

## Нелинейные главные компоненты биохимического профиля молочного скота пяти пород

Д. Ю. Нохрин<sup>1</sup>, О. В. Соколова<sup>1</sup>✉, А. И. Белоусов<sup>1</sup>, А. Г. Исаева<sup>1</sup>, Е. В. Мокерова<sup>2</sup>,  
Ю. С. Герасимова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Акционерное общество «Кировское» по племенной работе, Киров, Россия

<sup>3</sup> Акционерное общество «Смоленское» по племенной работе, Смоленск, Россия

✉ E-mail: nauka\_sokolova@mail.ru

**Аннотация.** Цель – выявление и объяснение паттернов биохимических показателей у коров с учетом особенностей породы. **Методы.** В настоящих исследованиях проводили сравнение выборок животных пяти пород (голштинская, тагильская, суксунская, сычевская, истобенская) по 17 биохимическим показателям. Общее число исследованных животных составило 407. Для анализа полученных результатов использовали методы статистического анализа, включающие метод нелинейного анализа главных компонент по алгоритму САТРСА (Categorical PCA). **Научная новизна.** Выбранный метод позволил обобщить большое число биохимических показателей и выявить процессы, по которым изученные группы коров различались в большей или меньшей степени. **Результаты.** Выделены и интерпретированы 5 главных компонент, объясняющих в сумме 67,4 % общей дисперсии. Некоторые наблюдаемые паттерны могут свидетельствовать о развитии патологических состояний животных. Схожие биохимические паттерны наблюдали с одной стороны у коров тагильской, голштинской и суксунской, а с другой – истобенской и сычевской пород. Наиболее близкими к физиологической норме были животные суксунской породы. У коров голштинской породы регистрировали более выраженные изменения, связанные с отрицательным энергетическим балансом.

**Ключевые слова:** метаболомика, крупный рогатый скот, биохимические показатели, анализ главных компонент, породные различия

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках проекта РФФ № 22-16-00021 «Изучение ассоциаций молекулярно-генетических маркеров с ценными физиологическими признаками сельскохозяйственных животных с целью направленной селекции для повышения адаптационного потенциала и долголетия». Авторы выражают благодарность главному специалисту Управления сельского хозяйства и предпринимательства Октябрьского городского округа Пермского края В. М. Абсаликову, генеральному директору ООО «Суксунское» С. А. Пестрикову, директору ООО «Суксунское» Н. П. Суетиной, генеральному директору АО «Кировское» по племенной работе Н. А. Белявину за содействие в проведении научных исследований.

**Для цитирования:** Нохрин Д. Ю., Соколова О. В., Белоусов А. И., Исаева А. Г., Мокерова Е. В., Герасимова Ю. С. Нелинейные главные компоненты биохимического профиля молочного скота пяти пород // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 08. С. 1056–1070. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-08-1056-1070>.

**Дата поступления статьи:** 02.05.2024, **дата рецензирования:** 18.07.2024, **дата принятия:** 25.07.2024.

## Nonlinear principal components of the biochemical profile of dairy cattle of five breeds

D. Yu. Nokhrin<sup>1</sup>, O. V. Sokolova<sup>1✉</sup>, A. I. Belousov<sup>1</sup>, A. G. Isaeva<sup>1</sup>, E. V. Mokerova<sup>2</sup>, Yu. S. Gerasimova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

<sup>2</sup>“Kirovskoe” for breeding work JSC, Kirov, Russia

<sup>3</sup>“Smolenskoe” for breeding work JSC, Smolensk, Russia

✉E-mail: nauka\_sokolova@mail.ru

**Abstract.** The purpose of this study was to identify and explain patterns of biochemical parameters in dairy cows, taking into account the characteristics of their breed. **Methods.** A comparison was made of samples of animals of five breeds (Holstein, Tagil, Suksun, Sychevsk, Istoben) according to 17 biochemical parameters. The total number of animals studied was 407. To analyze the obtained results, statistical analysis methods were used, including the method of nonlinear principal component analysis using the CATPCA (Categorical PCA) algorithm. **Scientific novelty.** The chosen method made it possible to summarize a large number of biochemical indicators and identify processes in which the studied groups of cows differed to a greater or lesser extent. **Results.** Five principal components were identified and interpreted, explaining a total of 67.4 % of the total variance. Some observed patterns may indicate the development of pathological conditions in animals. Similar biochemical patterns were observed, on the one hand, in cows of the Tagil, Holstein and Suksun breeds, and on the other, in the Istoben and Sychev breeds. The animals of the Suksun breed were closest to the physiological norm. More pronounced changes associated with a negative energy balance were observed in Holstein cows.

**Keywords:** metabolomics, cattle, biochemical parameters, principal component analysis, breed differences

**Acknowledgements.** The work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation project No. 22-16-00021 “Study of associations of molecular genetic markers with valuable physiological traits of farm animals for the purpose of targeted selection to increase adaptive potential and longevity.” The authors express their gratitude to the chief specialist of the Department of Agriculture and Entrepreneurship of the Oktyabrsky Urban District of the Perm Territory V. M. Absalikov, General Director of Suksunskoe LLC S. A. Pestrikov, Director of Suksunskoe LLC N. P. Suetina, General Director of Kirovskoe JSC for breeding work N. A. Belyavin for assistance in conducting scientific research.

**For citation:** Nokhrin D. Yu., Sokolova O. V., Belousov A. I., Isaeva A. G., Mokerova E. V., Gerasimova Yu. S. Nonlinear main components of the biochemical profile of dairy cattle of five breeds. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (08): 1056–1070. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-08-1056-1070>. (In Russ.)

**Date of paper submission:** 02.05.2024, **date of review:** 18.07.2024, **date of acceptance:** 25.07.2024.

### Постановка проблемы (Introduction)

Современные технологии выращивания и разведения крупного рогатого скота, направленные на интенсивное производство молока, обуславливают высокие риски развития нарушений обмена веществ [1–4]. Субклинические алиментарные и метаболические заболевания выявляются в ходе клинико-лабораторного мониторинга по большому числу биохимических показателей, причем в последнее десятилетие наблюдается рост их числа. Это обусловлено сочетанием сразу нескольких факторов: повышением доступности высокотехнологического аналитического оборудования, перспективами метаболомики для диагностики большого спектра заболеваний [5], а также развитием метода

анализа больших массивов данных [6]. Среди последних особое значение имеют методы, позволяющие не только связать изменения содержания конкретных метаболитов с теми или иными физиологическими или патологическими процессами, но и выявить специфические группы показателей, указывающих на возможные отклонения от нормы. К ним относятся различные многомерные техники, представляющие собой варианты анализа главных компонент (PCA), регрессии частных наименьших квадратов (PLS) и дискриминантного анализа (DA). Помимо условий кормления и содержания, на вариабельность биохимических показателей у молочного скота также влияют физиологическое состояние, количество отелов, стадия лактации, се-

зон года, экологические условия [7–9], особенности породы [10–11]. Многофакторная обусловленность биохимического профиля затрудняет однозначную интерпретацию результатов мониторинга и требует дополнительных исследований с применением методов, учитывающих комплексный характер изменения показателей.

Цель данного исследования заключалась в выявлении и объяснении паттернов биохимических показателей у коров с учетом особенностей породы.

#### Методология и методы исследования (Methods)

Материалом для исследования послужили коровы 5 пород молочного направления: голштинская ( $n = 70$ ), истобенская ( $n = 75$ ), суксунская ( $n = 79$ ), сычевская ( $n = 96$ ) и тагильская ( $n = 87$ ). Отбор проб крови осуществляли в животноводческих предприятиях Свердловской, Кировской и Смоленской областей, а также Пермского края. В сыворотке крови определяли 17 биохимических показателей (общий белок, альбумин, глобулины, аспаратаминотрансфераза (АсТ), креатинин, мочевины, общий билирубин, щелочная фосфатаза, бикарбонаты, гамма-глутамилтрансфераза (гамма-ГТ), калий, кальций, натрий, свободные жирные кислоты (СЖК), фосфор, хлориды, холестерин) на автоматическом анализаторе Chem Well-2910 Combi (Awaveness Technology, США) с использованием наборов реактивов Vital Diagnostics Spb (Россия), DIALAB GmbH (Австрия), Human (Германия), «Хема-Медика» (Россия) и RayBiotech (США).

