

Zaburzenia ureagenezy u krów we wczesnym okresie poporodowym

MAREK GEHRKE, HANNA MARKIEWICZ, EDWARD MALINOWSKI

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Gehrke M., Markiewicz H., Malinowski E.

Ureagenesis disturbances in cows in the early puerperal period

Summary

The aim of the study was to determine the relationship between the values of the percentage ratio of ammonia nitrogen to urea nitrogen ($\%N-NH_3:N-CO(NH_2)_2$) and other liver function indices and metabolism disorders in cows. The study was carried out in five farms and included 41 dairy cows, both primiparous and multiparous, aged 3-8 years. The average milk production of multiparous cows in previous lactation was 9122 kG milk/305 days. Blood samples for examination were collected twice between 0-30 days after parturition. Concentrations of free fatty acids (FFA), triglycerides (TG), aspartate aminotransferase (AspAT), total cholesterol (Chol), glucose (Glu), urea nitrogen ($N-CO(NH_2)_2$) in serum and ammonia (NH_3) in plasma were determined. It was discovered that an increase in AspAT activity ($AspAT > 106$ IU/L) in serum during the first days after parturition is significantly related to the occurrence of diseases of metabolic origin. Higher values of $\%N-NH_3:N-CO(NH_2)_2$ index ($p < 0.05$) were in ≈ 3 lactations cows with an increased AspAT activity. A significant correlation was observed between $\%N-NH_3:N-CO(NH_2)_2$ and NH_3 ($r = 0.76$ $p < 0.001$) and $N-CO(NH_2)_2$ concentrations ($r = -0.60$ $p < 0.001$) compared with a lack of relationship between $N-CO(NH_2)_2$ and NH_3 ($r = -0.02$ $p > 0.05$). The ureagenesis disturbances were three times more frequent in older cows (≈ 3 lactation). The cows with an increased AspAT serum activity (> 106 IU/L) and $\%N-NH_3:N-CO(NH_2)_2$ index value ($> 0.73\%$) demonstrated higher concentrations of NH_3 and lower concentrations of $N-CO(NH_2)_2$ in the blood ($p < 0.05$). The obtained results indicate that an increase of $\%N-NH_3:N-CO(NH_2)_2$ coincides with the direction of biochemical blood indice changes characteristic for excessive lipid mobilization. However the evaluation of the ureagenesis disturbances and the dangers of ammonia accumulation in blood is possible only on the basis of NH_3 and $N-CO(NH_2)_2$ assessment in blood.

Keywords: cows, liver, blood, ureagenesis

Nadmierna podaż białka w żywieniu krów mlecznych prowadzi do wzrostu zachorowalności (porażenie poporodowe, zatrzymania łożyska, choroby wątroby, ketoza, mastitis, metritis) i obniżonej płodności krów, niezależnie od strat wynikających ze zwiększonych kosztów paszy (1, 7, 18, 23, 24, 32). Kluczowym ogniwem łączącym zaburzenia płodności w stadach krów mlecznych z podażą białka w dawkach pokarmowych jest nadprodukcja amoniaku w przedżołądkach (8, 15, 16, 30). Nieprzystosowanie flory żwacza we wczesnym okresie poporodowym do podwyższonej zawartości białka i łatwo strawnych węglowodanów w paszy może być przyczyną zaburzeń żwaczowego metabolizmu azotu. Ujemny bilans energii i nasilenie przemian katabolicznych po porodzie prowadzą do wzmożonej lipolizy i kumulacji trójglicerydów w wątrobie (2, 4, 13). Wobec niedostatecznej ilości propionianu ma miejsce wzmożenie przemian związanych z pozyskiwaniem innych substratów na potrze-

by glukoneogenezy z alternatywnych źródeł energii, między innymi z aminokwasów (2, 13, 14).

