

## 奶牛酮病与胰岛素抵抗关系探讨

孙照磊<sup>1</sup> 王朋贤<sup>1</sup> 舒适<sup>1</sup> 刘健男<sup>1</sup> 王博<sup>1</sup> 姚远<sup>1</sup> 夏成<sup>1\*</sup> 张洪友<sup>1</sup> 王哲<sup>2</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学 动物科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 吉林大学 畜牧兽医学院, 长春 130062)

**摘要** 为探讨奶牛酮病与胰岛素抵抗的关系,选取产后 14 d 的酮病组(T)16 头和健康对照组(C)24 头奶牛,比较酮病与对照组在能量平衡、肝功能状况、氧化应激、胰岛素敏感性以及耐糖量试验的差异。结果显示:酮病奶牛机体处于能量负平衡状态;肝功能指标中酮病组奶牛血浆天门冬氨酸转移酶、直接胆红素含量极显著高于健康对照组( $P<0.01$ ),总胆红素含量显著高于健康对照组( $P<0.05$ ),胆碱酯酶含量极显著低于健康对照组( $P<0.01$ ),总蛋白含量显著低于健康对照组( $P<0.05$ ),丙氨酸氨基转移酶、间接胆红素、白蛋白、球蛋白含量与健康对照组差异不显著,表明病牛肝脏受到一定程度的损害;酮病组奶牛血浆丙二醛、超氧化物歧化酶含量显著高于健康对照组( $P<0.05$ ),表明病牛处于氧化应激状态;酮病奶牛血浆胰岛素敏感指数显著低于健康对照组( $P<0.05$ ),表明病牛的胰岛素敏感性下降。葡萄糖耐量试验显示部分酮病奶牛血糖含量显著高于健康对照组( $P<0.05$ ),在注射完葡萄糖 120 min 后血糖浓度高达 4.24 mmol/L,组间差异极显著( $P=0.006$ ),表明病牛存在胰岛素抵抗。奶牛酮病与胰岛素抵抗存在密切的关系,可能与肝功能与氧化应激有关。

**关键词** 奶牛; 酮病; 能量负平衡; 肝功能状况; 氧化应激; 胰岛素抵抗

**中图分类号** S 856.5; S 823.9<sup>+</sup>1

**文章编号** 1007-4333(2013)04-0141-06

**文献标志码** A

## Study on the relationship of ketosis and insulin resistance in dairy cows

SUN Zhao-lei<sup>1</sup>, WANG Peng-xian<sup>1</sup>, SHU Shi<sup>1</sup>, LIU Jian-nan<sup>1</sup>, WANG Bo<sup>1</sup>,  
YAO Yuan<sup>1</sup>, XIA Cheng<sup>1\*</sup>, ZHANG Hong-you<sup>1</sup>, WANG Zhe<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China)

**Abstract** To study the relationship between ketosis and insulin resistance during early lactation, 16 ketosis (T) and 24 healthy control (C) cows were chosen from a intensive dairy farm. Blood samples from all cows were collected at 14 days postpartum during morning fasting. Differences in energy balance, liver function, oxidative stress, insulin sensitivity and glucose tolerance were analyzed between T and C. Results showed that, cows with ketosis were in condition of negative energy balance. The level of plasma AST and DBIL raised significantly ( $P<0.01$ ) in T group compared to C group, and plasma TBIL also increased significantly ( $P<0.05$ ), but plasma CHE and TP decreased significantly ( $P<0.01$  or  $<0.05$ ), and there is no significantly change in plasma ALT, IBIL, ALB, and GLO, suggesting that cows with ketosis suffered from certain degree of liver function abnormality. In addition, level of plasma malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) was significantly higher in T group than in C group ( $P<0.05$ ), implied that cows affected ketosis experienced oxidative stress. Furthermore, plasma revised quantitative insulin sensitivity test (RQUICKI) was lower significantly in T group than in C group ( $P<0.05$ ), indicated that cows with ketosis had low insulin sensitivity. Concentration of plasma Glc in T group were higher than in C group during glucose tolerance test

