

二磷酸组织胺诱发奶牛蹄叶炎病变的病理学研究^{*}

齐长明 王清兰 钟友刚 韩冰 柴文君
(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘要 本文给临床健康, 无蹄病成年奶牛 8 头皮下注射二磷酸组织胺(150 μg/kg 活重), 与对照组 5 头同期比较。给药前和屠宰前测量两组奶牛蹄前壁长度; 屠宰后 33 天, 对两组奶牛蹄真皮及表皮组织的组织学结构及病理学变化进行了观察, 结果显示: 实验组奶牛蹄角质的生长速度明显快于对照组, 屠宰时测量, 两组奶牛蹄前壁的长度差异显著($P < 0.05$)。组织病理学研究表明: 正常蹄表皮组织的角化程度适中, 没有完全角化的小叶远端有隔, 隔由生角质物质及棘细胞、颗粒细胞构成, 不论真皮小叶还是角小叶均无次级小叶。真皮内虽偶有细胞浸润, 但未见血管增生及血栓形成。实验组奶牛角小叶内的隔大部分消失, 表现过度角化。真皮小叶和角小叶有不同程度的分离, 小叶长度增加而宽度变窄。真皮组织最明显的一致性病变是血管的变化: 毛细血管和小静脉明显扩张, 血管内的血栓再通常可见到, 真皮小叶基部及网状层有许多新生毛细血管, 某些血管内有陈旧性血栓, 小动脉数量增多, 管壁增厚十分明显, 表现典型的动脉硬化。真皮小叶基部和毛细血管网周围有单核细胞浸润, 真皮内遍布新生结缔组织和肉芽组织。这些病理学变化与慢性蹄叶炎的特征相一致。本试验对奶牛蹄叶炎的发病机理进行了探索, 为临床防治这一重要疾病提供了科学依据。

关键词 二磷酸组织胺, 奶牛, 蹄叶炎

奶牛蹄叶炎是危害奶牛生产的重要疾病。由于蹄叶炎可导致蹄变形, 蹄底溃疡病及白线病等多种蹄病, 给奶牛生产造成的损失十分巨大, 是近年来国内外蹄病研究的前沿课题。但到目前为止, 在实验研究方面所做的工作较少^[1~4], 奶牛蹄叶炎的病因及发病机理仍不十分清楚。

在诊断方面, 一致认为牛蹄叶炎的确诊应建立在临床观察与实验室诊断相结合的基础上, 尤其有赖于病理学的观察和诊断^[5,6]。

本试验采用二磷酸组织胺(Histamine diphosphate)给牛皮下注射, 探索该物质对蹄角质生长的影响及诱发蹄病的作用, 研究对照组奶牛蹄真皮及表皮的组织学结构及实验牛的病理学变化, 并与蹄叶炎的病理变化相比较, 旨在探索奶牛蹄叶炎的病因及发病机理, 为制定防治方案提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

在同一奶牛场经产奶牛中, 挑选临床健康, 无蹄病的北京黑白花奶牛 13 头, 平均年龄 5.9

^{*} 收稿日期 1999-03-29。

岁,平均胎次 3.5 胎。随机分为实验组 8 头,平均年龄 6.1 岁,平均体重 594 kg;对照组 5 头,平均年龄 5.7 岁,平均体重 619 kg。

1.2 药品

二磷酸组织胺,为白色晶状粉末,中科院上海生防所生产,批号:09226。

1.3 取材

从两组奶牛每个前肢内侧指,后肢外侧趾及部分前肢外侧指、后肢内侧趾各取材 5 块,共从 32 个指(趾)取材 160 块。取材部位为:轴侧壁及远轴侧壁正中各 1 块,球部正中 1 块,指(趾)尖部蹄底 1 块(白线内侧),轴侧与远轴侧壁相交处(峭部)正中 1 块。取材方法是先用削蹄机削去蹄壳表面的厚层角质,再用手锯,凿子等除去多余的角质,然后用手术刀切取组织块,其深度达蹄骨。

1.4 实验方法

1.4.1 指(趾)长度测量:用圆规和尺子测量所有奶牛四肢各指(趾)的长度,即指(趾)背侧正中(峭),从蹄冠至指(趾)尖的距离。于屠宰前(给药后 33 d),再次分别测量各指(趾)长度。

