте на животноводческой ферме в провинции Хэйлуунцзян по принципу пар-аналогов было отобрано 30 коров голштинской породы с учетом конституции, экстерьера и объема лактации. В соответствии с уровнем кальция в крови и клиническими симптомами экспериментальные молочные коровы были разделены на следующие группы: контрольная группа (содержание кальция  $> 2,20$  ммоль/л и здоровый скот без клинических симптомов), опытная группа 1 - послеродовая гипокальциемия (содержание кальция  $< 2,00$  ммоль/л с выраженными клиническими признаками), опытная группа 2 - субклиническая гипокальциемия (содержание кальция  $< 2,00$  ммоль/л с отсутствием явных клинических симптомов). Группы животных, задействованных в эксперименте, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Состояние подопытных коров,  $M \pm m$ 

Группы животных	Количество голов	Возраст животных	Содержание кальция в крови (ммоль/л)
Контрольная	10	3 года 2 месяца	2,2±0,11**
Опытная 1	10	3 года 2 месяца	1,5±1,16**
Опытная 2	10	3 года 2 месяца	2,0±0,10**

( $p > 0,05$ ) - \*, ( $p < 0,05$ ) - \*\*.

Перед проведением биохимических исследований сыворотки крови проводили оценку состава рациона, принятого на животноводческой ферме в провинции

Хэйлунцзян, с учетом содержания микроэлементов (таблица 2).

Таблица 2

## Состав рациона (в пересчете на сухое вещество), %

Состав рациона	Группы животных		
	Контрольная	Опытная группа 1	Опытная группа 2
Кукуруза	41,50	41,33	41,76
Пшеничные отруби	2,80	-	-
Рапсовый шрот	3,85	3,25	-
Барда кормовая	5,45	5,45	5,60
Соль поваренная	1,65	1,65	1,65
Пищевая сода	1,75	1,75	1,75
Премикс <sup>1</sup>	4,00	4,00	4,00
Кукурузный силос	39,00	40,78	43,24
<b>Питательные вещества</b>			
Чистая энергия	6,60	6,80	7,00
Сырой протеин	12,50	12,50	12,50
Кальций	0,6	0,6	0,6
Фосфор	0,4	0,4	0,3
NDF	32,46	31,30	30,85
ADF	20,83	20,46	20,32

1 кг премикса предоставляется на кг рациона: витамин А – 4300 МЕ, витамин Д – 3650 МЕ, витамин Е – 25 МЕ, медь – 8 мг, железо – 70 мг, марганец – 40 мг,

цинк – 60 мг, йод – 0,5 мг, селен – 0,1 мг, кобальт – 0,4 мг. Чистая энергия – это расчетное значение, другие – это измеренные значения.

Для проведения эксперимента у 30 молочных коров до приема корма из хвостовой вены брали 10 мл крови в день отела. Кровь стабилизировали 150 ЕД гепарина, центрифугировали со скоростью 3500 об/мин в течение 5 мин для отделения плазмы.

В качестве реактивов применяли гепариновый реагент-антикоагулянт Plasma Calcium Kit (651564-01, Германия Roche);

набор плазменных гормонов паращитовидных желез (166443-01, Германия Roche); набор плазменного витамина D (167728-01, German Roche S).

Обработку статистических данных проводили с помощью программы SPSS, с расчетом одностороннего дисперсионного и множественного корреляционного анализов.

**Таблица 3**

**Биохимический анализ плазмы крови молочного скота, M±m**

Показатели	Контрольная, n=10	Опытная 1, n=10	Опытная 2, n=10
Паратиреоидный гормон (пг/мл)	33,6±33,52**	78,6±32,55**	47,8±34,61*
Витамин D (нг /мл)	25,8±20,71**	24,4±15,11**	18,2±17,30**
Фосфор (ммоль/л)	1,7±0,50**	1,7±0,68**	1,8±0,37**
Магний (ммоль/л)	0,8±0,08**	1,7±0,10**	1,7±0,13**
Калий (ммоль/л)	4,2±0,32**	4,0±0,30**	4,2±0,31**
Натрий (ммоль/л)	148,2±5,22*	133,6±12,29*	143,2±2,20*
Хлор (ммоль/л)	102,7±5,38*	92,2±7,61*	99,9±2,00*
Щелочная фосфатаза (МЕ/л)	90,0±25,16**	69,0±30,15**	77,3±27,22**

(p<0,05) - \*, (p>0,05) - \*\*

Анализируя биохимический анализ плазмы крови молочного скота, можно отметить, что между контрольной и опытной группой 1 наблюдаются значительные различия показателей : паратиреоидный гормон, натрий и хлор (p<0,05), тогда как между контрольной и опытной группой 2 значимой разницы не наблюдалось (p>0,05). Содержание витамина D, фосфора, магния, калия и щелочной фосфатазы было практически аналогичным во всех трех исследуемых группах (p>0,05).