收稿日期: 2013-02-25

基金项目: “十二五”农村领域国家科技课题(2012BAD12B05-2, 2012/BAD12B03-2); 国家自然科学基金面上项目(31072181); 黑龙江省农垦总局项目(HNK11A-08-01-09)

第一作者: 孙照磊, 硕士研究生, E-mail: sunbdx@163.com

通讯作者: 夏成, 教授, 博士生导师, 主要从事奶牛营养代谢病研究, E-mail: xcwlyf@sohu.com

( $P < 0.05$ ), and plasma Glc concentration was still 4.24 mmol/L at 120 min after intravenous injection of 50% dextrose, which had a significant differences between two groups ( $P = 0.006$ ), showing that cows affected ketosis had insulin resistance. It is concluded that there is a closed relationship between ketosis and insulin resistance, which may be related to liver function and oxidative stress because both can cause insulin resistance.

**Key words** dairy cows; ketosis; negative energy balance; liver function; oxidative stress; insulin resistance

奶牛酮病主要是由于各种原因引起碳水化合物摄入不足及泌乳消耗大量的糖,导致血糖降低,供能不足,使酮体浓度升高<sup>[1]</sup>。脂肪大量动员产生游离脂肪酸(NEFA),从而氧化自由基大量生成(高活性反应分活性氧簇(ROS)和活性氮簇(RNS)),进而启动氧化应激<sup>[2]</sup>。氧化应激信号通路的激活会导致胰岛素抵抗(IR)、胰岛素分泌受损和糖尿病与血管病变;Ceriello 教授<sup>[3]</sup>提出共同土壤学说,即氧化应激是胰岛素抵抗(IR)、糖尿病和心血管疾病的共同发病基础,在临床上同时已被广泛证实,但其致病机理尚不清楚。血浆丙二醛(MDA)是脂质过氧化反应的降解产物<sup>[4]</sup>,其在血液中的含量可作为脂质过氧化的一个指标;超氧化物歧化酶(SOD)可作为抗氧化剂的衡量指标,丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)是评估的氧化应激和抗氧化系统状态最常用的指标<sup>[5-6]</sup>。氧化系统和抗氧化系统之间的不平衡,导致机体损坏,被称为发生了“氧化应激”<sup>[7]</sup>。目前国际上公认的测定机体胰岛素抵抗的“金标准”是正常血糖胰岛素钳夹技术,但其复杂、费时和价格贵,在群体研究中较难使用,因此该方法不能用于大样本的流行病学研究。后来人们在研究中探索出与钳夹技术有高度相关的简化评价胰岛素抵抗技术,其中较为可靠精准的是葡萄糖耐量试验;当然还有更为简化的评价胰岛素抵抗的胰岛素敏感性指数(RQUICKI),经瑞典科学家证实该方法在奶牛中评价胰岛素抵抗水平依然与钳夹技术高度相关;在清晨空腹状态下,血糖、胰岛素、游离性脂肪酸和组织胰岛素敏感性间达到稳定平衡,该指数因仅涉及空腹状态下血糖、游离性脂肪酸和胰岛素值,操作简单,评价性好<sup>[8]</sup>。鉴于胰岛素抵抗在奶牛酮病发生中的作用机制尚未完全阐明,因此,本试验将从氧化应激和胰岛素抵抗的角度,研究胰岛素抵抗与酮病之间的关系,旨在为今后预防酮病提供新策略和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及日粮状况

试验在黑龙江省某集约化奶牛场,奶牛采取精

粗混合日粮(TMR)全价饲喂。每天饲喂3次,时间分别为7:00、13:00和19:00。

日粮组成:青贮玉米、啤酒糟、熟大豆、羊草、白皮、甜瓜粕、面瓜壳和浓缩精料。

营养水平为:干物质(DM) 57.10%,中性洗涤纤维(NDF) 36.80%,酸性洗涤纤维(ADF) 19.60%,粗蛋白(CP) 18%,脂肪 5.70%,钙 180 g,磷 98 g,干物质采食量 18~20 kg,产奶净能  $7.4 \times 10^6$  J/kg(DM)。