1.4.2 给药方法:实验组奶牛 8 头分别于左侧颈部皮下注射二磷酸组织胺水溶液(浓度为 3 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 150 $\mu\text{g}/\text{kgbw}$;对照组不作任何处理。

1.4.3 切片及染色:所取材料用 10% 福尔马林固定两周,石蜡包埋、切片。切片厚度为 5 μm ,HE、甲苯胺蓝染色后,光镜下观察。(由于 1 头牛临近分娩,病理学试验对照组用 4 头奶牛)。

1.4.4 小叶高度和宽度测量:利用测微尺,对两组奶牛指(趾)部轴侧和远轴侧真皮小叶、角质小叶的高度和宽度进行测量。

1.4.5 生物统计:两组奶牛蹄角质生长速度及小叶高度和宽度均采用二样本均数的差异显著性检验——t 检验法。

2 结果

2.1 两组奶牛指(趾)长度测量结果及差异显著性检验分别见表 1~3。

表 1 实验前两组奶牛蹄前壁长度测量结果
Table 1 The claw lengths of two group cows at the beginning of the test (cm)

牛号 Cow number	左前内	左前外	右前内	右前外	右后内	右后外	左后内	左后外	合计 Total	$\bar{X} \pm \text{SD}$
	Left fore medial claw	Left fore lateral claw	Right fore medial claw	Right fore lateral claw	Right hind medial claw	Right hind lateral claw	Left hind medial claw	Left hind lateral claw		
91091	9.8	8.8	10.3	8.9	9.9	9.0	9.3	9.2	75.2	9.4 \pm 0.54
1454	7.9	7.3	7.4	6.4	7.0	7.5	8.7	7.9	60.1	7.5 \pm 0.57
95194	8.0	7.4	8.5	7.2	7.3	7.7	7.5	7.5	61.1	7.6 \pm 0.43
95010	7.5	7.2	7.5	6.4	8.2	7.2	8.0	7.2	59.2	7.4 \pm 0.55
93003	8.5	8.1	9.2	8.0	7.7	7.4	8.0	8.0	64.9	8.1 \pm 0.54
1256	8.8	7.8	8.8	7.5	8.4	7.6	8.5	7.8	65.2	8.2 \pm 0.53
92020	9.0	8.2	8.9	7.8	7.8	8.1	8.1	7.9	65.8	8.2 \pm 0.47

续表 1

牛号 Cow number	左前内	左前外	右前内	右前外	右后内	右后外	左后内	左后外	合计 Total	$\bar{X} \pm SD$	
	Left fore medial claw	Left fore lateral claw	Right fore medial claw	Right fore lateral claw	Right hind medial claw	Right hind lateral claw	Left hind medial claw	Left hind lateral claw			
91014	8.2	7.4	9.0	7.6	8.1	7.5	7.7	7.4	62.9	7.9 ± 0.55	
合计 Total	67.7	62.2	69.6	59.8	64.4	62.0	65.8	62.8	514.4		
\bar{X}	±8.46	±7.78	±8.70	±7.48	±8.05	±7.75	±8.23	±7.84	±8.04		
±SD	0.73	0.55	0.93	0.83	0.88	0.35	0.68	0.33	0.41		
1677	10.8	9.2	10.4	8.8	9.0	8.9	9.0	9.3	75.4	9.4 ± 0.74	
对照组 Control group	94057	8.0	7.1	8.0	8.2	7.6	7.3	8.0	7.5	61.7	7.7 ± 0.34
95021	8.5	7.5	8.7	8.0	7.5	7.0	7.7	7.0	61.9	7.7 ± 0.64	
95002	7.6	7.1	7.8	7.0	8.0	7.6	7.5	7.2	59.8	7.5 ± 0.35	
94053	8.3	8.6	8.3	8.9	9.0	8.7	9.2	8.9	69.9	8.7 ± 0.33	
合计 Total	43.2	39.2	43.2	40.9	41.1	39.5	41.4	39.9	388.7		
\bar{X}	8.64	7.84	8.64	8.18	8.22	7.90	8.28	7.98	8.21		
±SD	±1.26	±0.95	±1.04	±0.76	±0.74	±0.85	±0.77	±1.04	±0.30		

表 2 屠宰前两组奶牛蹄前壁长度测量结果

Table 2 The claw lengths of two group cows at slaughter

(cm)

