

**SADRŽAJ LIPIDA I GLIKOGENA U JETRI KOD VISOKO-
PRODUKTIVNIH MLEČNIH KRAVA U PERIPARTALNOM
PERIODU***

**LIPID AND GLYCOGEN CONTENTS IN LIVER OF HIGH-YIELD DAIRY
COWS IN PERIPARTAL PERIOD**

R. Đoković, H. Šamanc**

Od krava holštajn rase u visokom graviditetu i ranoj laktaciji biopsijom su uzimani uzorci tkiva jetre za patološko-histološka ispitivanja. Sadržaj masti u hepatocitima je određivan stereometrijskom metodom izračunavanjem volumenske gustine, a glikogena semikvantitativno mikroskopskim pregledom isečaka bojenih metodom po Bestu.

Patološko-histološkim ispitivanjem uzoraka tkiva jetre kod zdravih, steonih i tek oteljenih krava nisu utvrđene masna infiltracija i degeneracija ćelija jetre a hepatociti su u potpunosti ili delimično ispunjeni glikogenom.

Kod krava obolelih od ketoze patološko-histološkim ispitivanjem uzoraka tkiva jetre su utvrđena masna infiltracija i degeneracija hepatocita, različitog intenziteta. Samo kod jedne krave obolele od ketoze utvrđen je blagi stepen masne infiltracije, kod šest krava srednji stepen masne infiltracije i degeneracije, a kod tri krave težak oblik zamašćenja ćelija jetre.

Količina glikogena u hepatocitima je u negativnoj korelaciji sa stepenom masne infiltracije i degeneracije. Pri teškom stanju zamašćenja u citoplazmi hepatocita u potpunosti nedostaje glikogen.

Ključne reči: krava, peripartalni period, jetra, lipidi, glikogen

Uvod / Introduction

U ranoj laktaciji potrebe mlečne žlezde za glikozom kod mlečnih krava uvek su veće nego što ima raspoložive glikoze. Ovaj disbalans uzrokuje negativan

* Rad primljen za štampu 24. 12. 2003. godine

** Dr Radojica Đoković, docent, Agronomski fakultet, Čačak; dr Horea Šamanc, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

energetski i ugljeno-hidratni bilans, smanjuje proces glikoneogeneze i rezerve glikogena u jetri. Telesne rezerve masti koje mogu da budu vrlo velike na početku laktacije mobilisu se u mnogo većem stepenu nego što su stvarne potrebe organizma uslovljene negativnim bilansom energije, što omogućava povećano nakupljanje masti u hepatocitima i intenziviranje ketogeneze u jetri [8, 1]. Kod mlečnih krava prisutna je hipoglikemija, a usled nakupljanja kapljica masti u hepatocitima i kao i toga da mlečna žlezda ima povećano korišćenje glikoze nastaje značajno opadanje, pa i nestanak glikogena u hepatocitima. Veenhuizen i sar [10] utvrdili su da količina glikogena u jetri značajno opada kod krava sa masnom jetrom u prvoj nedelji laktacije u odnosu na zdrave životinje, odnosno da količina glikogena opada do minimalnih vrednosti na dve nedelje pre pojavljivanja ketoze kod životinja. To potvrđuje i značajno negativna korelacija između sadržaja masti i glikogena u hepatocitima [10, 5]. Naime, usled povećanog nakupljanja masti u jetri i iscrpljivanja rezervi glikogena u hepatocitima kod krava u peripartalnom periodu, proces masne infiltracije i degeneracije hepatocita kod pojedinih krava posle teljenja uzrokuje intenziviranje procesa ketogeneze i nakupljane masti u jetri u značajnom stepenu.

Materijal i metode rada / *Materials and methods*

Za ispitivanje su odabrane visokosteone (n=20) i tek oteljene krave (n=20) rase holštajn. Odabrane visoko steone krave su podeljene u dve grupe i to na grupu krava (n=13) kod kojih su se uzorci tkiva jetre uzimali u periodu od 10. do 4. dana pre teljenja i grupu krava (n=7) kod kojih su se uzorci tkiva jetre uzimali u periodu od 4. do 1. dana pre teljenja. Odabrane tek oteljene krave takođe su podeljene u dve grupe: grupu krava (n=10) koje su bile klinički zdrave i grupu krava (n=10) koje su pokazivale kliničke znake ketoze.