В ходе статистического анализа полученных данных использовали анализ распределений, а также порядковые методы описательной статистики и многомерного эксплорационного анализа. Оценку характера распределения признаков проводили визуально: по гистограммам распределения с кривыми плотности, рассчитанными методом Сильвермана в пакете PAST (v. 4.15). В качестве показателей описательной статистики использовали минимальное и максимальное значения, а также медиану с квартилями. Многомерный анализ проводили методом нелинейных главных компонент по алгоритму САТРСА, в ходе которого метки принадлежности к популяции обрабатывали как сглаженные сплайном номинальные категории, а все биохимические показатели – как сглаженные сплайном порядковые переменные. При выборе числа латентных переменных руководствовались критерием Кайзера и графическим критерием осыпи Кэттелла. Преобразованные в ходе САТРСА переменные сохраняли для возможности расчета общностей, а также вращения решения, которое проводили методом «варимакс». Сравнения 5 выборок по отдельным биохимическим показателям проводили с помощью омнибусного критерия Краскала – Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями по Данну. Расчеты и графические построения выполнены в пакетах IBM® SPSS® Statistics (v. 20), KyPlot (v. 6.02) и PAST (v. 4.15).

#### Результаты (Results)

Модель классического анализа главных компонент (Principal component analysis, PCA) имеет ряд известных ограничений, затрудняющих ее использование применительно к биохимическим данным вообще и к нашим данным в частности. Рассмотрим их кратко, а далее отметим преимущества нелинейного варианта этой распространенной техники.

Во-первых, в основе PCA лежит расчет парных корреляций Пирсона, т. е. параметрический метод, требующий двумерного нормального, или гауссового, распределения данных. В нашем случае часть показателей имела близкие к логнормальному распределения, например аспаратаминотрансфераза (АСТ), где положительную асимметрию отмечали для всех пяти популяций (рис. 1). Сходную ситуацию наблюдали для глобулинов, креатинина, молочной кислоты, билирубина, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, кальция, свободных жирных кислот, холестерина. Однако для других показателей распределения были более симметричными (общий белок, бикарбонаты, калий, фосфор) или даже имели отрицательную асимметрию, как в случае альбумина (рис. 1), а также натрия и хлора. Это означает, что логарифмическое преобразование не будет универсальным для всех показателей. Для корректного анализа необходимо либо предварительное адаптивное к данным степенное преобразование Бокса – Кокса, широко используемое в расчетах референтных интервалов [12; 13], либо какие-то другие, причем непараметрические подходы.

Во-вторых, корреляция Пирсона оценивает только линейные связи, тогда как в биологии более распространены нелинейные связи и зависимости [14]. В-третьих, классический PCA-анализ требует, чтобы показатели имели непрерывную шкалу – относительную или интервальную. Модель PCA некорректна применительно к качественным признакам, однако в биомедицинских науках такие показатели весьма распространены и важны: возраст, пол, наличие/отсутствие нарушений, диагноз и т. п. Таким образом, нормализующее преобразование исходных данных не позволяет решить весь комплекс проблем, поэтому были предложены другие варианты этой техники: функциональный, упрощенный, робастный PCA, а также нелинейные его варианты.

Нелинейный анализ главных компонент по алгоритму САТРСА (Categorical PCA) представляет собой гибкую статистическую технику, в которой в зависимости от настроек можно работать с нормально распределенными количественными показателями и получать результаты, аналогичные классическому PCA, а можно – с качественными номинальными показателями и получать результаты, аналогичные анализу соответствий (Correspondence analysis). Возможен одновременный анализ количественных и качественных (порядковых и

номинальных) признаков с получением результатов в привычной для анализа главных компонент форме, тогда как сам анализ можно рассматривать как непараметрический вариант PCA. Такая универсальность достигается за счет разных методов предобработки данных (отсутствие предобработки, ранжирование или группировка) с последующим многомерным их преобразованием по Джифи (Gifi transformation). Последнее делает связи между всеми показателями в анализируемом наборе данных максимально взаимно линейными. При этом номинальные и порядковые признаки получают цифровые значения, что в терминах авторов метода называется «квантификацией», но может переводиться на русский язык как «оцифровка». В качестве примера на рис. 2 представлены графики оцифровки показателей, распределения которых были рассмотрены выше (рис. 1).

Видно, что показатель «альбумин» проявляет себя в наборе прочих показателей нелинейно: с тенденцией выхода на плато после 30 г/л, где сосредоточено наибольшее число наблюдений  $n$ . Это можно интерпретировать так, что концентрации в диапазоне 30–39 г/л, с одной стороны, представляют собой вероятную норму для исследуемых животных, с другой – 30 г/л и 39 г/л с биологической точки зрения находятся в одном референтном интервале. Напротив, концентрации менее 30 г/л редки, а менее 26 г/л представляют собой явные и сильные отклонения от нормы. Судя по расстояниям между точками оцифровки показателя, можно обоснованно предполагать, что снижение концентрации альбумина с 39 г/л до 26 г/л (разность  $\Delta = 13$  г/л) по масштабу биологических изменений в организме эквивалентно снижению с 26 г/л до 24 г/л ( $\Delta = 2$  г/л).

У показателя АСТ наблюдали принципиально другую картину: вместо плавного нелинейного тренда график квантификации демонстрировал несколько ступеней, соответствующих разным качественным состояниям организма животных. Известно, что рост активности АСТ является важным маркером цитолиза клеток из-за высоких концентраций фермента в цитоплазме и митохондриях, а согласно современным представлениям энзимодиагностики, активность энзима прямо пропорциональна степени повреждения клеток. Важно отметить, что АСТ не является тканеспецифичным ферментом. Используя данный индикатор, трудно говорить о поражении конкретного органа, однако его можно рассматривать как показатель протекания патологического процесса у животных [15]. Ключевыми органами, имеющими наибольшие концентрации АСТ в клетке, являются печень и поджелудочная железа, сердце, скелетная мускулатура и почки [16], а рост активности фермента наблюдается у коров при ацидозе, кетозе, жировой дистро-

фии печени, миодистрофии и др. [17]. Опираясь на литературные данные и график квантификации для данного показателя, можно считать физиологической нормой уровень до 100 Ед/л, тогда как уровни 100–135 Ед/л и 135–140 Ед/л указывают, вероятно, на развитие патологических изменений во внутренних органах разной степени тяжести, а к значениям более 180 Ед/л следует относиться как к выраженной патологии.

Таким образом, процедура многомерной квантификации исходных данных может давать информацию, представляющую самостоятельный интерес в предметной области, в данном случае – информацию об интервалах нормы и патологии, что является альтернативным существующим и многомерным подходом к расчету референтных интервалов. Технически же квантификация решает как проблему асимметрии распределений, так и нелинейности связей показателей. Поэтому к предварительно оцифрованным по Джифи данным корректно применять классический анализ главных компонент, что и составляет суть процедуры САТРСА.

Анализ был проведен в несколько этапов. На первом этапе принимали решение о числе латентных переменных, стоящих за изменениями биохимических показателей. Для этого на предварительно ранжированных и сглаженных сплайном средствами процедуры САТРСА значениях биохимических показателей, а также сглаженных сплайном оцифрованных меток принадлежности животным к группам был проведен первый вариант анализа. Сведения об анализируемых показателях представлены в таблице 1.

Количество узлов для сглаживания выбирали максимальным для каждого показателя, оно равно количеству уникальных значений за вычетом первого и последнего. Из последней колонки таблицы 1 видно, что наименьшее число таких значений было у билирубина и свободных жирных кислот (СЖК), для которых у основной массы животных регистрировали нулевые значения. Следует отметить, что в действительности это были значения ниже чувствительности аналитического метода определения, которые просто отмечали как нулевые концентрации, что корректно при использовании в анализе порядковых статистик (как в нашем случае), но искажает результаты классических техник, основанных на расчете среднего значения и дисперсии.

В ходе первого варианта анализа были выделены все возможные для 18 показателей (17 биохимических и 1 метка принадлежности к группе) 18 главных компонент (далее – ГК), 5 из которых, согласно критериям Кэттелла и Кайзера (рис. 3), являлись обобщающими; в сумме они объясняли 59,2 % общей изменчивости (количественно – дисперсии) показателей в наборе данных.