牛号 Cow number	左前内	左前外	右前内	右前外	右后内	右后外	左后内	左后外	合计 Total	$\bar{X} \pm SD$	
	Left fore medial claw	Left fore lateral claw	Right fore medial claw	Right fore lateral claw	Right hind medial claw	Right hind lateral claw	Left hind medial claw	Left hind lateral claw			
实验组 Test group	91091	10.5	9.3	10.8	9.5	10.3	9.7	9.5	9.7	79.3	9.9 ± 0.55
1454	8.5	7.3	7.9	7.1	8.0	7.5	7.9	7.8	62.0	7.8 ± 0.43	
95194	8.8	7.9	9.0	7.7	8.2	8.1	8.2	8.2	66.1	8.3 ± 0.31	
95010	7.9	7.0	7.6	7.0	7.5	7.8	8.3	7.7	60.8	7.6 ± 0.44	
93003	8.2	9.5	8.6	9.5	8.1	8.4	7.4	8.4	68.1	8.5 ± 0.71	
1256	9.3	8.5	9.5	8.0	9.2	8.7	9.6	9.8	72.6	9.1 ± 0.62	
92020	9.3	8.4	9.4	8.7	7.9	7.9	8.8	8.5	68.9	8.6 ± 0.56	
91014	9.0	7.8	9.0	8.2	8.2	8.4	8.0	8.2	67.8	8.5 ± 0.47	
合计 Total	71.5	65.7	71.8	65.7	67.4	66.5	67.7	69.3	545.6		
\bar{X}	8.94	8.21	8.98	8.21	8.43	8.31	8.46	8.66	8.5		
±SD	±0.81	±0.88	±0.99	±0.97	±0.90	±0.68	±0.79	±1.04	±0.31		
对照组 Control group	95002	8.0	6.8	7.6	7.0	7.8	7.0	6.9	6.8	58.2	7.3 ± 0.47
94057	6.4	7.5	7.7	7.4	7.8	8.0	8.0	7.0	59.4	7.4 ± 0.55	
95021	8.0	7.5	8.3	7.3	7.3	6.5	7.0	6.2	58.1	7.3 ± 0.66	
1677	9.8	8.4	10.0	8.5	8.4	8.8	8.3	8.4	70.6	8.8 ± 0.68	
94053	8.1	8.1	8.4	8.2	8.8	8.5	8.2	7.9	66.2	8.3 ± 0.28	
合计 Total	40.3	38.3	42.3	38.4	40.1	38.8	38.4	36.3	312.5		
\bar{X}	8.06	7.66	8.46	7.68	8.02	7.76	7.68	7.26	7.81		
±SD	±1.26	±0.95	±1.04	±0.76	±0.74	±0.85	±0.77	±1.04	±0.30		

表 3 两组奶牛指(趾)长度差异显著性检验(Student 氏 t 检验)
Table 3 The differences of claw length between two group cows(Student's t test)

	n	t _{0.05}	t _{0.01}	t _{0.001}	t	P
1 [△]	n ₁ = n ₂ = 64	2.365	3.499	5.405	7.230 ^{**}	< 0.001
2 [△]	n ₁ = n ₂ = 40	2.571	4.032	6.895	4.027 ^{**}	< 0.01
3 [△]	n ₁ = 64 n ₂ = 40	2.201	3.106	4.437	0.675	> 0.05
4 [△]	n ₁ = 64 n ₂ = 40	2.201	3.106	4.437	2.369	< 0.05

注: 1[△]. 实验组实验开始与实验结束相比较。Differences of claw length between test beginning and ending in test group。2[△]. 对照组实验开始与实验结束相比较。Differences of claw length between test beginning and ending in control group。3[△]. 实验开始时实验组和对照组相比较。Differences of claw length between the two groups at test beginning。4[△]. 实验结束时实验组和对照组相比较。Differences of claw length between the two groups at the end of test。

结果表明, 实验开始时两组奶牛蹄前壁的长度没有明显差异, $P > 0.05$, 但实验结束时, 实验组奶牛指(趾)背侧壁的长度极显著增加, $P < 0.001$, 而对照组却相反。从所测数据来看, 实验组 8 头奶牛各指(趾)的长度平均增加了 0.46 cm, 而对照组却减少了 0.72 cm。