### 1.2 主要试剂与仪器

日立 7600 全自动化分析仪(日本),722N 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),华东电子 DG5033A 酶标仪,NEFA、MAD、SOD、血糖(Glu)、 $\beta$ -羟丁酸(BHBA)、胰岛素(INS)和肝脏功能指标等试剂盒。

### 1.3 分组与样品采集

以 BHBA  $\geq 1.2$  mmol/L 为金标准判定酮病<sup>[9]</sup>,将试验牛 40 头分成 16 头酮病组(T)和 24 头健康对照组(C)。产后 14 d 清晨空腹尾静脉采集(平均 3.6 岁,平均 2~3 胎次)奶牛血样各 10 mL,加 3~4 滴肝素(20 u/mL)抗凝,离心(3 500 r/min, 10 min)分离血浆, -80 °C 冻存。

### 1.4 检测项目

#### 1.4.1 能量平衡指标测定

血浆 BHBA 用 BHBA 酶联免疫试剂盒(北京九强生物技术股份有限公司)测定, mmol/L; NEFA 以游离脂肪酸酶法试剂盒(日本积水医疗科技中国有限公司)测定, mmol/L; Glu 用葡萄糖氧化酶法试剂盒(上海德赛诊断系统有限公司)测定, mmol/L; 以评估酮病奶牛能量平衡状况。

#### 1.4.2 肝脏功能检测

血浆天门冬氨酸转移酶(AST)、胆碱酯酶(CHE)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)均采用速率法, U/L; 试剂盒购自北京九强公司生物技术股份有限公司。总胆红素(TBIL)和直接胆红素(DBIL)用重氮法,  $\mu$ mol/L, 试剂盒购自上海德赛诊断系统有限公司。总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)采用比色法, g/

L,试剂盒购自德国罗氏公司;以此评估酮病奶牛肝功能状况。

#### 1.4.3 氧化和抗氧化指标检测

氧化指标 MAD 用 TBA 法, nmol/mL; 抗氧化指标 SOD 用比色法, U/mL; 试剂盒均购自南京建成生物技术股份有限公司; 通过它们判断酮病发生过程是否启动氧化应激以及程度。

#### 1.4.4 胰岛素敏感性检测

测定在清晨空腹状态下采集试验样品中的血糖、胰岛素和游离性脂肪酸, 比较试验组与对照胰岛素敏感性(RQUICKI=1/[lgG0+lgI0+lgFFA0]), 试中: G0 为空腹血糖, I0 为空腹胰岛素, NEFA0 为空腹游离脂肪酸。) 的差异。胰岛素(INS)采用 Elisa, RD Bovine Insulin(INS) Elisa 测定试剂盒, 购自南京建成生物技术股份有限公司, mIU/L。

#### 1.4.5 耐糖量实验

随机选取 7 头健康奶牛和 9 头酮病牛, 每头试验牛静脉注射 50% 葡萄糖 1 000 mL 进行糖耐量实验。在注射葡萄糖前 15 min(-15 min) 及注射后 0、15、30、45、60、90 和 120 min 采集血样, 比较耐糖量的差异。

#### 1.5 数据统计分析

使用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析, 采用“平均值±标准差”表示数据。

## 2 结果

### 2.1 酮病奶牛能量平衡状况

由表 1 可知, 酮病组 BHBA 和 NEFA 含量极显著高于健康对照组, 而 Glu 极显著低于健康对照组( $P<0.01$ )。结果显示, 酮病奶牛机体处于能量负平衡状态, 脂肪大量动员以补偿机体能量缺乏。

### 2.2 试验奶牛肝脏功能状况

酮病组 AST 和 DBIL 含量极显著高于健康对照组( $P<0.01$ ) (表 1), TBIL 含量显著高于健康对照组( $P<0.05$ ), CHE 含量极显著低于健康对照组( $P<0.01$ ), TP 含量显著低于健康对照组( $P<0.05$ ), ALT、IBIL、ALB 和 GLO 含量与健康对照组差异不显著。结果表明, 酮病奶牛肝功出现了异常。

