

LIVER FUNCTION TESTS IN DAIRY COWS WITH FATTY LIVER INDUCED BY PRIMARY KETOSIS

ABSTRACT

The aim of the present study is to shed light on the evaluation of biochemical parameters of liver function in case of affection by fatty liver induced by primary ketosis, graduation of this disease depending on biochemical parameters into three degrees (severe, moderate and mild) treatment of some cows in different degrees of the disease was carried out depending on the changes of the histological liver investigation and detection of fat deposition in hepatic cells. The measured biochemical parameters were (glucose, urea, total protein, albumin, globulin, bilirubin, AST, GGT and CPK). The result revealed a significant increase in estimated enzymes (AST, GGT and CK) there were also in both severe and moderate groups when compared with the control cows, Also a significant decrease in albumin concentration in case of severe and moderate groups when compared with the control cows in addition result revealed a significant increase of BHBA in blood serum of diseased cows compared with control cows. In conclusion it was obvious that liver function tests (AST, GGT, CK, albumin and BHBA) have an important role in diagnosis of fatty liver in case of dairy cows as they showed a clear difference between affection levels and healthy cows (control).

Received at: 6/5/2012

Accepted: 30/6/2012

Key words: Liver function tests, Fatty liver, Primary ketosis

اختبارات وظائف الكبد في الأبقار الحلوب المتأثرة بالتشمع الكبدي الناتج عن الكيتوزيس الأولي

عماد عبدالعزيز خلف ، نزار عدي

الغرض الأساسي من هذه الدراسة هو إلقاء الضوء على التغيرات التي تحدث في المؤشرات البيوكيميائية لوظائف الكبد عند الإصابة بالتشمع الكبدي الناتج عن الكيتوزيس الأولي، وإجراء عملية فرز للمرض بالاعتماد على هذه الاختبارات إلى ثلاث مستويات (خفيف - معتدل - شديد) مع إجراء معالجة على بعض أفراد تلك المستويات ، وتم التأكد وبرهان المستويين المتوسط والشديد بإجراء فحص نسيجي للكبد وملاحظة تجمعات الشحوم في الخلايا الكبدية والتي تعطي دليل قاطع على الإصابة ، وتم قياس بعض المؤشرات البيوكيميائية مثل (الغلوكوز - البروتين الكلي - الألبومين - غلوبولين (البيليرولين - AST- GGT- CK) حيث تبين بعد تحليل النتائج زيادة معنوية هامة ($p < 0.001$) في نشاط الأنزيمات AST - CK - GGT بالمقارنة مع العينات المأخوذة من الأبقار الشاهد ، كما لوحظ أيضا اختلافات في تركيز الألبومين عند كلا النوعين المتوسط والشديد بالمقارنة مع الأبقار الضابط ، بالإضافة إلى ارتفاع ملحوظ في مؤشر BHBA في مصل الدم بالمقارنة مع الأبقار الضابط ، وبالنتيجة وجد بان مؤشرات اختبارات وظائف الكبد وأهمها AST - CK - GGT - الألبومين و BHBA لها دور هام في المساعدة على تشخيص التشمع الكبدي عند الأبقار الحلوب لما لها من اختلافات واضحة بين مستويات الإصابة وبين الأبقار السليمة (الضابطة)