2.2 对照牛蹄真皮及表皮组织学观察结果 观察表明, 蹄壁的嵴部, 轴侧面和远轴侧面都有真皮小叶和角质小叶, 相当一部分角小叶的顶端有很多由棘细胞、颗粒细胞以及原纤维形成的隔, 隔上的细胞排列很有规律, 细胞的长轴与角小叶的横径相平行。越靠近角小叶的基部, 小叶的角化程度越高, 细胞成分消失, 成为均质淡染的角蛋白。在真皮小叶基部, 血管较多, 也可见到神经纤维的断端。

球部和蹄底没有真皮小叶和角小叶, 相应层次为真皮乳头。球部的血管分布特别丰富。不论是蹄壁、球部还是蹄底, 未见血管内有血栓形成。

2.3 病理学变化 角小叶边缘的细胞层次减少, 几乎见不到颗粒细胞, 棘细胞减少到一层, 有的部位完全缺失, 许多小叶内隔消失。真皮小叶顶端与角小叶有不同程度的分离, 有的角小叶顶端与真皮也发生分离。在所有病理标本中, 有近 1/3 的角小叶顶端与真皮之间有空隙。血管的病变很明显, 许多血管内积聚大量红色团块状物质, 并有多量具有长梭形核的细胞, 这种情况在远轴侧面和蹄底真皮尤为严重。蹄球和蹄底部血管数量增多, 有许多处于分化状态的新生血管, 血管内血栓机化和血管再通也常可见到, 小动脉管壁明显增厚, 有的发生内膜脱落, 在许多部位, 很多小动脉聚积在一起, 大部分小动脉的管腔非常狭窄。在血管周围往往有较多的细胞浸润, 但很少见到肥大细胞。

未成熟的肉芽组织和纤维组织可在整个真皮区见到, 尤其是蹄底和蹄球更为严重; 在小叶区, 一部分肉芽组织可延伸到小叶内。神经束周围有结缔组织包裹。在血管网周围及真皮小叶基部, 有单核细胞浸润。

对小叶高度及宽度的测量结果表明, 不论是轴侧面还是远轴侧面, 真皮小叶和角小叶的平均高度都有所增加, 但宽度稍有下降, 结果如表 4 所示。

表 4 两组奶牛蹄小叶平均高度及宽度测量结果

Table 4 The average height and width of laminae in two groups (μm)

	对照组 Control group (n= 42)		实验组 Test group (n= 64)	
	轴侧 Axial side $\bar{X} \pm \text{SD}$	远轴侧 Abaxial side $\bar{X} \pm \text{SD}$	轴侧 Axial side $\bar{X} \pm \text{SD}$	远轴侧 Abaxial side $\bar{X} \pm \text{SD}$
小叶高度 Height of laminae	1166 \pm 170	1607 \pm 321	1570 \pm 230	1735 \pm 265
角小叶宽度 Width of epidermal laminae	74 \pm 21	98 \pm 19	58 \pm 18	67 \pm 28
真皮小叶宽度 Width of dermal laminae	173 \pm 42	190 \pm 52	125 \pm 31	134 \pm 47



图 1 角小叶远端的隔(对照牛) HE200 \times
Fig. 1 Septa at the distal part
of epidermal laminae(Control cow)



图 3 血管内有陈旧性血栓 HE100 \times
Fig. 3 Some blood vessels contained
old thrombi

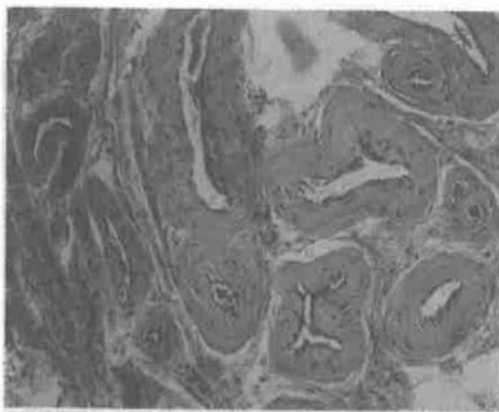


图 2 真皮内血管增多,动脉硬化明显 HE100 \times
Fig. 2 The number of blood vessels
increased and arterial sclerosis
was significant

以上结果表明,在生理状态下,远轴侧的小叶高而宽,轴侧的小叶低而窄。不论是轴侧还是远轴侧,真皮小叶的宽度都大约为角小叶宽度的 2 倍。两组奶牛真皮小叶的高度与角质小