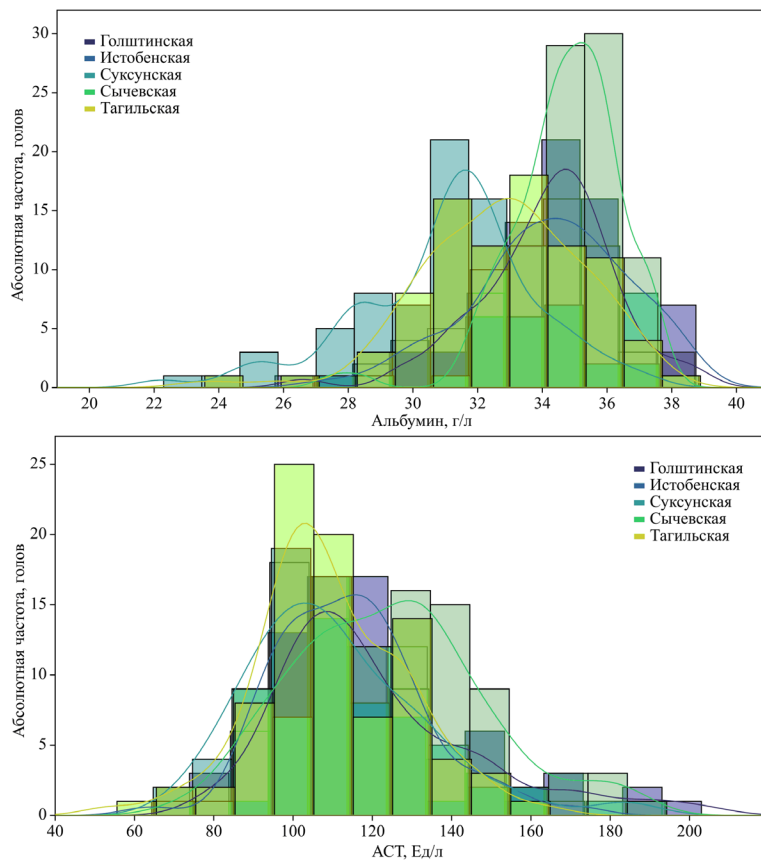


Рис. 1. Гистограмма распределения альбумина и аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови коров

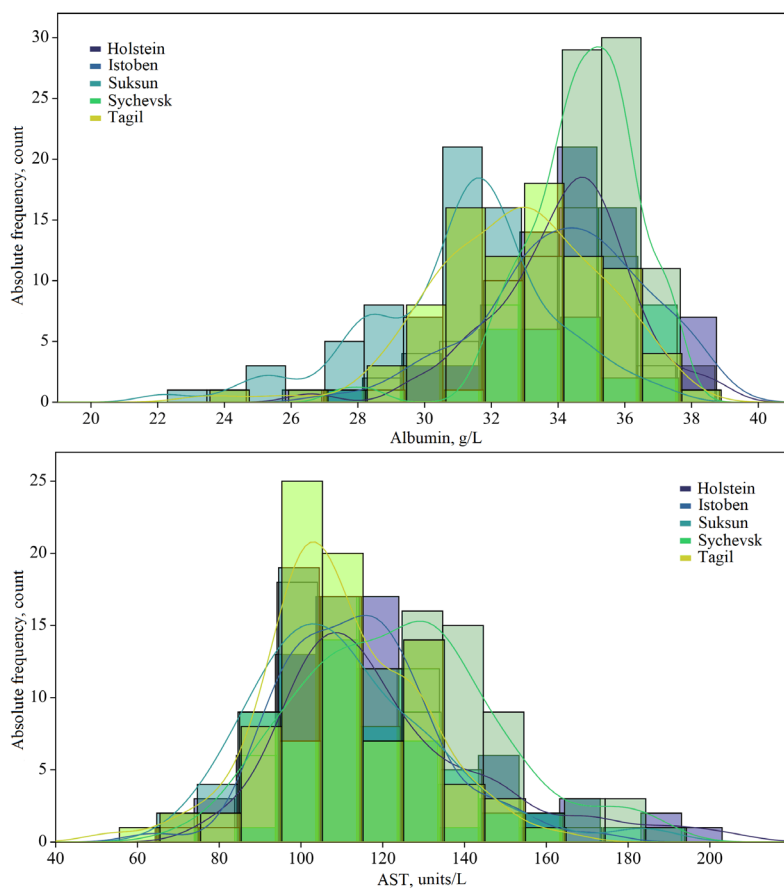


Fig. 1. Histograms of the distributions of albumin and aspartate aminotransferase in the blood serum of cows

Таблица 1  
Сведения о показателях, использованных в нелинейном анализе главных компонент ( $n = 407$ )

Показатель	Единицы измерения	Минимум – максимум	Медиана	Квартили	Количество узлов
Популяция	–	–	–	–	3
Общий белок	г/л	59,3–101,7	82,8	77,7–87,9	114
Альбумин	г/л	22,2–38,7	33,8	31,9–35,3	102
Глобулины	г/л	27,8–76,1	49,4	43,7–55,1	309
Аспаргатаминотрансфераза	Ед/л	54,0–203	113	101–129	95
Креатинин	мкмоль/л	51,1–159	89	76,1–107,3	224
Мочевина	ммоль/л	0–7,5	2,8	1,9–3,9	61
Общий билирубин	мкмоль/л	0–16,9	0	0–0	7
Щелочная фосфатаза	Ед/л	16–412	64	48–81	111
Бикарбонаты	ммоль/л	5–45,7	27,6	22,7–31,4	185
Гамма-глутамилтрансфераза	Ед/л	5,2–54,9	14,4	11,5–20,8	175
Калий	ммоль/л	2,7–7,9	5	4,5–5,6	40
Кальций	ммоль/л	1,9–3,2	2,3	2,2–2,5	12
Натрий	ммоль/л	112,1–175,8	149,9	143,6–156,9	214
Свободные жирные кислоты	ммоль/л	0–1,2	0,2	0,1–0,5	10
Фосфор	ммоль/л	0,2–3,5	2	1,7–2,2	25
Хлориды	ммоль/л	94,7–129,5	114,1	109,4–117,8	159
Холестерин	ммоль/л	1,2–11,5	5,2	4,1–6,3	70

Table 1  
Information about the indicators used in the nonlinear principal component analysis ( $n = 407$ )

Indicator	Units	Min – Max	Median	Quartiles	Number of nodes
Population	–	–	–	–	3
Total protein	g/L	59.3–101.7	82.8	77.7–87.9	114
Albumin	g/L	22.2–38.7	33.8	31.9–35.3	102
Globulin	g/L	27.8–76.1	49.4	43.7–55.1	309
Aspartate aminotransferase	units/L	54.0–203	113	101–129	95
Creatinine	$\mu\text{mol/L}$	51.1–159	89	76.1–107.3	224
Urea	mmol/L	0–7.5	2.8	1.9–3.9	61
Total bilirubin	$\mu\text{mol/L}$	0–16.9	0	0–0	7
Alkaline phosphatase	units/L	16–412	64	48–81	111
Bicarbonate	mmol/L	5–45.7	27.6	22.7–31.4	185
Gamma-glutamyl transferase	units/L	5.2–54.9	14.4	11.5–20.8	175
Potassium	mmol/L	2.7–7.9	5	4.5–5.6	40
Calcium	mmol/L	1.9–3.2	2.3	2.2–2.5	12
Sodium	mmol/L	112.1–175.8	149.9	143.6–156.9	214
Free fatty acids	mmol/L	0–1.2	0.2	0.1–0.5	10
Phosphorus	mmol/L	0.2–3.5	2	1.7–2.2	25
Chloride	mmol/L	94.7–129.5	114.1	109.4–117.8	159
Cholesterol	mmol/L	1.2–11.5	5.2	4.1–6.3	70

На втором этапе проведен повторный анализ с теми же настройками, но с выделением только 5 компонент. В отличие от классического PCA результаты такого анализа не идентичны первому варианту. В данном случае объясняемая дисперсия перераспределяется с оставшихся компонент на первые 5 ГК, которые в результате стали объяснять уже 67,4 % дисперсии в наборе данных. На этом стандартная техника CATPCA предлагает сразу интерпретировать выделенные ГК, хотя допускает

вращение полученного решения недокументированным способом<sup>1</sup>. Поэтому в ходе второго этапа анализа матрица преобразованных по Джифи значений была сохранена, а затем проанализирована в ходе третьего (окончательного) варианта анализа с ортогональным вращением «варимакс». Результаты этого анализа представлены в таблице 2 и на рис. 4.

<sup>1</sup> Manisera M., Van der Kooij A. J., Dusseldorp E. Identifying the component structure of satisfaction scales by nonlinear principal components analysis // Quality technology & quantitative management. 2010. Vol. 7, No 2. Pp. 97–115. DOI: 10.1080/16843703.2010.11673222.