### 2.3 氧化和抗氧化指标检测

由表 1 可知, 酮病组 MAD 和 SOD 含量显著高于健康对照组( $P<0.05$ )。结果显示酮病奶牛发生了氧化应激状况。

### 2.4 胰岛素敏感性检测

表 1 结果表明, 酮病组胰岛素敏感性显著低于健康对照组( $P<0.05$ )。显示酮病奶牛的胰岛素敏感性下降。

表 1 试验奶牛血浆 15 项指标的比较

Table 1 Levels of fifteen parameters in plasma of experimented cows

指标 Index	酮病组(n=16) Ketosis group	对照组(n=24) Control group
BHBA/(mmol/L)	2.7±1.29 A	0.6±0.11 B
Glu/(mmol/L)	2.7±0.89 A	3.3±0.17 B
NEFA/(mmol/L)	0.99±0.32 A	0.51±0.15 B
AST/(U/L)	148.64±39.98 A	92.91±13.40 B
TBIL/(μmol/L)	3.46±1.35 a	2.83±0.47 b
DBIL/(μmol/L)	2.53±0.78 A	1.82±0.43 B
CHE/(U/L)	135.86±16.79 A	155.36±20.2 B
TP/(g/L)	73.6±3.69 a	77.32±5.03 b
ALT/(U/L)	22.86±4.52	20.77±4.25
IBIL/(μmol/L)	0.97±0.64	1.04±0.51
ALB/(g/L)	32.48±2.29	33.84±2.24
GLO/(g/L)	41.03±3.74	43.37±6.46
SOD/(U/mL)	75.6±6.34 a	70.1±7.86 b
MAD/(nmol/mL)	2.89±1.27 a	2.29±0.37 b
RQUICKI	0.36±0.02 a	0.38±0.02 b

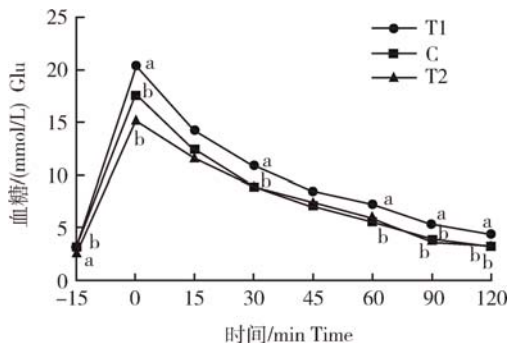
注: 表中同行数字后不同大写字母表示数据差异极显著( $P<0.01$ ), 不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 相同字母或不含字母表示差异不显著( $P>0.05$ )。

Notes: Different capital letters in same row represent very significant difference( $P<0.01$ ), different lowercase letters represent significant difference( $P<0.05$ ), and the same letter or without letters mean no significant difference( $P>0.05$ ).

### 2.5 耐糖量试验

耐糖量试验的 9 头酮病奶牛按试验后最后一时间点血糖变化状况又被分为 T1 组(5 头)和 T2 组(4 头)。由图 1 可知, T1 组在注射葡萄糖前 15 min 血糖显著低于健康对照组(C)( $P<0.05$ ), 在注射完葡萄糖后 0、30、60、90 和 120 min 时间点上显著高于 C 组( $P<0.05$ ), 且在注射完葡萄糖 120 min 后血糖浓度高达 4.24 mmol/L, 两组成对样本检验  $P=0.006$ , 差异极显著。T2 组与 C 组在各时间点

上差异均不显著。结果显示,酮病奶牛中存在胰岛素抵抗,但部分酮病奶牛未见胰岛素抵抗。



同时点比较,含不同大写字母表示数据差异极显著( $P < 0.01$ ),含不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),含相同字母或不含字母表示差异不显著( $P > 0.05$ )。

Different lowercase letters in same time represent significant difference ( $P < 0.05$ ), and the same letter or without letters mean no significant difference ( $P > 0.05$ ).