叶的高度基本相等。与对照组相比,实验组奶牛小叶的高度都有所增加,而宽度有所下降,但统计学检验差异均不显著, $P > 0.05$ 。

3 讨论

3.1 关于指(趾)长度的变化 对照组和实验组奶牛在实验开始时,蹄前壁长度并没有明显差异($P > 0.05$),但随着时间的推移,实验组奶牛蹄前壁的长度逐渐增加,而对照组却逐渐减少,33 d后(屠宰),实验组奶牛蹄前壁的长度明显大于对照组($P < 0.05$)。究其原因,无非是角质生长和磨灭这一对矛盾,在统一体中的地位发生了改变。本实验是在冬季进行的,当时平均气温在 0°C 左右,运动场和挤奶通道的地面结冰,由于冰冻,挤奶厅待挤间的水泥地面遭到破坏而凹凸不平,牛蹄和地面的碰撞、磨擦加强,致使蹄角质的磨灭加快,所以对对照组奶牛及牛群中其它奶牛蹄前壁长度变短;而实验组奶牛蹄前壁变长的原因主要是蹄壁角质发生了异常生长,虽然角质的质量较差,磨灭程度不会小于对照组,但由于角质生长速度快,所以在实验结束时,蹄前壁均有程度不等的变长,蹄形也略有改变。

以上推论,被本实验组织病理学所观察到的结果所证实:与对照组相比,实验组奶牛蹄组织发生增生性变化,不论是轴侧还是远轴侧蹄壁,真皮小叶和角小叶都变长,颗粒层和棘细胞层细胞减少,表现过度角化。

慢性蹄叶炎多表现为变形蹄^[7-8],最明显的变化是患病指(趾)变长、变宽,蹄背侧有明显的蹄轮。虽然本实验时间较短,但少数实验牛蹄壁已出现明显的蹄轮,而且大多数动物的蹄壁明显延长,这些都与慢性蹄叶炎的特征相吻合。

3.2 关于健康牛蹄的组织学结构特点 蹄表皮组织的最大特点是轴侧和远轴侧蹄壁有角小叶形成。

在以往文献中,未见关于角小叶远端有隔的描述^[6-8],只有 Maclean 曾提到角小叶内的角蛋白芯,偶而呈分节状^[9]。本研究结果表明,在角小叶的顶端,细胞层次多,细胞数量也多,角化程度低,生角质物质聚集,着色最深;在过渡到隔的部位,开始有成熟的角蛋白出现,与其说有细胞成分的隔将角蛋白芯分隔开,倒不如说形成的角蛋白占据了原来细胞所占据的位置,这样更符合小叶角化过程的发展规律,细胞逐渐老化消失。实际上,隔的存在,表明该部位角化程度较低,在角化程度已经较高的角小叶中部,隔基本消失,取而代之的是角化程度很高的均质淡染的角蛋白。与蹄壁小叶区相比,乳头区的角化速度似乎较慢(细胞层次多,过渡慢),角化程度也较低。

不论蹄壁、蹄底,还是蹄球部的血管内均未见血栓,与 Nilsson^[7]及 Maclean^[9]等观察的结果相一致。

3.3 关于实验牛病理学特点 在蹄壁的表皮层,角质小叶远端生角质物质明显减少,内部的隔大部分消失,取而代之的是角化程度很高的角蛋白,说明表皮的角化程度增高,表现过度角化;同时小叶高度变大,表明小叶也有过度角化及增生性变化;小叶宽度变窄,可能与小叶周围(蹄球及蹄冠部)的结缔组织增生压迫小叶及真皮小叶与角小叶之间出现空隙有关。Maclean 曾提到真皮小叶变宽而角小叶似乎受到压迫而变窄^[9],而我们观察和测量的结果是两者都不同程度变窄。

真皮血管的变化与 Nilsson 和 Maclean 在牛慢性蹄叶炎时所观察的结果相一致。各个部

位的真皮,尤其是蹄底和蹄球的真皮网状层内,血管内存在大量血栓,这些血栓所处阶段不同,少数是典型的红血栓,能较清楚地看到红细胞;绝大多数血栓则处于机化阶段,血栓内出现有梭形核的细胞,血栓皱缩,血管再通,说明病变处于发展中。小动脉数量增多,管壁变得十分肥厚,管腔变窄,有的动脉壁发生分离,这种小动脉的硬化和损伤非常普遍,与 Maclean^[9]及 Andersson^[10]的观察相一致。引起血管损伤的物质可能为组织胺和内毒素,因为有资料表明,毒素或内毒素可以直接作用于血管,引起病变,而组织胺可以通过变态反应,间接引起血管的损害^[11]。