INTRODUCTION

المقدمة

التشمع الكبدي عبارة عن اضطراب استقلابي يتكرر حدوثها عند الأبقار الحلوب عالية الإنتاج Eid and Roberts (1983) ، وقيل عن المرض بأنه النوع الثاني للكيتوزيس المشخص عند الماشية بنوعيه السريري وتحت السريري (2001) Oetzel ، أما من الناحية الاقتصادية فقد وجد بان التشمع الكبدي مرض معقد مصحوب بأمراض أخرى مثل انزياح الألفحة والكيتوزيس واحتباس المشيمة ومن أهم ما يجمع هذه الأمراض هو الرد السيئ للمعالجة ، والأبقار المتأثرة بالمرض قد تموت أو تشفى بشكل بطيء بحسب (1999) Byers ، بينما نسب كل من (2005) Burim Ametaj هذه الحالة باسم الأمراض الاقتصادية كونه يتأثر ببقية الأمراض الاستقلابية والمعقدة المتعددة وكما انه يقود إلى انخفاض إنتاج الحليب ونسبة نفوق كبيرة بين القطيع ، جميع العوامل المسببة للتشمع الكبدي أو متلازمة البقرة السمينة والكيتوزيس الأولي مشتركة فيما بينها ، وتم التعريف بالمرضى بشكل مترابط من قبل (1993) Grummer ، لكن ثبت بشكل كبير بان التشمع الكبدي يسبق مرض الكيتوزيس (1993) Grummer, (1991); Veenhuizen et al. التشمع الكبدي يحدث بشكل رئيسي في الأسابيع الأربعة الأولى بعد الولادة بعد تراكم الغليسريدات الثلاثية في الكبد ، حيث وضح (1993) Grummer, بان التشمع الكبدي يحصل عندما تكون الكمية الممتصة من الأحماض الدهنية والشحوم الثلاثية يتجاوز قدرة الكبد على أكسدة الأحماض الدهنية وإفراز TG على شكل بروتين منخفض الكثافة جدا VLDL ، حيث أن التشمع الكبدي يصبح ظاهرا بعد الولادة مباشرة عندما تكون معرضة لميزان سلبي للطاقة

Rukkamsuk *et al.* (1999) و West, (1997) وهذا كله يحدث بسبب المطلب المفاجئ للغلوكوز من قبل الأبقار الطوب في فترة الرضاعة المبكرة، وتبقى الأبقار بعد الولادة تحت تأثير الميزان السلبى للطاقة لمدة 10-12 أسبوعا ولكي تقوم بإجراء توازن للطاقة تحب احتياطات الجسم من الدهون والتي تؤدي إلى خسارة الوزن وبالتالي تطور متلازمة التشحم الكبدي (Reid and Roberts, 1983)، يتميز المرض من الناحية الإكلينيكية بأعراض تتمثل بالكآبة وفقدان شهية يصل في الحالات المتقدمة إلى انعدامها تماما، كيتونيمية، مع انخفاض حاد في إنتاج الحليب وبعض الإشارات العصبية، وشدة هذه الأعراض تكون متدرجة مع مستويات المرض (الخفيف - معتدل - شديد) Ametaj *et al.* (2002)

الأبقار المتأثرة بالمرض يكون متوفر فيها ظهور احد الأمراض الاستقلابية أو أكثر ومن أهمها (كيتوزس - التهاب الصرع - انزياح الانفحة - التهاب رحم)

تشخيص التشحم للكبد يعتمد حاليا بشكل كبير على المؤشرات الكيمائية بالإضافة إلى أخذ خزعات كبدية وفحصها نسيجيا. West, (1997) ومن أهم المؤشرات التي يعتمد عليها في الدراسة (غلوكوز - بيلورويين - أحماض الصفراوية - اليوريا - أنزيمات الكبد GGT - CPK - AST، وفي دراسة بحثنا هذه نقدم نظرة تقييمية لاختبارات وظائف الكبد عند الأبقار المتأثرة بالتشحم الكبدي.

MATERIALS and METHODS

مواد وطرق البحث

حيوانات التجربة:

أجريت الدراسة على 35 بقرة طوب نوع هولشتاين - فريزيان تم انتقاها من موقعين. الأول: محطة لتربية الأبقار حيث تم اختيار 10 أبقار لتأخذ دور المجموعة الضابطة في البحث، أما بقية الأبقار تم انتقاها من تاجر لتربية الأبقار المريضة وعلاجها، حيث توفر في هذه المجموعة المريضة الدلائل التي تشكل في وجود تشحم كبدي مرتبط بالكيتوزس الأولي وبعد الفحص النسيجي للخزعات الكبدية المأخوذة من الأبقار المريضة صنفت إلى ثلاث مستويات وهي:

- 1- المستوى الخفيف: يكون نسبة التشحم في الكبد اقل من 10 %
- 2- المستوى المعتدل: يكون نسبة التشحم في الكبد 10 إلى 20 %
- 3- المستوى الشديد: يكون نسبة التشحم في الكبد أكثر من 10 %