W badaniach *in vitro* stwierdza się zaburzenia ureagenezy w hepatocytach hodowanych w mediach o podwyższonej zawartości kwasów tłuszczowych, a także w komórkach wątroby przeżuwaczy i zwierząt monogastrycznych, u których do stłuszczenia doszło *in vivo* (22, 33, 36, 37). Wielu autorów podkreśla, że obniżenie wskaźników reprodukcyjnych u krów pobierających duże ilości białka we wczesnej laktacji jest skutkiem nakładów energetycznych ponoszonych przez organizm na metabolizowanie amoniaku – produktu przemian związków azotowych w żwaczu (10, 17). Zmniejszona wydajność ureagenezy i kumulacja NH_3 we krwi może mieć związek z zachorowaniami związanymi z okołoporodowym stłuszczeniem wątroby i ich przebiegiem. Może też wywierać wpływ na oocyty w pęcherzykach przedantralnych oraz będących w późniejszych stadiach rozwoju.

Celem badań było określenie wydajności wątrobowej konwersji amoniaku do mocznika *in vivo* u krów w okresie poporodowym i jej związku ze wskaźnikami funkcji wątroby oraz zaburzeń przemian energetycznych, a także ocena wielkości kumulacji NH_3 we krwi.

Material i metody

Obserwacje prowadzono w pięciu gospodarstwach o wielkości stada 160-300 krów. Łącznie badaniami objęto 41 krów mlecznych, w tym 6 pierwiastek i 35 wieloródek w wieku 3-8 lat. Przeciętna wydajność mleczna krów wieloródek w laktacji poprzedzającej badania wynosiła 9122 kg mleka/305 dni. Krowy utrzymywano w oborach wolnostanowiskowych i wiązanych, w których zwierzęta karmiono dwukrotnie w ciągu doby (7^{00} - 8^{00} i 14^{00} - 15^{00}), stosując mieszanki pełnoskładnikowe (TMR-total mixed ratio) lub częściowo wymieszane (SMR-semi mixed ratio), gdzie uzupełniającą dawkę paszy treściwej zadawano osobno. W okresie 10 dni przed do 10-14 dni po porodzie stosowano płynne bądź granulowane dodatki z glikolem propylenowym. W związku z wysokim udziałem śrut zbożowych, dawki uzupełniano dodatkiem 100-250 gramów NaHCO_3 /szt./dzień.

Krowy chore z objawami niestrawności (utrata łaknienia, ubytek masy ciała, spadek wydajności mlecznej, biegunka), w zależności od możliwości gospodarstwa, żywno osobno z dużym udziałem siana i suchych wysłódków buraczanych.

Krew do badań pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej używając probówek podciśnieniowych – Vacuette[®], przed porannym karmieniem, dwukrotnie, tj. między 1.-13. i 14.-30. dniem po porodzie. Surowicę po odwirowaniu (3000 G) przechowywano w stanie zamrożenia (-20°C) do momentu wykonania oznaczeń (ok. 7 dni). Badanie biochemiczne próbek obejmowało oznaczenia wskaźników profilu metabolicznego – glukozy (Glu), wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), cholesterolu całkowitego (Chol), triglicerydów (TG), aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), białka całkowitego (Biał), azotu mocznika ($\text{N-CO}(\text{NH}_2)_2$) w surowicy krwi w obydwu pobraniach oraz amoniaku (NH_3) w próbkach z drugiego badania, tj. między 14.-30. dniem po porodzie. NH_3 oznaczano bezpośrednio po odwirowaniu osocza. Analizy wykonano w oparciu o standardowe zestawy odczynników firmy Alpha-Diagnostics – Polska (Glu, Chol, TG, AspAT, Biał, $\text{N-CO}(\text{NH}_2)_2$) i Thermo-Trace Ltd. – Australia (NH_3), z wyjątkiem wolnych kwasów tłuszczowych oznaczanych metodą chemiczną (12).

Badania statystyczne obejmowały analizę wariancji i podział średnich na grupy jednorodnych testem Tukeya, analizę korelacji i regresji liniowej, a także analizę danych metodami oceny nieliniowej (regresja logistyczna). Wszystkie analizy przeprowadzono w oparciu o pakiet statystyczny Statistica – Stat-Soft[®] Polska.