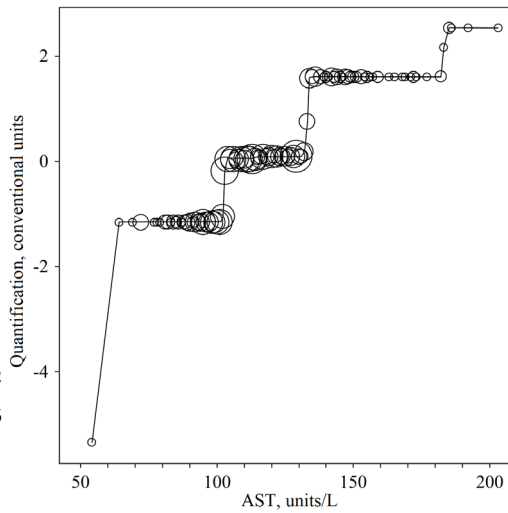
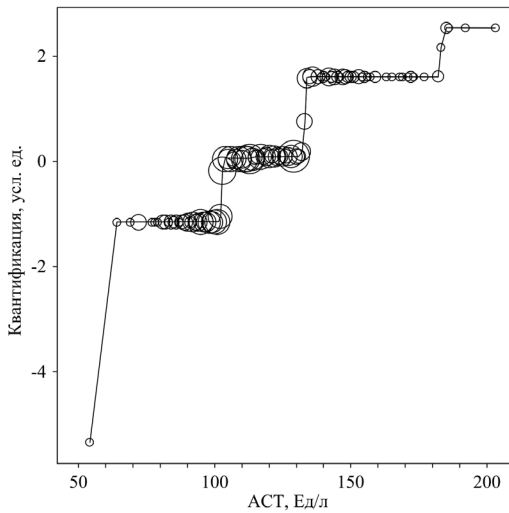
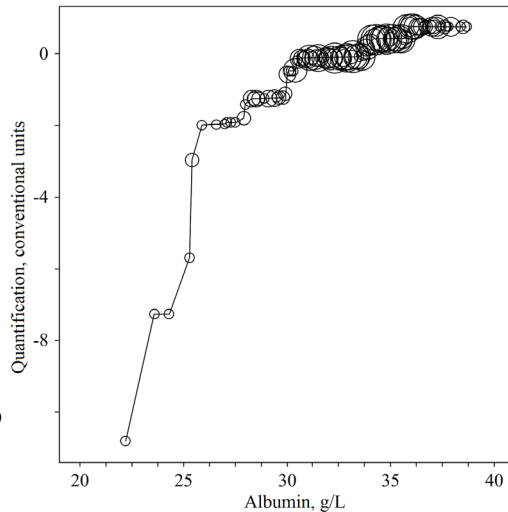
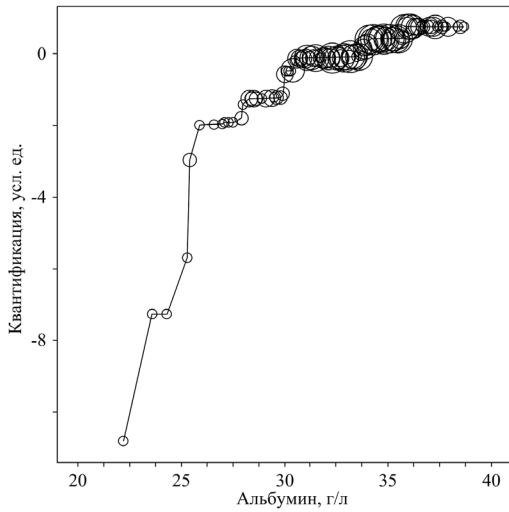


Рис. 2. Реальные и оцифрованные по Джифи значения двух биохимических показателей. Пояснения – в тексте

Fig. 2. Original and Gifi's transformed values of two biochemical parameters. Explanations are in the text

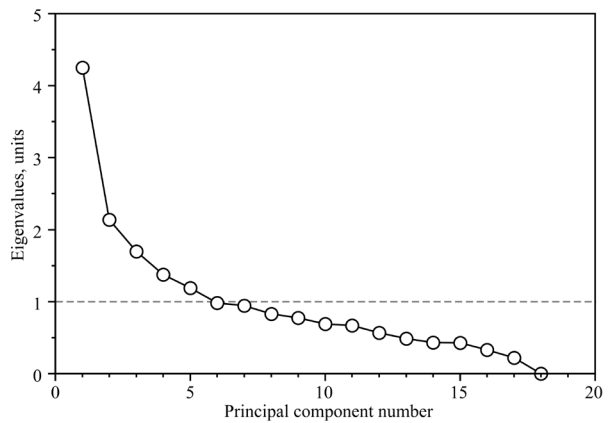
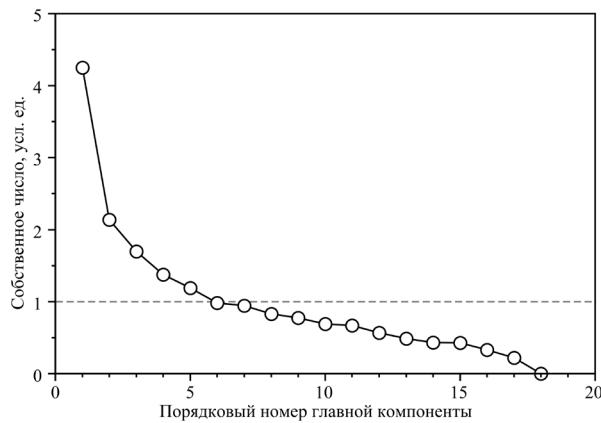


Рис. 3. Выделение главных компонент на графике «каменистой осыпи» Кэттелла. Пунктир – критерий Кайзера

Fig. 3. Search for principal components on the Cattell's scree plot. The dotted line is the Kaiser's rule

По значениям общностей таблицы 2 видно, что в рамках пятифакторной модели достаточно полное объяснение получили вариабельность концентрации глобулинов и различия между популяциями

(нагрузки близки к 1). Менее объясняемыми используемой моделью были изменения общего билирубина и щелочной фосфатазы.

## Нагрузки показателей на нелинейные главные компоненты после варимакс-вращения

Показатель	Главная компонента					Общность
	1	2	3	4	5	
Популяция	<b>0,583</b>	<b>0,582</b>	0,199	0,292	<b>-0,309</b>	0,899
Общий белок	0,066	<b>0,504</b>	<b>0,672</b>	0,157	0,095	0,743
Альбумин	-0,106	0,055	<b>-0,833</b>	0,099	0,189	0,755
Глобулины	0,085	<b>0,307</b>	<b>0,896</b>	0,062	0,006	0,907
Аспаргат-аминотрансфераза	0,068	-0,129	0,061	-0,030	<b>0,827</b>	0,709
Креатинин	<b>-0,388</b>	<b>-0,596</b>	-0,253	-0,095	0,235	0,634
Мочевина	-0,006	0,074	-0,035	<b>0,741</b>	-0,253	0,620
Общий билирубин	<b>-0,556</b>	-0,105	-0,090	-0,076	<b>0,350</b>	0,457
Щелочная фосфатаза	-0,164	<b>-0,602</b>	-0,117	0,064	0,057	0,411
Бикарбонаты	<b>0,779</b>	0,241	0,143	0,097	-0,213	0,739
Гамма-глутамил-трансфераза	<b>-0,303</b>	<b>-0,739</b>	-0,163	-0,130	<b>0,324</b>	0,786
Калий	0,042	0,040	-0,166	<b>0,720</b>	0,197	0,588
Кальций	-0,206	<b>0,766</b>	-0,239	0,115	0,083	0,706
Натрий	<b>0,834</b>	0,005	-0,007	-0,006	0,138	0,715
Свободные жирные кислоты	<b>-0,445</b>	<b>-0,376</b>	-0,152	-0,294	<b>0,451</b>	0,652
Фосфор	<b>0,386</b>	0,079	0,042	<b>0,753</b>	-0,093	0,734
Хлориды	<b>0,698</b>	0,071	-0,015	0,144	0,235	0,568
Холестерин	0,003	0,088	<b>-0,671</b>	0,187	-0,086	0,500
Доля объяснённой дисперсии, %	17,4	15,5	14,9	10,9	8,7	–

Table 2

## Loadings of indicators on nonlinear principal components after varimax rotation

Indicator	Principal component					Communality
	1	2	3	4	5	
Population	<b>0.583</b>	<b>0.582</b>	0.199	0.292	<b>-0.309</b>	0.899
Total protein	0.066	<b>0.504</b>	<b>0.672</b>	0.157	0.095	0.743
Albumin	-0.106	0.055	<b>-0.833</b>	0.099	0.189	0.755
Globulin	0.085	<b>0.307</b>	<b>0.896</b>	0.062	0.006	0.907
Aspartate aminotransferase	0.068	-0.129	0.061	-0.030	<b>0.827</b>	0.709
Creatinine	<b>-0.388</b>	<b>-0.596</b>	-0.253	-0.095	0.235	0.634
Urea	-0.006	0.074	-0.035	<b>0.741</b>	-0.253	0.620
Total bilirubin	<b>-0.556</b>	-0.105	-0.090	-0.076	<b>0.350</b>	0.457
Alkaline phosphatase	-0.164	<b>-0.602</b>	-0.117	0.064	0.057	0.411
Bicarbonate	<b>0.779</b>	0.241	0.143	0.097	-0.213	0.739
Gamma glutamyl transferase	<b>-0.303</b>	<b>-0.739</b>	-0.163	-0.130	<b>0.324</b>	0.786
Potassium	0.042	0.040	-0.166	<b>0.720</b>	0.197	0.588
Calcium	-0.206	<b>0.766</b>	-0.239	0.115	0.083	0.706
Sodium	<b>0.834</b>	0.005	-0.007	-0.006	0.138	0.715
Free fatty acids	<b>-0.445</b>	<b>-0.376</b>	-0.152	-0.294	<b>0.451</b>	0.652
Phosphorus	<b>0.386</b>	0.079	0.042	<b>0.753</b>	-0.093	0.734
Chloride	<b>0.698</b>	0.071	-0.015	0.144	0.235	0.568
Cholesterol	0.003	0.088	<b>-0.671</b>	0.187	-0.086	0.500
Explained variance, %	17.4	15.5	14.9	10.9	8.7	–