عينات الدم Blood Sampl :

تم جمع العينات صباحا على الريق من الوريد الوداجي وأحيانا من الوريد اللبني باستخدام أنابيب مفرغة من الهواء سعة (10 مل) وبكمية 5 مل لكل عينة ومن ثم وضعها في حاوية خاصة يتم تغليفها مباشرة باستخدام مقلاة مخبرية بسرعة 3000 لمدة 10 دقائق لكل عينة للحصول على مصل الدم ووضعها في أنابيب خاصة تسمى (إيندروف) مخصصة للتحاليل البيوكيميائية، أجريت الاختبارات البيوكيميائية في مخبر الفيزيولوجيا في كلية الطب البيطري - جامعة البحث باستخدام جهاز التحليل الطيفي (spectrophotometer) وقد تم برمجته على الكتيبات الخاصة بالبحث بمساعدة الفنيين القائمين في المخبر، ومن أهم المواد التي تم تحليلها في هذه العينات

- 1- مستقلبات الطاقة : الغلوكوز - الزبدلوات BHBA
- 2- اختبارات وظائف الكبد : البروتين الكلي - البيلورويين الكلي - الألبومين - الجلوبيولين - أنزيمات الكبد (AST - CK - GGT) - اليوريا

الخزعة الكبدية Liver Biopsy :

هذا النوع من التشخيص تم بحسب طريقة (smith 1990) وذلك بعد تهدئة الحيوانات بأحد المسكنات العامة وتحديد مكان العملية في الفراغ بين الضلعي العاشر والحادي عشر في جهة القفص الصدري اليسرى وحلاقة المكان وتطهيره وتخديره موضعيا، وإجراء شق جراحي من أجل إزالة الجلد وسهولة إدخال الميزل الخاص بالخزعة واختراق طبقة العضلات ووصولها إلى النسيج الكبد ثم إجراء حركة دورانية وإخراج الميزل الذي سيسحب معه قطعا من نسيج الكبد، بعدها يتم حفظها في مادة الفورمالين 12%، وقد تم إجراء الفحص النسيجي وفق الخطوات المعتمدة في مراجع التشريح المرضي في مخبر التشريح المرضي بكلية الطب البيطري بحماة، وبناءا على نتائج الفحص تحت المجهر صنفت إلى ثلاث أصناف بالاعتماد درجات التشحم في الخلايا الكبدية وهي الخفيف والمعتدل والشديد.

الدراسة الإحصائية Statistical Analysis :

تم الاعتماد على برنامج EXCEL من أجل إدخال أرقام النتائج البيوكيميائية لمكونات الدم، ثم نقلت إلى برنامج إحصائي من أنظمة التحليل الأمريكية (Statistix) حيث تمت معالجتها بإجراء دراسة إحصائية وصنوية بحساب المتوسط الحسابي والمدى والانحراف المعياري والفرق، ودراسة إحصائية تحليلية وذلك من أجل إيجاد الفروق ومعنوياتها باستخدام طريقة (One Way Anova)

RESULTS

النتائج

نتائج التحليل النسيجي لعينات الكبد المأخوذة من الأبقار المصابة بينت أن هناك 10 أبقار مصابة بالنوع الخفيف للتشحم الكبدي و 8 أبقار مصابة بالنوع المعتدل و 5 أبقار مصابة بالنوع الشديد، بينما نتائج التحاليل البيوكيميائية لعينات الدم كشفت أن هناك زيادة هامة ($p < 0,001$) في مؤشر AST - CK - GGT وخاصة في الأبقار المصابة بالتشحم الكبدي النوع الحاد مقارنة مع الشاهد، وتركيز الألبومين منخفض ($p < 0,001$) في المستويين المعتدل والشديد عند الأبقار المريضة بالمقارنة مع الأبقار الشاهد، كما رصد تبدلات هامة في مستويات البيلورويين الكلي - والغلوكوز

DISCUSSION and CONCLUSION

المناقشة والخاتمة

هذه الدراسة أجريت من أجل تقييم التغيرات الكيمياحيوية التي تطرأ على الكبد والمصل في وقت واحد أثناء الإصابة بالتشمع الكبدي الناتج عن الإصابة بالكيوتوزس الأولي ، والربط بينهما من خلال تصنيف المرض إلى ثلاث مستويات (خفيف - معتدل - شديد)