Wyniki i omówienie

W tab. 1 porównano rzeczywisty stan zdrowia krów z prognozą zachorowania na podstawie stężenia AspAT w surowicy w pierwszych 13 dniach po porodzie. Wartość graniczną stężenia AspAT dla badanej grupy

Tab. 1. Prognoza zachorowania na podstawie stężenia AspAT w surowicy w stosunku do rzeczywistego stanu zdrowia krów po porodzie wg modelu funkcji logistycznej: $P(y) = e^{[\beta_0 + \beta_1 x]} / [1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 x)}]$ (n = 41)

Przewidywane	zdrowe		chore**		razem	
	n	%	n	%	n	%
Obserwowane zdrowe	22	88,2	2	11,8	24	100
chore**	2	8,3	15	91,7	17	100
OR***	82,5					

Objaśnienia: * $P(y)$ – prawdopodobieństwo zachorowania, e – euler, β_0 , β_1 – współczynniki regresji, x – AspAT w IU/L, postać funkcji: $P(y) = e^{[-14,5013 + 0,1393x]} / [1 + e^{(-14,5013 + 0,1393x)}]$ ($p < 0,001$), gdzie $P(y) = 0$ (zdrowe) i $P(y) = 1$ (chore), $P(y) > 0,5$ gdy $x > 106$ IU/L; ** – krowy, u których w pierwszych 30 dniach po porodzie stwierdzono przynajmniej jeden z objawów: utratę łaknienia, szybko postępujące wychudzenie i/lub spadek wydajności mlecznej; *** – OR (odds ratio) – iloraz szans

krów (n = 41) obliczono w oparciu o analizę regresji logistycznej, przyjmując za chore zwierzęta, u których w pierwszych 30 dniach po porodzie stwierdzono przynajmniej jeden z objawów tj.: utratę łaknienia, szybko postępujące wychudzenie i/lub spadek wydajności mlecznej. Po ocenie współczynników metodą największej wiarygodności funkcja miała postać $P(y) = e^{[-14,5013 + 0,1393 * x]} / [1 + e^{(-14,5013 + 0,1393 * x)}]$ (gdzie e – euler, x – stężenie AspAT w IU/L, przy założeniu, że $P(y_{\text{zdrowe}}) = 0$, $P(y_{\text{chore}}) = 1$) i była statystycznie istotna ($p < 0,001$). Ponieważ wartość krytyczna funkcji $P(y_{\text{zdrowe}}) \leq 0,5$, gdy $x \leq 106$ IU/L AspAT przyjęto, że zwierzęta chore to te, dla których $x > 106$ IU/L AspAT. Jak wynika z tab. 1, funkcja prawidłowo przewiduje 37/41 przypadków tj.: 90,2%, a iloraz szans (OR – odds ratio) wyniósł 82,5. Oznacza to, że szansa uznania zwierzęcia za chore na podstawie wyniku badania stężenia AspAT jest 82,5-krotnie wyższa niż zakwalifikowania do grupy zwierząt zdrowych krowy chorej.

W tab. 2 przedstawiono wartości wskaźników biochemicznych krwi krów w grupach zróżnicowanych stężeniem AspAT w surowicy krwi a liczbą przebytych laktacji. Wynika z niej, że u krów z podwyższonym stężeniem AspAT stwierdza się wyższe wartości wskaźnika $\% \text{N-NH}_3 : \text{N-CO}(\text{NH}_2)_2$, jednak tylko w grupie ≥ 3 laktacji różnica była statystycznie istotna. U krów starszych z podwyższonym stężeniem AspAT potwierdzono statystycznie również wyższe stężenia WKT w stosunku do krów w pierwszej i drugiej laktacji ze stężeniem AspAT poniżej 106 IU/L. Z analizy korelacyjnej (dane nie zamieszczone w tabelach) wynika, że zmiany stężeń NH_3 w osoczu nie były skorelowane ze stężeniem azotu mocznika ($r = -0,0155$ $p > 0,05$), jednak obydwa parametry istotnie kształtowały wielkość wskaźnika $\% \text{N-NH}_3 : \text{N-CO}(\text{NH}_2)_2$ (r dla $\text{N-CO}(\text{NH}_2)_2 / \% \text{N-NH}_3 : \text{N-CO}(\text{NH}_2)_2 = -0,6033$ $p < 0,001$; r dla $\text{N-NH}_3 / \% \text{N-NH}_3 : \text{N-CO}(\text{NH}_2)_2 = 0,7598$ $p < 0,001$). Wartości $\% \text{N-NH}_3 : \text{N-CO}(\text{NH}_2)_2$ były