Следующим этапом проведения эксперимента было проведение корреляционного анализа биохимических показателей плазмы крови подопытных животных. Результаты всех протестированных образцов крови дойных коров были проанализированы с помощью программного обеспечения SPSS Multiple Corelation ANOVA методом анализа множественного коррелирования, данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

## Результаты корреляционного анализа крови экспериментальных животных

Показатели	Кальций	Щелочная фосфатаза	Хлор	Натрий
Паратиреоидный гормон	-0.563	-0.467	-0.490	-0.460
Кальций	-	0.575	0.790	0.775
Щелочная фосфатаза	-	-	0.498	0.528
Калий	-	-	0.478	0.501
Хлор	-	-	-	0.967

Результаты таблицы 4 показали, что концентрация кальция в плазме крови значимо положительно коррелировала с натрием, хлором и щелочной фосфатазой ( $p < 0,01$ ) и значимо отрицательно коррелировала с паратиреоидным гормоном ( $p < 0,01$ ). Концентрация паратиреоидного гормона в плазме отрицательно коррелировала с натрием, хлором и щелочной фосфатазой, при этом корреляция была значимой ( $p < 0,05$ ). Концентрация К в плазме крови положительно коррелирует с натрием и хлором, среди которых корреляция с натрием чрезвычайно значима ( $p < 0,01$ ), а корреляция с хлором значима ( $p < 0,05$ ). Концентрация натрия в плазме положительно коррелирует с хлором и щелочной фосфатазой, что указывает на чрезвычайно значимую корреляцию ( $p < 0,01$ ). Концентрация хлора в плазме положительно коррелирует с щелочной фосфатазой, что также является значимой корреляцией ( $p < 0,01$ ).

Известно, что большое потребление кальция во время родов и секреция молока после родов вызывают большую потерю кальция в организме. Кроме того, стресс при доставке препятствует регуляции мозга и функции паращитовидных желез.

Механизм регуляции метаболизма кальция в организме взрослого организма не функционирует полностью, что делает дойных коров склонными к гипокальциемии, а затем приводит к развитию гипокальциемии [3].

В нашем эксперименте концентрация кальция в плазме крови молочного скота отрицательно коррелирует с концентрацией паратиреоидного гормона в плазме крови, то есть, когда концентрация кальция в крови молочных коров снижается, повышение концентрации паратиреоидного гормона указывает на то, что организм обладает эффектом адаптивной адаптации. Концентрация витамина D в плазме крови у молочного скота, вызванная кальцием, не увеличилась у коров с гипокальциемией, что указывает на то, что витамин D не оказывает своего физиологического воздействия. Однако конкретные причины требуют дальнейшего изучения. Когда концентрация кальция в крови у молочного скота снижается, кальций стимулирует рецепторы кальция на паращитовидных железах и увеличивает секрецию паратиреоидного гормона. В свою очередь паратиреоидный гормон стимулирует синтез 1,25-дигидроксивитамина D в печени и почках, тем самым увеличивая всасывание кальция в кишечнике, увеличивая высвобождение кальция из костей и всасывание кальция почечными канальцами, повышая концентрацию кальция в крови.

Исследования показали, что баланс анионов и катионов ( $Na + K$ ) - ( $Cl + S$ ) в корме в перинатальный период более важен, чем кальций в рационе при определении возникновения гипокальциемии. Высокий уровень хлора и натрия, низкий уровень натрия и калия в рационе могут уменьшить возникновение гипокальци-

емии [4]. В нашем эксперименте только натрий и хлор значительно различались между контрольной и опытными группами, и они положительно коррелировали с концентрацией кальция в плазме крови. Результаты показали, что при возникновении гипокальциемии у подопытных молочных коров содержание натрия, хлора и калия не повышались, а, наоборот, понижались, показывая изменения, несовместимые с литературными данными, что, в свою очередь, заслуживает дальнейшего исследования.