Uzorci jetre su se uzimali od svake krave metodom perkutane biopsije jetre, Gaalovom modifikovanom metodom po Hajovcava-Kacifirexu (1967). Isečci dobijeni biopsijom jetre fiksirani su u 10% neutralnom formalinu i apsolutnom alkoholu. Parafinski isečci bojeni su HE-metodom, zatim metodom za glikogen po Bestu i trihromnom metodom po Masson-Goldneru. Kriotomski isečci tkiva fiksirani su u formalinu i bojeni su Sudan -3 metodom za masti.

Sadržaj masti u hepatocitima određivan je stereometrijski, izračunavanjem volumenske gustine. Sadržaj glikogena u hepatocitima se ocenjivao semikvantitativno. U slučajevima kada je hepatocit u potpunosti ispunjen zrcima glikogena, takav nalaz je označen sa +, +, +. Smanjenje glikogena u hepatocitima za 1/3 do 1/2 označeno je sa +, +. Smanjenje glikogena u hepatocitima manje od 1/2 od optimalne količine označeno je sa +. Nalaz glikogena u tragovima ili njegov potpun nedostatak u hepatocitima označen je sa -.

Rezultati ispitivanja i diskusija / *Results and discussion*

Rezultati patohistološkog ispitivanja isečaka jetre ukazuju da kod zdravih steonih i tek oteljenih krava nisu zapažene masna infiltracija i degeneracija hepatocita (<10% masti). Kod krava obolelih od ketoze utvrđeno je zamašćenje jetre različitog stepena.

Rezultati ispitivanja sadržaja masti u jetri krava obolelih od ketoze prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj masti u jetri krava obolelih od ketoze ($\mu\text{m}^3/100 \mu\text{m}^3$, %) /
Table 1. Lipid content in liver of ketotic cows ($\mu\text{m}^3/100 \text{mm}^3$, %)

Redni broj / Cow number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}
% masti u jetri / % lipids in liver	25.44	23.66	23.98	61.15	44.82	42.56	16.04	31.86	32.98	26.62	32.91

Na osnovu sadržaja masti u jetri koji je utvrđen kod krava obolelih od ketoze sve ispitivane krave mogu da se svrstaju prema predlogu Gaala [2] u tri grupe:

1. grupa – krave sa blagim stepenom zamašćenja jetre (od 0 do 20 % masti),
2. grupa – krave sa srednjim stepenom zamašćenja jetre (od 20 do 40 % masti),
3. grupa – krave sa teškim stepenom zamašćenja jetre (više od 40 % masti)

Iz dobijenih rezultata može da se vidi da je samo kod jedne krave obolele od ketoze utvrđen blagi stepen masne infiltracije ćelija jetre ili 10 posto ispitivanih krava, zatim kod 6 krava srednji stepen masne infiltracije i degeneracije ćelija jetre ili 60 posto ispitivanih krava, a kod tri krave obolele od ketoze (30% krava) utvrđen je težak stepen zamašćenja ćelija jetre.

Schafer i sar [6] u svom radu su utvrdili nešto niže vrednosti, odnosno kod 65,4 posto ketoznih krava utvrđen je blagi, zatim kod 25,3 posto srednji stepen, a samo kod 9,3 posto težak stepen zamašćenja jetre. Slične rezultate su ustanovili Gerloff i sar [3], koji su kod 63,5 posto krava utvrdili blagi stepen, a kod 36,5 posto srednji i teški stepen masne jetre.

Količina glikogena u jetri procenjivala se semikvantativno mikroskopskim pregledom isečaka jetre bojenih metodom po Bestu.