Tab. 2. Zmienność wskaźników biochemicznych krwi w grupach krów zróżnicowanych stężeniem AspAT i liczbą przebytych laktacji ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	AspAT* (IU/L)	WKT* (uEq/L)	Glu** (mM/L)	TG* (mg/dL)	Chol** (mM/L)	Biał. cał.** (g/L)	NH ₃ ** (ug/dL)	N-CO(NH ₂) ₂ ** (mg/dL)	N-NH ₃ : N-CO(NH ₂) ₂ ** (%)
zdrowe < 3 laktacji*** n = 13	73 ± 12 ^a	257 ± 124 ^a	3,03 ± 1,08	7,1 ± 2,4	3,6 ± 1,2	76 ± 7	77 ± 20	11,9 ± 4,0	0,57 ± 0,19 ^a
chore < 3 laktacji**** n = 8	143 ± 42 ^b	350 ± 171 ^{ab}	2,78 ± 0,80	7,1 ± 2,0	2,7 ± 1,3	78 ± 14	88 ± 30	10,2 ± 1,8	0,75 ± 0,37 ^{ab}
zdrowe ≥ 3 laktacji*** n = 11	87 ± 18 ^a	465 ± 232 ^{ab}	3,01 ± 0,41	8,5 ± 5,4	4,0 ± 1,4	85 ± 12	67 ± 14	11,6 ± 2,7	0,50 ± 0,15 ^a
chore ≥ 3 laktacji**** n = 9	153 ± 68 ^b	562 ± 223 ^b	2,82 ± 0,61	7,9 ± 4,3	2,9 ± 1,0	78 ± 9	96 ± 39	8,6 ± 2,6	0,98 ± 0,47 ^b

Objaśnienia: a,b – średnie różnią się statystycznie – $p < 0,05$; * – wyniki badania krwi między 0.-13. dniem po porodzie; ** – wyniki badania krwi między 14.-30. dniem po porodzie; *** – ze stężeniem AspAT ≤ 106 IU/L; **** – ze stężeniem AspAT > 106 IU/L

ujemnie skorelowane ze stężeniem Chol ($r = -0,4862$ $p < 0,02$). Wykazano, że wzrost stężeń N-CO(NH₂)₂ był proporcjonalny do stężenia Chol ($r = 0,3844$ $p < 0,02$) i TG ($r = 0,4343$ $p < 0,01$), a spadek zawartości NH₃ w osoczu postępował wraz ze wzrostem stężeń Chol ($r = -0,3856$ $p < 0,02$).

W tab. 3 przedstawiono odsetek krów, które na podstawie wartości %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ uznano za wykazujące zaburzenia ureagenezy. Podobnie jak w przypadku szacowania wartości granicznej stężenia AspAT, wartość krytyczną wskaźnika %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ obliczono w oparciu model regresji logistycznej. W tym przypadku kryterium rozstrzygającym o zakwalifikowaniu krowy do grupy zwierząt chorych i zdrowych była krytyczna wartość stężenia AspAT. Funkcja $P(y) = e^{-3,2854 + 4,4842 \cdot x} / [1 + e^{-3,2854 + 4,4842 \cdot x}]$ (gdzie e – euler, x – %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂, przy założeniu – $P(y_{\text{AspAT} = 106 \text{ IU/L}}) = 0$ a $P(y_{\text{AspAT} > 106 \text{ IU/L}}) = 1$) była statystycznie istotna ($p < 0,001$). W tych warunkach $P(y) > 0,5$ charakteryzuje krowy z zaburzeniami ureagenezy i wartościami wskaźnika %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ powyżej 0,73%. Z analizy klasyfikacji przypadków (tab. 3) wynika, że funkcja prawidłowo przewiduje 29/41 przypadków, tj. 70,7%. Wyliczona wartość ilorazu szans (OR = 5,6)

wskazuje, że w grupie krów z podwyższonym stężeniem AspAT niewydolność ureagenezy, której wykładnikiem jest wartość wskaźnika %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂, pojawia się 5,6 razy częściej niż w grupie krów ze stężeniem AspAT poniżej 106 IU/L. Stwierdzono, że 52,9% krów z podwyższoną surowiczą aktywnością AspAT cechował wzrost wartości wskaźnika %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂, z czego 77,8% przypadków obserwowano u zwierząt powyżej trzeciej laktacji. Podsumowanie wyników analiz przedstawione w tab. 4, uwzględ-