حيث وجد في الدراسة الحالية من خلال نتائج التحاليل وجود اختلافات كبيرة بين مجموعات الأبقار المفروزة في الأنواع الثلاث حيث أن فرط البومين الدم يعتبر من الدلائل على دخول المرض المرحلة المزمنة ، ويصل المرض إلى هذه المرحلة عندما تبقى فقط 20% أو أقل من الكتلة الوظيفية للكبد سليمة. (Dunny (1992) ، في حين إن الهبوط في تركيز البومين الدم يلاحظ فقط في حال حدوث فشل كبدي وليس في حال التشحم الكبدي (Rehage et al. (1999) ، أما في دراستنا الحالية فقد وجدنا بان مستويات تركيز البومين الدم منخفضة في المستويين المعتدل والشديد بالمقارنة مع المستويين الطبيعي والخفيف ، وكان التغير الهام في النوع الحاد على الأخص ، ووجد أن هناك اختلافات في تركيز الجلوكوز في المستويات المختلفة ، نتائج دراستنا كانت متوافقة مع الدراسات السابقة والتي كانت تؤكد على دور نشاط أنزيمات الكبد كمؤشرات حساسة على حصول الضرر الكبدي عند الماشية (Reid, (1982) and Robert Pearson et al. (1995) ، حيث أن نشاط AST كان أعلى في اليوم 8-12 من الولادة (60%) في الأبقار المريضة مقارنة مع الأبقار الموجودة في فترة ماحول الولادة (الفترة الانتقالية) ، ويمكن أن يأتي هذه الزيادة من العضلات لذا لا يعتبر هذا الأنزيم مميز لاضطرابات الكبد فقط ، كما وجد أيضا زيادة في نشاط أنزيم CK ، كما نلاحظ أيضا زيادة في قيم GGT (30 %) ، وأنزيم GGT يعتبر حساس ونوعي للضرر الكبدي ، كما نتائجا أثبتت أن بالقرب من الولادة انخفض تركيز الجلوكوز بشكل واضح والذي يعكس ازدياد احتياجات الجنين وغدة الضرع في تلك الفترة ، كما لوحظ زيادة في تركيز البيلوروبين بعد الولادة بالرغم من عدم حساسية ونوعيته لاضطرابات الكبد، وفي مايلي جدول بنتائج المؤشرات البيوكيميائية التي تم التوصل إليها في نتائج البحث في المستويات الثلاث للتشمع الكبدي.

المؤشر	الشاهد	الخفيف	المعتدل	الشديد	P
الجلوكوز mg/dl	82.3±5.1	58.8±5.6	53.4±2.5	53.7±4.0	0.000
الزيادات mmol/l	0.80±0.01	0.89±0.02	0.90±0.01	1.02±0.02	0.001
البليروبين الكلي mg/dl	0.3 ±0.1	0.3 ±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.007
البروتين الكلي g/dl	7.9±0.1	8.1±0.2	7.1±0.2	7.7±0.2	0.005
البومين الكلي g/dl	3.4±0.1	3.3±0.1	2.7±0.1	2.1±0.1	0.000
جلوبيولين g/dl	4.5±.1	4.9±0.2	3.8±0.3	4.4±0.2	0.009
GGT U/L	22.3±2.1	24.6±2.6	43.7±7.5	6.7±1.1	0.000
AST U/L	65.1±4	82.6±7.3	96.0±6.7	156.6±23	0.000
CK U/L	121.2±12.3	112.2±9.6	197.9±22	228.4±4	0.011