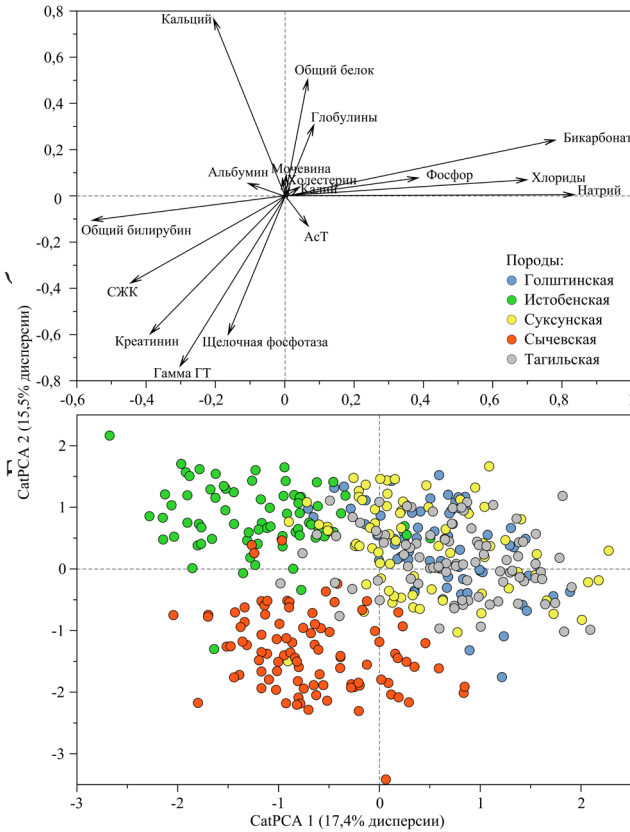


Рис. 4. Показатели и породы крупного рогатого скота в пространстве двух первых нелинейных главных компонент после вращения «варимакс»

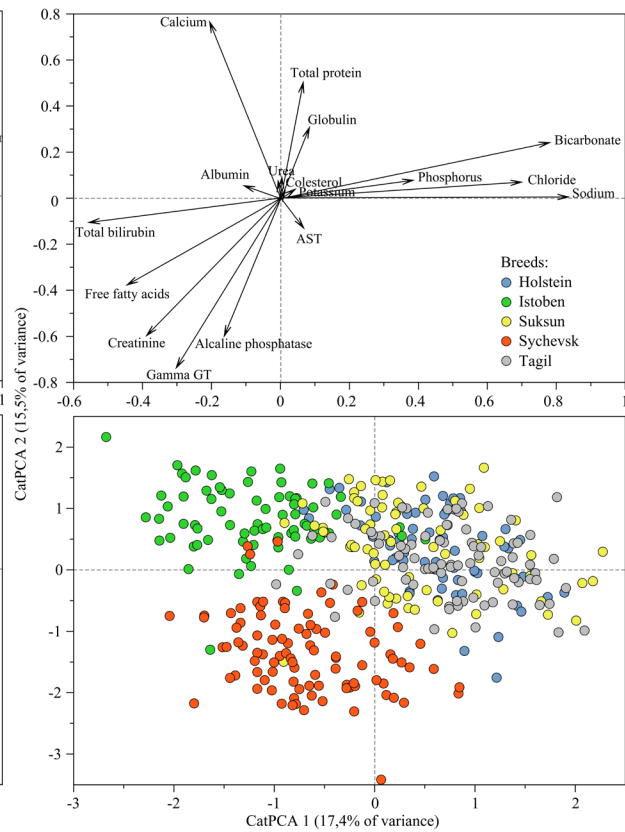


Fig. 4. Cattle traits and breeds in the space of the first two nonlinear principal components after varimax rotation

Первая и вторая главные компоненты ГК 1 и ГК 2 объясняли в сумме треть (32,9 %) всей изменчивости в наборе данных. Судя по высоким значениям нагрузок метки «Популяция» на эти ГК, они отражают процессы, связанные с популяционными различиями. Наиболее отчетливо последние видны на ординационной диаграмме рис. 4, в верхней части которого нагрузки показателей из таблицы 2 представлены в виде векторов. Направленные в одну сторону от нуля по данной ГК векторы указывают на положительную корреляцию показателей, а в разные стороны – на отрицательную. В нижней части рис. 4 приведены индивидуальные значения факторных меток для тех же компонент, т. е. они с одной стороны, показывают значения ГК 1 и ГК 2 для конкретных животных, с другой – указывают на животных и их группы, которые и обусловили выделение соответствующих компонент. Видно, что в пространстве двух первых ГК выделились истобенская и сычевская породы, тогда как голштинская, суксунская и тагильская не разделились и представлены на диаграмме общим облаком в правой верхней части.

Особенностью коров истобенской породы было относительно низкое содержание натрия, бикарбонатов и хлоридов (показатели с высокими нагрузками находятся в противоположной правой части диаграммы), при высоком содержании общего

билирубина и СЖК. Наиболее показательным для этой группы было высокое содержание кальция, направление вектора для которого совпало с положением облака меток в пространстве двух первых ГК.

Как видно из таблицы 3, концентрация кальция у этих животных была максимальной из 5 групп: 2,5 против 2,2–2,4 ммоль/л в других группах (критерий Краскела – Уоллиса  $H_{(4)} = 122,5, p < 0,001$ ). Особенностью группы сычевской породы было относительно низкое содержание натрия, бикарбонатов и хлоридов и самое высокое – СЖК (0,5 против 0,1–0,4 ммоль/л в других группах;  $H_{(4)} = 193,2, p < 0,001$ ), креатинина (117,1 против 79,1–92,6 мкмоль/л;  $H_{(4)} = 193,2, p < 0,001$ ), гамма-ГТ (28,6 против 11,1–13,9 Ед/л,  $H_{(4)} = 223,5, p < 0,001$ ) и щелочной фосфатазы (83,5 против 56,5–63 Ед/л;  $H_{(4)} = 58,0, p < 0,001$ ).

Таким образом, для коров истобенской и сычевской пород можно выделить единый метаболический паттерн, отличающий их от других групп. Он выражается в накоплении в крови свободных жирных кислот, при общем снижении бикарбонатной емкости крови. Регистрируемые метаболические особенности в большей мере характеризуют высокую скорость мобилизации триглицеридов при активизации гормончувствительной липазы, активность которой увеличивается под действием глюкокортикоидов и катехоламинов.

Таблица 3

Биохимические показатели молочного скота пяти пород: медиана ( $Q_1-Q_3$ )

№ п/п	Показатель, ед. изм.	Голштинская (n = 70)	Истобенская (n = 75)	Суксунская (n = 79)	Сычевская (n = 96)	Тагильская (n = 87)
1	Общий белок, г/л	85,4 80,9–90,3	85,5 81,3–89,7	85,2 80,7–89,3	75,8 72,5–79,5	84,1 80,3–89,0
2	Альбумин, г/л	34,4 33,0–35,4	34,5 32,9–36,0	31,5 29,8–32,5	34,9 33,8–35,8	32,9 31,0–34,5
3	Глобулины, г/л	50,3 46,8–56,1	50,1 45,3–56,0	52,9 47,4–58,4	40,9 37,4–44,8	51,6 47,2–57,0
4	АСТ, Ед/л	114,0 103,8–132,8	113,0 101,0–125,0	109,0 95,0–125,0	124,0 106,3–137,5	107,0 98,0–124,0
5	Креатинин, мкмоль/л	79,1 73,1–88,6	92,6 85,0–104,6	80,4 73,0–94,5	117,1 105,2–129,7	79,2 68,3–89,4
6	Мочевина, ммоль/л	2,2 1,7–3,0	3,4 2,9–4,4	2,1 1,5–2,7	2,2 1,6–2,9	4,4 3,7–4,8
7	Общий билирубин, мкмоль/л	0,0 0,0–0,0	0,0 0,0–1,9	0,0 0,0–0,0	1,9 0,0–1,9	0,0 0,0–0,0
8	Щелочная фосфатаза, Ед/л	56,5 46,0–70,0	63,0 50,0–74,0	60,0 43,0–78,0	83,5 65,0–108,5	57,0 46,0–74,0
9	Бикарбонаты, ммоль/л	28,3 26,9–30,9	22,0 18,4–24,6	29,3 27,6–31,3	22,2 20,1–24,5	33,4 30,9–36,7
10	Гамма-глутамилтрансфераза, Ед/л	13,5 10,8–16,4	13,9 11,8–15,4	11,1 9,8–13,0	28,6 24,5–34,5	13,9 11,6–16,1
11	Калий, ммоль/л	5,3 4,9–6,0	4,9 4,2–5,3	4,7 4,1–4,9	5,0 4,6–5,4	5,5 4,9–5,9
12	Кальций, ммоль/л	2,4 2,2–2,5	2,5 2,4–2,6	2,4 2,2–2,5	2,2 2,1–2,3	2,3 2,3–2,5
13	Натрий, ммоль/л	155,2 150,7–158,9	141,3 136,3–147,1	152,2 146,6–156,6	145,9 137,9–152,9	155,8 149,6–159,2
14	Свободные жирные кислоты, ммоль/л	0,2 0,1–0,5	0,4 0,3–0,5	0,1 0,1–0,2	0,5 0,4–0,5	0,1 0,1–0,2
15	Фосфор, ммоль/л	2,2 2,0–2,3	1,9 1,8–2,1	1,8 1,6–2,0	1,6 1,5–1,9	2,5 2,2–2,7
16	Хлориды, ммоль/л	115,8 112,8–119,0	111,0 107,9–116,1	114,4 110,6–119,1	111,1 108,5–115,1	117,3 113,1–121,1
17	Холестерин, ммоль/л	4,8 3,8–6,6	4,5 3,5–5,6	4,7 3,6–5,7	5,6 4,7–6,4	5,9 4,5–7,2