Tab. 3. Odsetek krów ze stężeniem AspAT > 106 IU/L wykazujących zaburzenia ureagenezy

Grupa	%N-NH ₃ : N-CO(NH ₂) ₂			
	$\leq 0,73\%^*$		$> 0,73\%^*$	
	n	%	n	%
< 3 laktacji (n = 8)	6	75,0	2	25,0
≥ 3 laktacji (n = 9)	2	22,2	7	77,8
razem	8	47,1	9	52,9

Objaśnienia: * – wartość graniczną %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ obliczono w oparciu o analizę regresji logistycznej: $P(y) = e^{-3,2854 + 4,4842 \cdot x} / [1 + e^{-3,2854 + 4,4842 \cdot x}]$, gdzie e – euler, $P(y_{\text{AspAT} \leq 106 \text{ IU/L}}) = 0$, $P(y_{\text{AspAT} > 106 \text{ IU/L}}) > 1$ a x – %N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂, $P(y) > 0,5$ gdy $x > 0,73\%$

Tab. 4. Zmienność wskaźników biochemicznych krwi w grupach krów zróżnicowanych stężeniem AspAT i zaburzeniami ureagenezy ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	AspAT* (IU/L)	WKT* (uEq/L)	Glu** (mM/L)	TG* (mg/dL)	Chol** (mM/L)	Biał. cał.** (g/L)	NH ₃ ** (ug/dL)	N-CO(NH ₂) ₂ ** (mg/dL)	N-NH ₃ : N-CO(NH ₂) ₂ ** (%)
Zdrowe*** n = 24	77 ± 13 ^a	336 ± 203	3,01 ± 0,86	7,3 ± 3,5	3,6 ± 1,2	80 ± 11	74 ± 18 ^a	11,7 ± 3,5 ^a	0,55 ± 0,18 ^a
Chore**** n = 8	152 ± 50 ^b	454 ± 213	2,63 ± 0,80	9,9 ± 2,8	3,3 ± 1,5	76 ± 11	74 ± 10 ^a	11,6 ± 1,2 ^a	0,53 ± 0,08 ^a
Chore z zaburzeniami ureagenezy***** n = 9	141 ± 61 ^b	475 ± 232	3,04 ± 0,49	6,1 ± 3,8	2,7 ± 1,1	80 ± 11	108 ± 41 ^b	7,7 ± 1,9 ^b	1,16 ± 0,40 ^b

Objaśnienia: a, b – średnie różnią się statystycznie – $p < 0,05$; * – wyniki badania krwi między 0.-13. dniem po porodzie; ** – wyniki badania krwi między 14.-30. dniem po porodzie; *** – ze stężeniem AspAT ≤ 106 IU/L; **** – ze stężeniem AspAT > 106 IU/L i wskaźnikiem N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ $\leq 0,73\%$; ***** – ze stężeniem AspAT > 106 IU/L i wskaźnikiem N-NH₃ : N-CO(NH₂)₂ $> 0,73\%$

nijące wartości graniczne dla aktywności AspAT i wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ sugeruje, że zaburzenia ureagenezy znajdują potwierdzenie w obniżonych stężeniach $N-CO(NH_2)_2$ oraz wzroście stężeń NH_3 we krwi. Ich identyfikowanie na podstawie innych wskaźników biochemicznych krwi w okresie poporodowym jest jednak niemożliwe.

W niewielu publikacjach jest poruszana problematyka wpływu stłuszczenia wątroby u krów na efektywność mechanizmów odpowiedzialnych za detoksykację amoniaku *in vivo*. Z badań Zhu i wsp. (36) wynika, że kilkanaście godzin po porodzie obserwuje się wzrost wartości wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$, które w czasie 35 dni ulegają obniżeniu do tych, jakie obserwuje się w 27. dniu przed porodem. W tym samym czasie następuje wyraźny wzrost stężenia NH_3 przy niewielkich zmianach stężeń mocznika we krwi. Autorzy sugerują, że wzrost stężenia amoniaku, wartości wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ i glutaminy we krwi, przemawiający za zaburzeniami ureagenezy, jest skutkiem nadmiernego gromadzenia tłuszczu w komórkach wątrobowych.