وعند إجراء معالجة تجريبية لبعض الأبقار الاختبار من خلال إخضاع عدد من الأبقار في كل مستوى (خفيف - متوسط - شديد) لنظام غذائي منتظم وإعطاء أدوية من شأنها تخفف من التسرب الدهني للكبد وتوازن الميزان السلبلي للطاقة مثال (بريولين غليكول - ديكسازون - فيتامين E سيلينيوم - محلول الدكستروز ، أنسولين ، بريدينز ألون) حيث وجد هناك استجابة طفيفة للنوعين الخفيف والمعتدل فقط من خلال الحقن العضلي بمعدل 200 ملغ بريدينز ألون يوميا لمدة 5 أيام حيث تنقص من تراكم TG في الكبد (Furil and Furil, 1998; Bobe et al., (2003) والحقن تحت الجلد من 15 ملغ غلوكوكورون لمدة 14 يوما حيث يبطل من تراكم TG في الكبد من قبل (Bobe et al. (1999)

أما تشخيص الحالات الحادة للتشمع الكبدي يكون بدون فائدة لعدم استجابتها للعلاج وبشكل عام معظم الأبقار التي يظهر لديها الحالات الحادة والتي لم تأكل لمدة ثلاث أيام يكون مصيرها النفوق رغم العلاج المركز. كما إن الحالات المشخصة بالأعراض العصبية يكون السكون فيها أيضا سيء جدا وخاصة النوع المرافق باعتلال دماغي.

REFERENCE

المراجع

- Ametaj, B.N.; Bradford, B.J.; Bobe, G.; Lu, Y.; Nafikov, R.; Sonon, R.N.; Young, J.W. and Beitz, D.C. (2002): Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. J. Dairy Sci. 85 (Suppl. 1): 189. (Abstr.) (26).
- Bobe, G.; Amin, V.R.; Hippen, A.R.; Wilson, D.E.; Lindberg, G.L. and Young, J.W. (1999): Non-invasive determination of liver lipid content in dairy cows by digital analyses of ultrasonic images. J. Dairy Sci. 82(Suppl. 1): 100. (Abstr.)
- Burim, N. Ametaj (2005): A New Understanding of the Causes of Fatty Liver in Dairy Cows Advances in Dairy Technology (2005) Volume 17, page 97.
- Byers, D.I. (1999): Controlling metabolic diseases Tri-state dairy nutrition conference, April, 1-9.
- dunn, Y. (1992): Assessment of liver damage and dyes function. In Practice., July, 193- 200.
- FÜrrl, M. and FÜrrl, B. (1998): Glucocorticoid (prednisolone) effects on various blood, urine and liver parameters in cows in the second post partum week. Tierärztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere 26:262-268. In German; abstract in English.

- Grummer, R.R. (1993):* Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76: 3882-3896.
- Oetzel, R.G. (2001):* Ketosis and hepatic lipidosis in dairy herds. American Association of bovine practitioners 34th Annual convention, September 11-12.
- Pearson, EG.; Dirksen, G. and Meyer, J. (1995):* Evaluation of liver function tests in neonatal calves. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 1; 207 (11): 1466-9.
- Rehage, J.; Quallmann, K.; Meien, C.; Stockhofe-zurwiedenn. Hoeltenshinkan, M. and Pohlantz, J. (1999):* Total serum bile acid concentration in dairy cows with fatty liver and liver failure. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 106: 26-29.
- Reid, I. and Robert, J. (1982):* Fatty liver in dairy cows. In *Practice* 1982, 164-18.
- Reid, IM. and Collins, RA. (1980):* The pathology of postparturient fatty liver in high-yielding dairy cows. *Invest Cell Pathol* 1980; 3(3): 237-49.
- Reid, IM. and Roberts, C.J. (1983):* Subclinical fatty liver in dairy cows. *Irish Vet. J.*, 1983, 37, 104.
- Rukkwamsuk, T.; Kiuip, T.A.M. and Wensing, T. (1999):* Relationship between over feeding and over conditioning in the dairy period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet. Quart.*, 1999, 21: 71-77.
- Smith, P. Bradford (1990):* Large animal internal medicine C.V. Mosby Company. Philadelphia, 1st Ed.
- Veenhuizen, J.J.; Drackley, J.K.; Richard, M.J.; Sanderson, T.P.; Miller, L.D. and Young, J.W. (1991):* Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of experimentally fatty liver and ketosis in cows. *J. Dairy Sci.*, 74, 4238-4253.
- West, H.J. (1997):* Clinical and pathological studies in cattle with hepatic disease. *Veterinary Research Commwcticnrions*, 21 (3), 169-185(28).