总之,本实验所观察到的小叶连续性遭到破坏,表皮角化过度,真皮小动脉硬化,陈旧性血栓,慢性肉芽组织增殖及毛细血管增生等,与牛慢性蹄叶炎的病变完全一致^[11],说明二磷酸组织胺可诱发奶牛蹄叶炎病变,由于给药 33 d 才宰杀观察,上述病变可能由急性转来。

4 小 结

本研究首次报道黑白花奶牛蹄部角小叶远端有隔存在;二磷酸组织胺可引起奶牛蹄叶炎病变。

参 考 文 献

- 1 Takahashi K, Young B A. Effects of grain over-feeding and histamine injection on physiological responses related to acute bovine laminitis. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 1981, 43: 375~ 385
- 2 Takahashi K, Young B A. Effects of histamine injections on physiological responses to laminitis in cattle exposed to warm and cold temperatures. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 1981, 43: 261~ 265
- 3 Singh S S, et al. Gross and histopathological study of endotoxin induced hoof lesions in cattle. *Journal of Comparative Pathology*, 1994, 2: 103~ 115
- 4 Boosman R, et al. Bovine laminitis: Histopathologic and arteriographic aspects and its relation to endotoxaemia. *Veterinary Quarterly*, 1991, 3: 155~ 162
- 5 陈家璞. 牛蹄叶炎. *中国兽医杂志*, 1986, 12(10): 44~ 46
- 6 Greenough P R, et al. Laminitis-like changes in the claws of feedlot cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 1990, 31: 202~ 208
- 7 Nilsson S A. Clinical, morphological and experimental studies of laminitis in cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica (Suppl)*, 1963, 4: 9
- 8 Boosman R, et al. Bovine laminitis: clinical aspects, pathology and pathogenesis with reference to acute equine laminitis. *The Veterinary Quarterly*, 1991, 13(3): 163~ 169
- 9 Maclean C W. The histopathology of laminitis in dairy cows. *J Comp Pathol*, 1971, 81: 563~ 570
- 10 Andersson H, et al. Pathology of bovine laminitis especially as regards vascular lesions. *Acta Vet Scand*, 1980, 21: 559~ 566
- 11 汪世昌, 陈家璞, 张幼成主编. *家畜外科学*. 农业出版, 1992, 540~ 543

EXPERIMENTAL STUDIES ON HISTAMINE DIPHOSPHATE INDUCED LAMINITIC PATHOLOGICAL CHANGES IN DAIRY COWS

Qi Changming, Wang Qinglan, Zhong Yougang, Han Bing, Chai Wenjun
(College of Veterinary Medicine, China
Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract

The animal experiment (8 cows in the test group, 5 cows in the control group) was undertaken to determine the effects of histamine diphosphate injection (150 µg/kgbw) on physiological responses related to laminitis. The results indicated that the growth rate of hoof horn was greater in experiment animals than that in control dairy cows, at slaughter, the difference of length at anterior wall of the claw between two groups were significant ($P < 0.05$).

Studies on histopathology of corium and epidermis of the foot indicated that cornification degree of epidermal laminae in normal animal was moderate. There were some septa within distal one third of epidermal laminae which were not completely cornified. The septa consisted of onychogenic substance and cells originated from stratum spinosum and stratum granulosum. Neither epidermal laminae nor dermal laminae had secondary laminae. No hyperplasia of blood vessels and thrombosis were observed though cellular infiltration could be seen occasionally. In the experimental group, however, most septa in the epidermal laminae which showed hyperkeratinization disappeared, some separations had occurred between epidermal laminae and dermal laminae. The most distinct and identical pathological process was dominated by vascular changes. Dilation of capillaries and venules was very prominent. Recanalisation of antecedent thrombosis was common and many new capillaries were present in the area of reticular layer and at the base of dermal laminae, some blood vessels contained old thrombi. The number of vessels of arterioles increased and the walls of them were thickened apparently that was the evidence of arterio sclerosis. Mononuclear cell infiltration was present at the base of the dermal laminae and around the vascular plexuses. New connective tissue and granulation tissue were present throughout the corium, Those pathological changes were identical to the characteristics of chronic laminitis.

Key words Histamine diphosphate, Dairy cow, Laminitis