Table 3

Biochemical parameters of dairy cows of five breeds: median ( $Q_1-Q_3$ )

No.	Indicator, units	Holstein (n = 70)	Istoben (n = 75)	Suksun (n = 79)	Sychevsk (n = 96)	Tagil (n = 87)
1	Total protein, g/L	85.4 80.9–90.3	85.5 81.3–89.7	85.2 80.7–89.3	75.8 72.5–79.5	84.1 80.3–89.0
2	Albumin, g/L	34.4 33.0–35.4	34.5 32.9–36.0	31.5 29.8–32.5	34.9 33.8–35.8	32.9 31.0–34.5
3	Globulin, g/L	50.3 46.8–56.1	50.1 45.3–56.0	52.9 47.4–58.4	40.9 37.4–44.8	51.6 47.2–57.0
4	Aspartate aminotransferase, units/L	114.0 103.8–132.8	113.0 101.0–125.0	109.0 95.0–125.0	124.0 106.3–137.5	107.0 98.0–124.0
5	Creatinine, $\mu\text{mol/L}$	79.1 73.1–88.6	92.6 85.0–104.6	80.4 73.0–94.5	117.1 105.2–129.7	79.2 68.3–89.4
6	Urea, mmol/L	2.2 1.7–3.0	3.4 2.9–4.4	2.1 1.5–2.7	2.2 1.6–2.9	4.4 3.7–4.8

7	Total bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	0.0 0.0–0.0	0.0 0.0–1.9	0.0 0.0–0.0	1.9 0.0–1.9	0.0 0.0–0.0
8	Alkaline phosphatase, units/L	56.5 46.0–70.0	63.0 50.0–74.0	60.0 43.0–78.0	83.5 65.0–108.5	57.0 46.0–74.0
9	Bicarbonate, mmol/L	28.3 26.9–30.9	22.0 18.4–24.6	29.3 27.6–31.3	22.2 20.1–24.5	33.4 30.9–36.7
10	Gamma glutamyl transferase, units/L	13.5 10.8–16.4	13.9 11.8–15.4	11.1 9.8–13.0	28.6 24.5–34.5	13.9 11.6–16.1
11	Potassium, mmol/L	5.3 4.9–6.0	4.9 4.2–5.3	4.7 4.1–4.9	5.0 4.6–5.4	5.5 4.9–5.9
12	Calcium, mmol/L	2.4 2.2–2.5	2.5 2.4–2.6	2.4 2.2–2.5	2.2 2.1–2.3	2.3 2.3–2.5
13	Sodium, mmol/L	155.2 150.7–158.9	141.3 136.3–147.1	152.2 146.6–156.6	145.9 137.9–152.9	155.8 149.6–159.2
14	Free fatty acids, mmol/L	0.2 0.1–0.5	0.4 0.3–0.5	0.1 0.1–0.2	0.5 0.4–0.5	0.1 0.1–0.2
15	Phosphorus, mmol/L	2.2 2.0–2.3	1.9 1.8–2.1	1.8 1.6–2.0	1.6 1.5–1.9	2.5 2.2–2.7
16	Chloride, mmol/L	115.8 112.8–119.0	111.0 107.9–116.1	114.4 110.6–119.1	111.1 108.5–115.1	117.3 113.1–121.1
17	Cholesterol, mmol/L	4.8 3.8–6.6	4.5 3.5–5.6	4.7 3.6–5.7	5.6 4.7–6.4	5.9 4.5–7.2

Положение групп коров голштинской, суксунской и тагильской пород на рис. 2 визуально очень сходно, однако критерий Данна выявил значимые различия по ГК 1 и между ними: более высокими значениями характеризовались коровы тагильской породы ( $p = 0,023$ ). С одной стороны, это указывает на то, что электролитный состав крови у коров тагильской породы наиболее соответствует референтным значениям по сравнению с коровами истобенской и сычевской пород. С другой стороны, по сравнению с голштинской и суксунской породами у коров тагильской породы отмечали в среднем стабильно высокие концентрации в плазме крови бикарбонатов, хлоридов и натрия (таблица 3).

Третья главная компонента (ГК 3) объясняла 14,9 % общей дисперсии показателей и отражала процесс, затрагивающий изменения количества плазменных белков и холестерина. Исходя из значений нагрузок (таблица 2) видно, что с содержанием общего белка положительно коррелировала концентрация глобулинов, а отрицательно – альбуминов. Такая ситуация закономерна и отражает альбумин-глобулиновое соотношение, полученное естественным образом в ходе многомерного анализа данных. Из значений ГК 3 следует, что коровы суксунской породы характеризовались более низкими значениями альбуминов и повышенным содержанием глобулинов (рис. 5). Известно, что накопление иммуноглобулинов происходит в ответ на воздействие антигенов, что говорит о высокой иммунологической реактивности указанных животных. Представленные механизмы лежат в основе неспецифической иммунологической реакции при повышении

производства глобулинов ретикулоэндотелиальными тканями, лимфоидными клетками, активированными В-клетками, плазматическими клетками и др. [18; 19]. В отличие от коров суксунской породы животные сычевской породы, напротив, имели высокую долю альбуминов и низкую глобулинов (рис. 5).

ГК 4 объясняла 10,9 % общей дисперсии и включала только 3 коррелирующих между собой показателя: мочевины, калий и фосфор. Максимальные значения ГК 4 отмечали у животных тагильской породы, минимальные – у суксунской. Симметричная относительная азотемия, гиперкалиемия и гипофосфатемия могут потенциально указывать на функциональное состояние почек, и в дальнейшем использоваться в рамках оценки состояния выделительной системы при наличии клинических признаков заболевания.

ГК 5 объясняла 8,7 % общей дисперсии и включала аспаргатаминотрансферазу, свободные жирные кислоты, общий билирубин и гамма-глутамил-трансферазу. Данные показатели объединяет то, что их согласованное изменение является индикатором негативного энергетического баланса в организме, который повышается при кетозе, истощении и липидозе печени [17]. Определенную нагрузку на ГК 5 дала и метка принадлежности к группе, что указывает на существование межгрупповых различий по данному паттерну показателей. Как видно из рис. 5, по сравнению с коровами голштинской породы наиболее благополучная ситуация в этом отношении наблюдалась у животных суксунской и тагильской пород.