Za powiązaniem zmian stężeń NH_3 , $N-CO(NH_2)_2$ i wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ z patologią wątroby przemawia zbieżność z kierunkiem przemian monitorowanych badaniem stężeń AspAT, WKT, triglicerydów i cholesterolu w surowicy, charakterystycznych dla zespołu nadmiernej mobilizacji tłuszczu i towarzyszących zaburzeń metabolicznych (5, 10, 27, 29). Wyniki badań nad surowiczą aktywnością AspAT w powiązaniu z wartościami wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ stanowią wkład do dyskusji nad przydatnością oznaczeń tego enzymu do oceny stopnia uszkodzenia i zaburzeń czynnościowych wątroby. Z obserwacji własnych wynika, że oznaczanie enzymu w surowicy krwi u krów w pierwszych dniach po porodzie ma dużą wartość prognostyczną odnośnie do wystąpienia choroby. Dyskusyjne pozostaje jednak znaczenie enzymu w ocenie zaburzeń czynnościowych wątroby, ponieważ wzrost wartości wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ stwierdzono tylko w połowie stawki zwierząt z podwyższoną aktywnością AspAT w surowicy.

Krytycznym momentem w ocenie zaburzeń ureagenezy w grupach krów w zależności od liczby przebytych laktacji pozostaje dobór kryterium rozstrzygającego o stopniu narażenia krów na aktualne i, być może, retrospektywne skutki nadmiernej infiltracji tłuszczowej wątroby. Szacuje się, że ok. 25% białka ustrojowego – głównie mięśni, stanowi rezerwę, która w laktacji może być mobilizowana przez krowy na pokrycie zapotrzebowania na białko i/lub przemianę pośrednią, głównie potrzeby energetyczne (2). Cytując za Zurek i wsp. (38), zmiany surowiczej aktywności AspAT są wykładnikiem aktywności glukoneogenezy w stanach wzmożonego katabolizmu ustrojowego obserwowanego w głodówce, cukrzycy, stresie hipotermicznym czy po podaniu glikokortykoidów lub glu-

kagonu. Wzrost stężenia AspAT w surowicy obserwuje się również w warunkach niebilansowania aminokwasów w diecie. Głównie jednak związek surowiczej aktywności AspAT ze zmianami stężeń 3-metylohistydyny w okresie poporodowym, będącej wykładnikiem stopnia degradacji białka mięśniowego oraz jej korelacja z ustrojowym bilansem energii u krów w okresie okołoporodowym przemawia za rozpatrywaniem zmian aktywności AspAT w surowicy po porodzie również jako wskaźnika nasilenia katabolizmu białka (7, 14, 24, 38). Powszechnie uznawany związek okołoporodowego wzrostu aktywności AspAT z uszkodzeniami strukturalnymi hepatocytów w następstwie lipidozy wydaje się dyskusyjny w świetle wyników badań *in vivo* nad dynamiką kumulacji triglicerydów po porodzie (19). O dużym tempie infiltracji hepatocytów tłuszczem w pierwszych dniach po porodzie można wnioskować tylko wtedy, gdy wielkość kumulacji triglicerydów jest wyrażana w przeliczeniu na suchą masę tkanki. Taki sposób oceny jest obciążony błędami wynikającymi ze zmiennej zawartości chemicznych składników komórek wątrobowych w tym okresie (26). Bardziej informatywna wydaje się ocena zawartości triglicerydów w stosunku do ilości komórkowego DNA, który stanowi zaledwie 1% chemicznych komponentów komórki, tym bardziej, że jego ilość – wyłączając procesy nowotworzenia, nie podlega dużej zmienności. Przyjmując taki sposób wyrażania ilości triglicerydów w komórkach wątrobowych, obserwuje się znacząco wolniejsze i proporcjonalne w czasie tempo infiltracji lipidami, którego maksimum przypada na 28. dzień po porodzie. Można więc przypuszczać, że okołoporodowy wzrost stężenia AspAT w surowicy nie musi być wyłącznie skutkiem strukturalnych uszkodzeń hepatocytów spowodowanym gwałtowną kumulacją tłuszczu. Nie wyklucza to jednak wpływu wątrobowej frakcji AspAT na surowiczą aktywność aminotransferazy, wynikającego z intensywności transaminacji związanej z katabolizmem aminokwasów w tym narządzie, jego znaczenia w detoksykacji amoniaku i zmian przepuszczalności błony komórkowej hepatocytów (cyt. 5). Za ograniczoną przydatnością diagnostyczną oznaczania AspAT w surowicy krwi w diagnostyce stłuszczenia wątroby przemawiają prace wielu autorów (6, 25, 31). Nie neguje to jednak wyników badań potwierdzających związek podwyższonej aktywności AspAT z występowaniem zespołu nadmiernej mobilizacji tłuszczu, podkreślając raczej znaczenie prognostyczne tego enzymu odnośnie do nasilenia procesów katabolicznych i ryzyka wystąpienia lipidozy wątroby w następstwie lipolizy (9, 21, 28, 29).