图1 耐糖量试验

Fig. 1 Glucose tolerance test

### 3 讨论

#### 3.1 酮病奶牛能量负平衡与肝脏功能状况

NEFA 和 BHBA 是脂肪分解代谢供能的产物,其在血液中浓度的升高是能量负平衡的标志,预示脂肪大量动员代谢<sup>[10]</sup>。NEFA 氧化加剧过程主要是在肝脏中进行的,其大量增加会增加活性氧物种(ROS)的产生和氧化应激的发展<sup>[11]</sup>。NEFA 不仅诱导氧化应激<sup>[12-13]</sup>,改变了抗氧化系统与氧化系统的平衡状态<sup>[2]</sup>。而且 NEFA 浓度升高,会抑制葡萄糖转运蛋白功能从而抑制葡萄糖的摄取。同时 NEFA 干扰胰岛素在肝脏和外周组织中的信号转导通路<sup>[14-15]</sup>。脂肪大量动员,伴随 NEFA 升高时,脂质会不断的在肝脏中沉积,造成肝细胞受损,发生脂肪肝等肝脏病变<sup>[16-17]</sup>。

本试验中酮病组 AST、DBIL、TBIL、CHE 和 TP 含量与健康对照组均存在显著差异,这些指标能反映肝脏脂肪沉积、分泌排泄和合成功能状况<sup>[18-23]</sup>,由此可见,部分酮病奶牛肝脏功出现了异常,这与一些报道结果一致<sup>[22-24]</sup>。肝脏是机体糖、蛋白质和脂肪三大物质代谢的中枢,一旦出现病变,机体各种代谢调节必然受到影响,从而出现不同程度的病理特征,例如脂肪肝,会诱发胰岛素抵抗<sup>[24-25]</sup>。

#### 3.2 酮病奶牛氧化应激及胰岛素抵抗状况

通过研究围产期的酮病奶牛血浆 MDA 和 SOD 显著变化,表明酮病奶牛发生了氧化应激和抗氧化防御的下降。MDA 用于评估氧化应激理论较为成熟,但对于发生氧化应激机体中 SOD 变化状况争议较大。SOD 通过催化超氧阴离子的自由基,以保护细胞免受氧化损害。有报道<sup>[26]</sup>指出 SOD 活性与 MDA 呈负相关,但在泌乳初期奶牛抗氧化酶与脂质过氧化负相关不显著。另外,氧化应激增加会导致脂质过氧化产物的浓度继续升高和活性酶、非酶促抗氧化剂的减少;但即便在此期间,为了对抗氧化活性产物毒性的影响,抗氧化酶也会暂时性升高<sup>[27-28]</sup>。也有人发现<sup>[29-31]</sup>,抗氧化剂的活性浓度与 MDA 高峰期一致,认为这种现象是由于氧化应激增加的适应性反应。王哲等<sup>[32-33]</sup>报道在围产期酮病奶牛的总抗氧化能力差异不显著,同时酮病奶牛胰岛素受体表达减少。不难看出抗氧化剂水平的升高既能反应抗氧化水平的升高也能反应氧化水平的升高;但对于氧化和抗氧化以及平衡的打破都没有被标准化,使得实验室研究和对疾病的长期监测出现困难<sup>[31]</sup>。同时很难提供氧化应激和疾病发展相关的病理生理变化之间因果关系的具体证据<sup>[34]</sup>。因此,本试验酮病奶牛 MAD 和 SOD 均显著高于健康对照组,可以表明酮病奶牛发生了氧化应激和抗氧化适应反应。