Rezultati ispitivanja količine glikogena u jetri prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Sadržaj glikogena u jetri kod zdravih krava u visokom graviditetu i puerperijumu i krava obolelih od ketoze
 Table 2. Glycogen content in liver of healthy cows in advanced gravidity and peripartal period and ketotic cow

Redni broj krave / Cow number		n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Visoki graviditet / Advanced gravidity	10-5 dana a. p. * / 10-15 days a.p. *	13	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	4-1 dana a. p. * / 4-1 days a. p. *	7	+++	+++	++	++	++	++	++						
Puerperijum / Peripartal period	zdrave krave / healthy cows	10	++	+	+	+	+	+	++	+	+	++			
	ketozne krave / ketotic cows	10	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-		

*a. p. = ante partus / a.p. ante partus

Kod životinja koje su bile zdrave glikogen je u potpunosti ispunjavao hepatocite i jasno se uočava u vidu zrnaca – granula crvene boje, ravnomerno raspoređenih u citoplazmi (+, +, +).

Ovakav nalaz je utvrđen kod 10 zdravih krava u periodu od 10 do 5 dana pre teljenja ili kod 77 posto ispitivanih krava, dok su kod tri zdrave životinje (23% krava) utvrđene nešto manje količine glikogena u hepatocitima (+, +).

Kod grupe krava neposredno pre teljenja (4-1. dana a. p.), utvrđena je kod 43 posto životinja (tri krave) potpuna ispunjenost hepatocita glikogenom (+, +, +), dok je kod 57 posto životinja (četiri krave) utvrđena smanjena količina granula glikogena u hepatocitima za 1/3 do 1/2 (+, +). Kod zdravih krava posle teljenja kod 40 posto ispitivanih krava (četiri krave), utvrđene su smanjene količine glikogena u hepatocitima (+, +), a kod 60 posto krava (šest krava) utvrđeno je smanjivanje glikogena u hepatocitima ispod optimalnog sadržaja (+).

Kod krava koje su posle teljenja obolele od ketoze, kod 80 posto ispitivanih životinja (osam krava) utvrđen je potpun nedostatak glikogena u hepatocitima ili nalaz glikogena u tragovima (-), dok je samo kod dve ispitivane životinje (20% krava) utvrđeno postojanje glikogena u malim količinama (+).

Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora koji su ukazali da su rezerve glikogena u jetri male kod krava sa blagim i srednjim stepenom zamašćenja jetre, a kod krava sa teškim stepenom masne jetre rezerve glikogena su u potpunosti ispražnjene [4, 5, 7].

Na osnovu naših rezultata i rezultata drugih autora može da se konstatuje da kod mlečnih krava obolelih od ketoze na početku laktacije, nastaje značajno smanjivanje, pa i nestajanje glikogena u hepatocitima, a da se u isto vreme značajno povećavaju broj i količina masnih kapljica [6, 1].

Zaključak / Conclusion

1. Patološko-histološkim ispitivanjem uzoraka tkiva jetre kod zdravih steonih i tek oteljenih krava nisu utvrđene masna infiltracija i degeneracija ćelija jetre, a hepatociti su u potpunosti ili delimično ispunjeni glikogenom.

2. Kod krava obolelih od ketoze patološko-histološkim ispitivanjima uzoraka tkiva jetre utvrđene su masna infiltracija i degeneracija hepatocita različitog stepena.

3. Količina glikogena u hepatocitima je u negativnoj korelaciji sa stepenom masne infiltracije i degeneracije. Pri teškom stepenu zamašćenja jetre u citoplazmi hepatocita u potpunosti nedostaje glikogen.