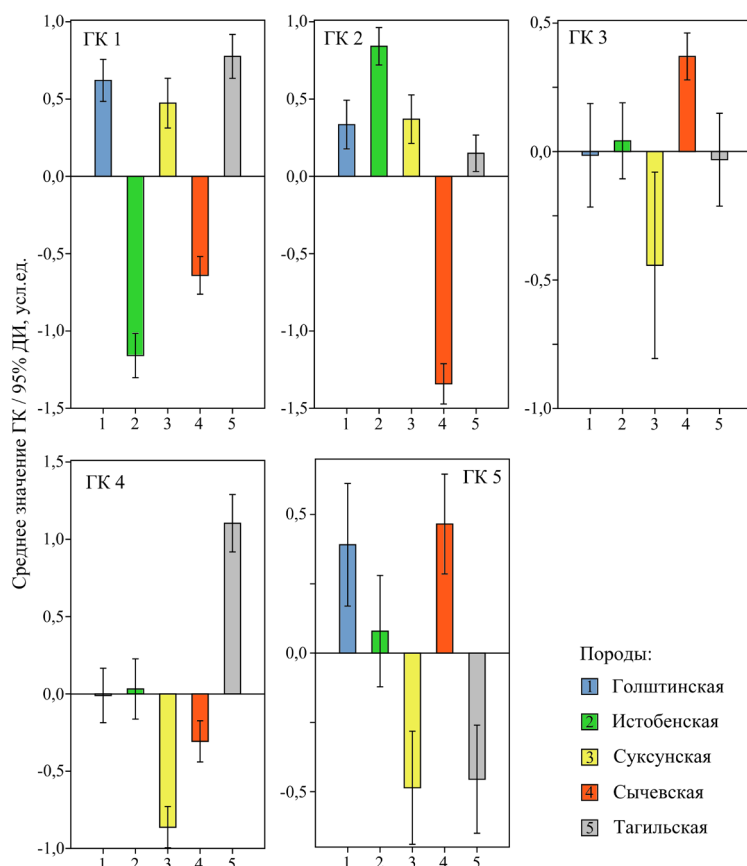


Рис. 5. Средние значения нелинейных главных компонент биохимического профиля коров

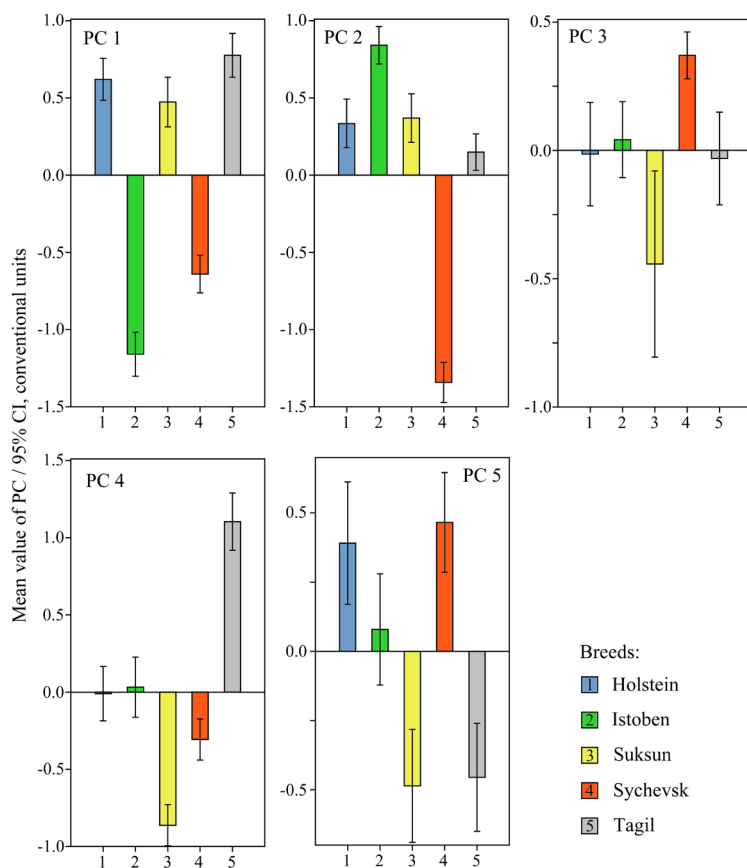


Fig. 5. Average values of nonlinear principal components of the biochemical profile of cows

**Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)**

Таким образом, проведенный нелинейный анализ главных компонент по алгоритму CATPCA позволил обобщить большое число биохимических показателей и выявить процессы, по которым изученные группы коров различались в большей или меньшей степени. Были выделены и интерпретированы 5 главных компонент, объясняющих в сумме 67,4 % общей дисперсии. Некоторые наблюдаемые паттерны могут указывать на развитие различной патологии у животных. Судя по доле объясняемой дисперсии, среди предполагаемых состояний наиболее выраженными являются ацидоз и изменение микробиоты рубца, являющиеся с одной стороны весьма распространенными симптомокомплексами у крупного рогатого скота, а с другой, будучи связанными с обменом веществ, находят отражение в большом числе биохимических показателей [20; 21].

Показатели, характеризующие электролитный баланс крови, не были выделены в самостоятельный паттерн, а вошли в первую компоненту с противоположным знаком.

На втором месте после процессов нарушения микробиоты выделены признаки холестатического поражения печени на фоне повышенной антигенной нагрузки, приводящей к изменению соотношения плазменных белков.

Наиболее слабыми по отношению к вышеуказанному, но тем не менее выделившимся в самостоятельные интерпретируемые факторы были процессы, характеризующие водный и энергетический баланс в организме [22].

В целом анализ состояния популяций крупного рогатого скота по выделенным с помощью нелинейного анализа главных компонент биохимических процессов указывает на то, что схожие паттерны наблюдали, с одной стороны у коров тагильской, голштинской и суксунской, а с другой – истобенской и сычевской пород. Наиболее близкими к физиологической норме были животные суксунской породы. У коров голштинской породы наблюдали более выраженные изменения, связанные с отрицательным энергетическим балансом.

**Библиографический список**

1. Andjelić B., Djoković R., Cincović M., Bogosavljević-Bošković S., Petrović M., Mladenović J., Čukić A. Relationships between milk and blood biochemical parameters and metabolic status in dairy cows during lactation // *Metabolites*. 2022. Vol. 12, No. 8. Article number 733. DOI: 10.3390/metabo12080733.
2. Guliński P. Ketone bodies – causes and effects of their increased presence in cows' body fluids: A review // *Veterinary World*. 2021. Vol. 14, No. 6. Pp. 1492–1503. DOI: 10.14202/vetworld.2021.1492-1503.
3. Tufarelli V., Puvača N., Glamočić D., Pugliese G., Colonna, M. A. The most important metabolic diseases in dairy cattle during the transition period // *Animals*. 2024. Vol. 14. Article number 816. DOI: 10.3390/ani14050816.
5. Tran H., McConville M., Loukopoulos P. Metabolomics in the study of spontaneous animal diseases // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020. Vol. 32, No. 5. Pp. 635–647. DOI: 10.1177/1040638720948505.
6. Chen Y., Li E. M., Xu L. Y. Guide to metabolomics analysis: A bioinformatics workflow // *Metabolites*. 2022. Vol. 12, No. 4. Article number 357. DOI: 10.3390/metabo12040357.
7. Brscic M., Cozzi G., Lora I., Stefani A. L., Contiero B., Ravarotto L. and Gottardo F. Short communication: Reference limits for blood analytes in Holstein late-pregnant heifers and dry cows: Effects of parity, days relative to calving, and season // *Journal of Dairy Science*. 2015. Vol. 98, No. 11. Pp. 7886–7892. DOI: 10.3168/jds.2015-9345.
8. Kim S., Jung S., Do Y., Jung Y., Choe C., Ha S. et al.. Haemato-chemical and immune variations in Holstein cows at different stages of lactation, parity, and age // *Veterinární medicína Czech*. 2020. Vol. 65, No. 3. Pp. 95–103. DOI: 10.17221/110/2019-VETMED.
9. Guyot H., Legroux D., Epe J., Bureau F., Cannon L., Ramery E. Hematologic and serum biochemical characteristics of Belgian blue cattle // *Veterinary Sciences*. 2024. Vol. 11. No. 5. Article number 222. DOI: 10.3390/vetsci11050222.
10. Štolcová M., Řehák D., Bartoň L., Rajmon R. Blood biochemical parameters measured during the periparturient period in cows of Holstein and Fleckvieh breeds differing in production purpose // *Czech Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 65, No. 5. Pp. 172–181. DOI: 10.17221/99/2020-CJAS.
11. Buryakov N., Aleshin D., Buryakova M., Zaikina A., Nasr M., Nassan M., Fathala M. Productive performance and blood biochemical parameters of dairy cows fed different levels of high-protein concentrate // *Frontiers in Veterinary Science*. 2022. Vol. 9. Article number 852240. DOI: 10.3389/fvets.2022.852240.
12. Le Boedec K. Reference interval estimation of small sample sizes: A methodologic comparison using a computer-simulation study // *Veterinary Clinical Pathology*. 2019. Vol. 48, No. 2. Pp. 335–346. DOI: 10.1111/vcp.12725.
13. Friedrichs K. R. ASVCP reference interval guidelines: determination of *de novo* reference intervals in veterinary species and other related topics // *Veterinary Clinical Pathology*. 2012. Vol. 41, No. 4. P. 441–453. DOI: 10.1111/vcp.12006.
14. Briscic M. Improvement of variables interpretability in kernel PCA // *BMC Bioinformatics*. 2023. Vol. 24. Article number 282. DOI: 10.1186/s12859-023-05404-y.