在人类和猴子中发生胰岛素抵抗需要一个比较长的过程,但在奶牛中则非常短,从干奶期饲喂低水平的饲料到产后高水平的饲养方式过程中胰岛素抵抗就能形成,胰岛素敏感性的变化在产前 3 周到产后 3 周尤为明显,其变化与体内游离脂肪酸变化时间基本一致<sup>[35]</sup>。氧化应激能引起胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>。本试验中酮病组产生氧化应激状态;RQUICKI 又显著低于健康组,酮病奶牛相对处于胰岛素抵抗状态中。因此,酮病奶牛在脂质代谢过程,可能由于氧化应激导致了胰岛素抵抗;胰岛素抵抗减少了糖的利用,反过来又促使了脂质代谢,当机体不能及时调整过来处于恶性循环状态,必然会造成很大的损失。

据报道,葡萄糖基底值在正常范围,也能发生胰岛素抵抗<sup>[25]</sup>。本试验通过耐糖量实验表明部分奶牛处于胰岛素抵抗状态,一部分奶牛未发生胰岛素抵抗。这与 Holtenius 等<sup>[25]</sup>报道胰岛素抵抗存在部分高酮体含量奶牛中相一致。

综上所述,或许因为肝脏病理变化等某些原因

导致胰岛素抵抗,进一步促使糖代谢调节下降,进而导致奶牛酮病。也可能因为酮病在糖供应不足,引起脂肪代谢,发生氧化应激、肝功能损伤、信息传递不畅,导致部分酮病奶牛发生胰岛素抵抗。因此,酮病发生发展与胰岛素抵抗有密切的相关性。

#### 4 小 结

通过对酮病奶牛负平衡和肝脏功能下降状态的分析,对发生氧化应激状态的探讨和对胰岛素敏感性下降以及耐糖量试验,表明酮病发生发展与胰岛素抵抗密切相关。

#### 参 考 文 献

- [1] Asl A N, Nazifi S, Ghasrodashti A R, et al. Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for NEFA and glucose concentrations for diagnosis of subclinical ketosis[J]. *Prev Vet Med*, 2011, 100(1): 38-43
- [2] Schonfeld P, Wojtczak L. Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species[J]. *Free Radical Biol Med*, 2008, 45: 231-241
- [3] Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(5): 816-823
- [4] Kismali G, Ozgur E, Guler G, et al. The influence of 1800 MHz GSM-like signals on blood chemistry and oxidative stress in non-pregnant and pregnant rabbits[J]. *Int J Radiat Biol*, 2012, 88(5): 414-419
- [5] Turk R, Juretic D, Geres D, et al. Flegar-Mestric influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows[J]. *Anim Reprod Sci*, 2008, 108: 98-106
- [6] Sharma N, Singh N K, Singh O P, et al. Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows[J]. *J Anim Sci*, 2011, 24(4): 479-484
- [7] Abuelo A, Hernández J, Benedito J L, et al. Oxidative stress index(OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period[J]. *Animal*, 2013(19): 1-5
- [8] Holteniusl P, Holtenius K. A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows[J]. *Acta Vet Scand*, 2007, 49: 1-3
- [9] Ospina P A, Nydam D V, Stokol T, et al. Evaluation of non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the Northeastern United States; Critical thresholds for prediction of clinical diseases[J]. *J Dairy Sci*, 2010, 93(2): 546-554
- [10] The Cornell University College of Veterinary. Medicine transition cow energy metabolite assessment[DB/OL]. (2013-01-20). <http://ahdc.vet.cornell.edu/clinpath/modules/index.htm>
- [11] G. Andres Contreras, Lorraine M. Sordillo. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows[J]. *Microbiology and Infectious Diseases*, 2011(34): 281-289.
- [12] Oborek M, Hennig B. Fatty acid mediated effects on the glutathione redox cycle in cultured endothelial cells[J]. *Am J Clin Nutr*, 1994, 59: 60-65
- [13] Bouwstra R J, Goselink R M A, Dobbelaar P, et al. The relationship between oxidative damage and Vitamin E concentration in blood, milk, and liver tissue from Vitamin E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers[J]. *J Dairy Sci*, 2008, 91(3): 977-987
- [14] Zierath J R, Livingston J N, Thorne A, et al. Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes; Relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signaling through the insulin receptor substrate-1 pathway[J]. *Diabetologia*, 1998, 41: 1343-1354
- [15] Marchand-Brustel L Y, Tanti J F, Cormont M, et al. From insulin receptor signaling to GLUT-4 translocation abnormalities in obesity and insulin resistance[J]. *J Recept Sig Transd*, 1999, 19: 217-228
- [16] Mazur A, Ayrault-Jarrier M, Chilliard Y, et al. Lipoprotein metabolism in fatty liver dairy cows[J]. *Diab Metab*, 1992, 18: 145-149
- [17] Cebra C K, Garry F B, Getzy D M, et al. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: A retrospective study of serum biochemical abnormalities[J]. *J Vet Int Med*, 1997, 11: 231-237
- [18] Schwimmer J B, Deutsch R, Rauch J B, et al. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease[J]. *The Journal of Pediatrics*, 2003, 4: 500-505
- [19] 王小龙, 切·玛克鲁. 对围产期乳牛某些血液生化成分变化的研究[J]. *中国兽医杂志*, 1993, 19(70): 16-17
- [20] Schwertner H A, Jackson W G, Tolan G. Association of low concentration of bilirubin with increased risk of coronary artery disease[J]. *Clin Chem*, 1994, 40: 18-23
- [21] Marcos E, Mazur A, Cardot P, et al. The effect of pregnancy and lactation on serum lipid and apolipoprotein B and A-I levels in dairy cows[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 1990, 64: 133-138
- [22] Bionaz M, Trevisi E, Calamari L, et al. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90: 1740-1750
- [23] Yameogo N, Ouedraogo G A, Kanyandekwe C, et al. Relationship between ketosis and dairy cows' blood metabolites in intensive production farms of the periurban area of Dakar[J]. *Trop Anim Health Pro*, 2008, 40: 483-490