Literatura / References

1. Forenbacher S.: Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja, svezak 2, jetra. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb, 1993. - 2. Gaal T.: Sindrom masne jetre u mlečnih krava. Vet. glasnik, 47, 4-5, 311-317, 1993. - 3. Gerloff B., Herdt T., Emery R.: Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cat-

tle. JAVMA 188, 8, 845-949, 1986. - 4. Reid I. M.: Incidence and severity of fatty liver in dairy cows. Veterinary Record 107, 281-288. - 5. Johannsen U., Solveig Manger., Staufenbiel R., Klukas H.: Untersuchungen zur morphologie und funktion der leber von hochleistungskuhern 2, Wochen postpartum. Dtsch. Tierarzti. Wschr. 100, 168-208, 1993. - 6. Schafer M., Furll M., Johansen U., Ehenrant W., Decret W.: Verhalten klim sch chemischer kennwerte des blutes von milchkuhen in abhangingkeit von fettgehalt dek leber. Mh. Vet. Med. 46, 666-669, 1991. - 7. Staufenbiel R., Meier R., Hachbart K. H., Staufenbiel Beate: Untersuchungen zum optimacem fettansaltz bei der Milchkuh. Mh. Vet. Med. 47, 125-136, 1992. - 8. Staufenbiel R., Staufenbiel Beate., Rossow Weidemann F.: Energie-und fettstoff wechsel des Rindes. Vergleich der Aussage der Rucken fett dicke mit anderen Vuntersuchungszoben. Mh. Vet. Med. 48, 167-174, 1993. - 9. Vazquez-Anon M., Bertics S., Luck M., Grummer R.: Peripartium liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. J. Dairy Sci. 77, 1521-1528, 1994. - 10. Veenhuizen J. J., Drackley J. K., Richard M. J., Sanderson T. P., Miller L. D., Joung J. W.: Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of Experimental Fatty liver and ketosis in cows. J. Dairy Sci. 74, 4238-4253, 1991.

ENGLISH

LIPID AND GLYCOGEN CONTENTS IN LIVER OF HIGH-YIELD DAIRY COWS IN PERIPARTAL PERIOD

R. Đokovic, H. Šamanc

Liver tissue samples were taken by biopsy from Holstein cows in advanced stages of gravidity and in early lactation for pathological-histological examinations. Lipid content in hepatocytes was determined using the stereometric method by calculating volume density, and of glycogen using semi-quantitative microscopic examination of sections stained according to the method of Best.

Pathological-histological examinations of liver tissue samples in healthy animals, gravid or peripartal cows did not reveal lipid infiltration or cell degeneration, and hepatocytes were completely or partly filled with glycogen.

In ketotic cows, pathological-histological examinations of liver tissue samples showed lipid infiltration and hepatocyte degeneration of different intensity. In only one ketotic cow, we determined a slight degree of lipid infiltration, there was a medium degree of lipid infiltration and degeneration in six cows, and three cows were found to have a grave form of fatty liver.

The quantity of glycogen in hepatocytes is in negative correlation with the degree of lipid infiltration and degeneration. In severe cases of fatty liver, glycogen is completely absent from hepatocyte cytoplasm.

Key words: Cow, peripartal period, liver, lipids, glycogen.

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ И ГЛИКОГЕНА В ПЕЧЕНИ ВЫСОКО-ПРОДУКТИВНЫХ МОЛОЧНЫХ КОРОВ В ПЕРИПАРТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Р. Джокович, Х. Шаманц

Из коров холштайн породы в высокой беременности и ранней лактации биопсией браны образчики тканей печени для патолого-гистологических испытаний. Содержание жира в гепатоцитах определяли стереометрическим методом высчитыванием объёмной густоты, а гликогена семикратно микроскопическим осмотром высечков, крашенных по Бесту.

Патолого-гистологическим испытанием образчиков тканей у здоровых, стельных и лишь отеленных коров не утверждены полностью или частично исполнены гликогеном.

У коров, заболевших кетозом патолого-гистологическим испытанием образчиков тканей печени утверждена жирная инфильтрация и дегенерация гепатоцитов, различной интенсивности. Только у одной коровы, заболевшей кетозом утверждена мягкая степень жирной инфильтрации, у шести коров средняя степень жирной инфильтрации и дегенерации, а у трёх коров тяжёлая форма зажирения клеток печени.

Количество гликогена в гепатоцитах в отрицательной корреляции со степенью жирной инфильтрации и дегенерации. При тяжёлом состоянии зажирения в цитоплазме гепатоцитов полностью недостаёт гликоген.

Ключевые слова: корова, перипартальный период, печень, липиды, гликоген