Podobne wnioski nasuwają się po analizie wyników badań własnych, w których na szczególną uwagę zasługuje zróżnicowanie stężeń WKT oraz różnice w stężeniach NH_3 , $N-CO(NH_2)_2$ i wartościach wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ w grupach różniących się liczbą przebytych laktacji (tab. 2). Stężenie WKT we krwi

po porodzie jest proporcjonalne do wielkości depozytu tłuszczu i niedoboru energii, a stopień sfuszczenia wątroby zależy od czasu ekspozycji na podwyższone stężenie WKT i ilości związków glukoplastycznych (20, 27). Ocena wydajność w populacji krów mlecznych wskazuje, że szczyt produkcyjności w przeliczeniu na 305 dni laktacji przypada na trzecią laktację. Przyjmując standardowy przebieg krzywej laktacji i stopień rozwoju fizycznego zwierząt – decydujący o ich masie, zapotrzebowanie na energię jest największe dopiero po drugiej laktacji. Brak statystycznego potwierdzenia różnic w stężeniach WKT, glukozy, cholesterolu oraz u „młodych” krów $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ między grupami zależnie od nasilenia przemian katabolicznych (AspAT > 106 IU/L), może odzwierciedlać duże różnice w kondycji zwierząt. Niewątpliwie wielkość depozytu tkanki tłuszczowej u krów przed porodem oraz tempo utraty kondycji w pierwszych tygodniach laktacji stanowią lepsze kryterium zagrożenia infiltracją hepatocytów triglicerydami niż pojedynczy, wykonany w różnym czasie pomiar stężenia WKT we krwi. Maksymalne stężenie WKT obserwuje się najpóźniej 24-72 godz. po porodzie. Następnie stopniowo obniża się, przy czym dynamika spadku zależna jest w dużym stopniu od bilansu między zapotrzebowaniem na energię a stopniem jej pokrycia z energii dawki pokarmowej i wielkości depozytu energii w tkance tłuszczowej (19, 20, 34). W badaniach własnych wielkości oznaczonych stężeń WKT stanowią średnie z badania między pierwszym a trzynastym dniem po porodzie, stąd też są niższe od cytowanych w piśmiennictwie. Wyższe stężenia WKT u krów z podwyższonymi wartościami AspAT sugerują ich istotny wpływ na zagrożenie nadmiernym odkładaniem tłuszczu w wątrobie. Potwierdzają to wyniki badań nad dynamiką kumulacji triglicerydów w wątrobie, z których wynika, że gromadzenie tłuszczu w hepatocytach często poprzedza poród i trwa nawet do czterech tygodni po porodzie (20). Pomimo braku różnic w stężeniach WKT w 14.-30. dniu laktacji (ze względu na brak statystycznego zróżnicowania dane nie zostały zamieszczone w tabelach), niższe stężenie glukozy we krwi w tym okresie u krów z podwyższoną w surowicy krwi aktywnością AspAT po porodzie (tab. 2) przemawia za upośledzeniem glukoneogenezy.