- [24] Steen A, GrnÖstÖ H, Torjesen P A. Glucose and insulin responses to glucagon injection in dairy cows with ketosis and fatty liver[J]. *J Vet Med A*, 1997, 44: 521-530
- [25] Holtenius P, Traven M. Impaired glucose tolerance and heterogeneity of insulin responses in cows with abomasal displacement[J]. *J Vet Med A*, 1990, 37: 445-451
- [26] Sharma N, Singh N K, Singh O P, et al. Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows[J]. *J Anim Sci*, 2011, 4: 479-484
- [27] Vannucchi H, Jordao-Junior A A, Iglecias A C, et al. Effects of different dietary concentrations of Vitamin E on lipid peroxidation in rats[J]. *Arch Latinoam Nutr*, 1997, 47: 34-37
- [28] Kale M, Rathore N, John S. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: A possible involvement of reactive oxygen species [J]. *Toxicol Lett*, 1999, 105: 197-205
- [29] Brzezinska-Slebodzinska E, Miller J K, Quigley III J D, et al. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with Vitamin E and selenium[J]. *J Dairy Sci*, 1994, 77: 3087-3095
- [30] Campbell M H, Miller J K. Effect of supplemental dietary Vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron[J]. *J Dairy Sci*, 1998, 81: 2693-2699
- [31] Castillo C, Hernandez J, Valverde I, et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows[J]. *Res Vet Sci*, 2006, 80: 133-139
- [32] Wang Z, Liu G W, Zhang Z G, et al. Insulin receptor gene expression in normal and diseased bovine liver [J]. *J Comp Path*, 2010, 143: 258-261
- [33] Wang Z, Zhang Z G, Li X B, et al. Serum antioxidant capacity of dairy cows with subclinical ketosis[J]. *Vet Rec*, 2011, 168 (1): 22
- [34] Deaton C M. The role of oxidative stress in an equine model of human asthma[J]. *Redox Rep*, 2006, 11: 46-52
- [35] Holtenius P, Madeleinter A. Impaired glucose tolerance and heterogeneity of insulin responses in cows with abomasal displacement[J]. *J Vet Med A*, 1990, 37: 445-451

责任编辑: 苏燕