15. Smith A. K., Ropella G. E. P., McGill M. R., Krishnan P., Dutta L., Kennedy R. C., Jaeschke H., Hunt C. A. Contrasting model mechanisms of alanine aminotransferase (ALT) release from damaged and necrotic hepatocytes as an example of general biomarker mechanisms // *PLOS Computational Biology*. 2020. Vol. 16, No. 6. Article number e1007622. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1007622.

16. Kanoh N. An integrated screening system for the selection of exemplary substrates for natural and engineered cytochrome P450s // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, No. 1. Article number 18023. DOI: 10.1038/s41598-019-54473-8.

17. Puppel K. Comparison of enzyme activity in order to describe the metabolic profile of dairy cows during early lactation // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, No. 17. Article number 9771. DOI: 10.3390/ijms23179771.

18. Alberghina D. Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2011. Vol. 23, No. 1. Pp. 111–114. DOI: 10.1177/104063871102300119.

19. Eckersall P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. California: Elsevier Academic Press. 2008. Pp. 117–155. DOI: 10.1016/B978-0-12-370491-7.00005-2.

20. Калюжный И. И. Щербаков Г. Г., Яшин А. В. Клиническая гастроэнтерология животных: учебное пособие. Санкт-Петербург: Лань, 2022. 448 с.

21. Мороз М. Т., Захаров В. В., Саморуков В. И. Современные технологии повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, улучшения качества животноводческой продукции. Организация биологически полноценного кормления высокопродуктивных коров: учебное пособие. Санкт-Петербург: СПбГАУ, 2023. 110 с.

22. Васильев Ю. Г., Трошин Е. И., Любимов А. И. Ветеринарная клиническая гематология. Санкт-Петербург: Лань, 2022. 656 с.

#### Об авторах:

**Денис Юрьевич Нохрин**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-4920-2338, AuthorID 397913. E-mail: nokhrin8@mail.ru

**Ольга Васильевна Соколова**, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-1169-4090, AuthorID 648613. E-mail: nauka\_sokolova@mail.ru

**Александр Иванович Белоусов**, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-7838-4126, AuthorID 678443. E-mail: white-knight@mail.ru

**Альбина Геннадьевна Исаева**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0001-8395-1247, AuthorID 665717. E-mail: isaeva.05@bk.ru

**Елена Владимировна Мокерова**, начальник отдела по племенной работе АО «Кировское» по племенной работе. ORCID 0009-0007-0149-7214, AuthorID 1087776. Email: risckirov@mail.ru

**Юлия Сергеевна Герасимова**, заместитель генерального директора АО «Смоленское» по племенной работе. ORCID 0009-0003-4341-2769, AuthorID 1257443. Email: plemmolplem@yandex.ru

#### References

1. Andjelić B., Djoković R., Cincović M., Bogosavljević-Bošković S., Petrović M., Mladenović J., Čukić A. Relationships between milk and blood biochemical parameters and metabolic status in dairy cows during lactation. *Metabolites*. 2022; 12 (8): 733. DOI: 10.3390/metabo12080733.

2. Guliński P. Ketone bodies – causes and effects of their increased presence in cows' body fluids: A review. *Veterinary World*. 2021; 14 (6): 1492–1503. DOI: 10.14202/vetworld.2021.1492-1503.

3. Tufarelli V., Puvača N., Glamočić D., Pugliese G., Colonna, M. A. The most important metabolic diseases in dairy cattle during the transition period. *Animals*. 2024; 14: 816. DOI: 10.3390/ani14050816.

5. Tran H., McConville M., Loukopoulos P. Metabolomics in the study of spontaneous animal diseases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020; 32 (5): 635–647. DOI: 10.1177/1040638720948505.

6. Chen Y., Li E. M., Xu L. Y. Guide to Metabolomics Analysis: A Bioinformatics Workflow. *Metabolites*. 2022; 12 (4): 357. DOI: 10.3390/metabo12040357.

7. Brscic M., Cozzi G., Lora I., Stefani A. L., Contiero B., Ravarotto L. and Gottardo F. Short communication: Reference limits for blood analytes in Holstein late-pregnant heifers and dry cows: Effects of parity, days relative to calving, and season. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98 (11): 7886–7892. DOI: 10.3168/jds.2015-9345.

8. Kim S., Jung S., Do Y., Jung Y., Choe C., Ha S. et al.. Haemato-chemical and immune variations in Holstein cows at different stages of lactation, parity, and age. *Veterinární Medicína Czech*. 2020; 65 (3): 95–103. DOI: 10.17221/110/2019-VETMED.
9. Guyot H., Legroux D., Eppe J., Bureau F., Cannon L., Ramery E. Hematologic and Serum Biochemical Characteristics of Belgian Blue Cattle. *Veterinary Sciences*. 2024; 11 (5): 222. DOI: 10.3390/vetsci11050222.
10. Štolcová M., Řehák D., Bartoň L., Rajmon R. Blood biochemical parameters measured during the periparturient period in cows of Holstein and Fleckvieh breeds differing in production purpose. *Czech Journal of Animal Science*. 2020; 65 (5): 172–181. DOI: 10.17221/99/2020-CJAS.
11. Buryakov N., Aleshin D., Buryakova M., Zaikina A., Nasr M., Nassan M., Fathala M. Productive performance and blood biochemical parameters of dairy cows fed different levels of high-protein concentrate. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9: 852240. DOI: 10.3389/fvets.2022.852240.
12. Le Boedec K. Reference interval estimation of small sample sizes: A methodologic comparison using a computer-simulation study. *Veterinary Clinical Pathology*. 2019; 48 (2): 335–346. DOI: 10.1111/vcp.12725.
13. Friedrichs K. R. ASVCP reference interval guidelines: determination of *de novo* reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*. 2012; 41 (4): 441–453. DOI: 10.1111/vcp.12006.
14. Briscik M. Improvement of variables interpretability in kernel PCA. *BMC Bioinformatics*. 2023; 24: 282. DOI: 10.1186/s12859-023-05404-y.
15. Smith A. K., Ropella G. E. P., McGill M. R., Krishnan P., Dutta L., Kennedy R. C., Jaeschke H., Hunt C. A. Contrasting model mechanisms of alanine aminotransferase (ALT) release from damaged and necrotic hepatocytes as an example of general biomarker mechanisms. *PLOS Computational Biology*. 2020; 16 (6): e1007622. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1007622.
16. Kanoh N. An integrated screening system for the selection of exemplary substrates for natural and engineered cytochrome P450s. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 18023. DOI: 10.1038/s41598-019-54473-8.
17. Puppel K. Comparison of enzyme activity in order to describe the metabolic profile of dairy cows during early lactation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (17): 9771. DOI:10.3390/ijms23179771.
18. Alberghina D. Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2011; 23 (1): 111–114. DOI: 10.1177/104063871102300119.
19. Eckersall P. D. *Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. California: Elsevier Academic Press. 2008. Pp. 117–155. DOI: 10.1016/B978-0-12-370491-7.00005-2.
20. Kalyuzhny I. I. Shcherbakov A. V., Yashin G. G. *Clinical Gastroenterology of Animals: a textbook*. Saint Petersburg: Lan', 2022. 448 p. (In Russ.)
21. Moroz M. T., Zakharov V. V., Samorukov V. I. *Modern Technologies for Increasing the Productivity of Farm Animals, Improving the Quality of Livestock Products. Organization of Biologically Complete Feeding of Highly Productive Cows: a textbook*. St. Petersburg: SPbGAU, 2023. 110 p. (In Russ.)
22. Vasil'ev Yu. G., Troshin E. I., Lyubimov A. I. *Veterinary Clinical Hematology*. Saint Petersburg: Lan', 2022. 656 p. (In Russ.)

#### Authors' information:

**Denis Yu. Nokhrin**, candidate of biological sciences, leading researcher, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID 0000-0002-4920-2338, AuthorID 397913. *E-mail: nokhrin8@mail.ru*

**Olga V. Sokolova**, doctor of veterinary sciences, leading researcher, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID 0000-0002-1169-4090, AuthorID 648613. *E-mail: nauka\_sokolova@mail.ru*

**Aleksandr I. Belousov**, doctor of veterinary sciences, leading researcher, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID 0000-0002-7838-4126, AuthorID 678443. *E-mail: white-knight@mail.ru*

**Albina G. Isaeva**, doctor of biological sciences, leading researcher, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia. ORCID 0000-0001-8395-1247, AuthorID 665717. *E-mail: isaeva.05@bk.ru*

**Elena V. Mokerova**, head of department of JSC “Kirovskoe” for breeding work JSC, Kirov, Russia. ORCID 0009-0007-0149-7214, AuthorID 1087776. *Email: riskirov@mail.ru*

**Yuliya S. Gerasimova**, deputy general director of “Smolenskoe” for breeding work JSC, Smolensk, Russia. ORCID 0009-0003-4341-2769, AuthorID 1257443. *Email: plemmolplem@yandex.ru*