Магний и фосфор играют важную роль в регуляции баланса кальция. Mg – это вещество, которое определяет 1,25-дигидроксивитамин D в паратиреоидном гормоне и полимере. При низком уровне Mg почки и кости менее чувствительны к паратиреоидному гормону [5]. Повышение концентрации фосфора также может вызвать гипокальциемию. Хотя концентрация фосфора не связана напрямую с концентрацией кальция, все они связаны с PO<sub>4</sub>, а PO напрямую регулируется 1,25-дигидроксивитамин D и косвенно регулируется отрицательной обратной связью паратиреоидного гормона/кальция. В нашем эксперименте разница в концентрации магния и фосфора существенно не различалась между тремя группами, и не было никакой корреляции с концентрацией кальция.

Щелочная фосфатаза – это класс ферментов, синтезируемых и секретируемых остеобластами, которые в основном происходят из костей и печени. Среди них щелочная фосфатаза, полученная из

костей, составляет от 40% до 75%. Следовательно, уровень щелочной фосфатазы в сыворотке крови представляет собой уровень щелочной фосфатазы в костях. Активность щелочной фосфатазы напрямую отражает активность остеобластов и статус образования кости [6].

В этом эксперименте, хотя содержание щелочной фосфатазы существенно не различалась между тремя группами, она значительно положительно коррелировала с концентрацией кальция в крови и значимо отрицательно коррелировала с паратиреоидным гормоном. Это указывает на то, что щелочная фосфатаза играет роль в формировании костей и регуляции кальция в крови.

#### Результаты исследования.

Таким образом, результаты проведенного опыта подтверждают, что молочный скот предрасположен к постнатальной и субклинической гипокальциемии в день отела. Мы считаем, что развитие гипокальциемии связано с недостаточностью кальция и фосфора в рационах сельскохозяйственных животных, с недостаточной функцией механизма регуляции метаболизма кальция в организме и его неспособностью удовлетворить потребность организма в кальции, а также с недостаточной квалификацией специалистов при составлении и анализе рационов в мелких хозяйствах. В целом, причины, по которым механизм регуляции кальция не функционирует в полной мере, должны быть, на наш взгляд, исследованы в дальнейшем.

#### Список литературы

1. Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. J., et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows [J]. J Am Vet Med Assoc., 1983, 183(5): 559–561.
2. Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., McCluskey, B. J., et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds [J]. Vet J, 2011, 188 (1): 122–124.
3. Liamis, G., Milinis, H. J., Elisaf., M. A review of drug-induced hypocalcemia [J]. J Bone Miner Metab., 2009, 27(6): 635–642.
4. Carmeliet, G., van Cromphaut, S., Daei, E. et al. Disorders of calcium homeostasis [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 2003, 17 (4): 529–546.

5. De Garis, P. J., Lean, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles [J]. *Vet J*, 2008, 176(1): 58–69.
6. Joyce, P. W., Sanchez, W. K., Goff, J. P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa [J]. *J Dairy Sci.*, 1997, 80(11): 2866–2875.

### References

1. Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. J., et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows [J]. *J Am Vet Med Assoc.*, 1983, 183(5): 559–561.
2. Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., McCluskey, B. J., et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds [J]. *Vet J*, 2011, 188 (1): 122–124.
3. Liamis, G., Milinis, H. J., Elisaf., M. A review of drug-induced hypocalcemia [J]. *J Bone Miner Metab.*, 2009, 27(6): 635–642.
4. Carmeliet, G., van Cromphaut, S., Daei, E., et al. Disorders of calcium homeostasis [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 2003, 17 (4): 529–546.
5. De Garis, P. J., Lean, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles [J]. *Vet J*, 2008, 176 (1): 58–69.
6. Joyce, P. W., Sanchez, W. K., Goff, J. P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa [J]. *J Dairy Sci.*, 1997, 80(11): 2866–2875.

© Максимов Н. И., Лашин А. П., 2021

### *Информация об авторах*

**Максимов Никита Игоревич**, д-р с.-х. наук., старший преподаватель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и микробиологии факультета ветеринарной медицины Дальневосточного ГАУ; 675005, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86, e-mail: ums@dalgau.ru.

**Лашин Антон Павлович**, канд. биол. наук., доцент кафедры патологии, морфологии и физиологии факультета ветеринарной медицины Дальневосточного ГАУ; 675005, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86.

### *Information about authors*

**Nikita I. Maksimov**, Doctor of Agricultural Sciences, Senior Lecturer of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, Epizootology and Microbiology of the Faculty of Veterinary Medicine; Far Eastern State Agrarian University; 86, Politekhnicheskaya, Blagoveshchensk, Amur region, Russia; 675005.

**Anton P. Lashin**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pathology, Morphology and Physiology of the Faculty of Veterinary Medicine; Far Eastern State Agrarian University; 86, Politekhnicheskaya, Blagoveshchensk, Amur region, Russia; 675005.