W świetle przedstawionych badań, biorąc pod uwagę skuteczność prognozy odnośnie do klinicznej manifestacji choroby, przydatność diagnostyczna oznaczania AspAT nie budzi wątpliwości. Nie wnosi jednak informacji o wydolności wątroby w zakresie ureagenezy, której wykładnikiem była wartość wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$. Wobec braku oceny kondycji nie można wnioskować o przyczynie niższego odsetka przypadków z zaburzeniami ureagenezy w grupie krów młodszych. Chociaż niższe stężenia WKT w tej grupie krów przemawiają za mniejszym prawdopodobieństwem wystąpienia lipidozy wątroby,

to jednak większy procentowy udział przypadków z podwyższoną wartością wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ u zwierząt starszych nie wyklucza rozpatrywania zaburzeń czynnościowych wątroby w kontekście kumulacji skutków jej patologii towarzyszących kolejnym laktacjom. Zasadność takiego wnioskowania podkreśla fakt, że w grupie krów młodszych, tj. do drugiej laktacji, notowano przypadki z wartościami stężeń AspAT w surowicy powyżej 160 IU/L, a więc zbliżonymi do tych, które obserwuje się u krów w przebiegu klinicznej postaci zespołu nadmiernej mobilizacji tłuszczu, prowadzącej zwykle do znacznego wychudzenia, spadku mleczności i brakowania lub padnięcia (21). Pomimo wysokiej aktywności AspAT w surowicy, u tych zwierząt nie odnotowano istotnego wzrostu wartości wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$.

Związek wartości wskaźnika $\%N-NH_3 : N-CO(NH_2)_2$ z kierunkiem zmian wskaźników biochemicznych krwi, charakterystycznym dla zespołu nadmiernej mobilizacji lipidów sugeruje, że badany wskaźnik jest istotnym kryterium wnioskowania o zaburzeniach funkcji wątroby. O wielkości zaburzeń ureagenezy i stopniu potencjalnego zagrożenia skutkami hiperamonemii można jednak wnioskować wyłącznie na podstawie bezpośredniego oznaczenia NH_3 i $N-CO(NH_2)_2$ we krwi.

Piśmiennictwo

1. Barton B. A., Rosario H. A., Anderson G. W., Grindle B. P., Carroll D. J.: Effects of dietary crude protein, breed, parity and health status on the fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1996, 79, 2225-2236.
2. Bell A. W.: Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 1995, 73, 2804-2819.
3. Bell A. W., Burhans W. S., Overton T. R.: Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *Proc. Nutr. Soc.* 2000, 59, 119-126.
4. Bobe G., Young J. W., Beitz D. C.: Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004, 84, 3105-3124.
5. Bronicki M.: Zaburzenia przemiany tłuszczowej u krów w okresie okołoporodowym. Wartość prognostyczna poziomu lipidów w krwi w ocenie poporodowej płodności. Praca habilitacyjna. Państwowy Instytut Weterynaryjny, Puławy 1999.
6. Bronicki M., Dembiński Z.: Badanie aktywności enzymów wątrobowych u krów mlecznych w powiązaniu z wybranymi wskaźnikami gospodarki lipidowej. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 268-270.
7. Butler W. R.: Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 2533-2539.
8. Butler W. R., Calaman J. J., Beam S. W.: Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 1996, 74, 858-865.
9. Cebra C. K., Garry F. B., Getry D. M., Fettman M. J.: Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: a retrospective study of serum biochemical abnormalities. *J. Vet. Intern. Med.* 1997, 11, 231-237.
10. Chapa A. M., McCormick M. E., Fernandez J. M., French D. D., Ward J. D., Beatty J. F.: Supplemental dietary protein for grazing dairy cows: reproduction, condition loss, plasma metabolites and insulin. *J. Dairy Sci.* 2001, 84, 908-916.
11. Doepel L., Lapierre H., Kennelly J. J.: Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2315-2334.
12. Drackley J. K.: Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 2259-2273.
13. Drackley J. K., Overton T. R., Douglas G. N.: Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 2001, 84(E Suppl.), E100-E112.
14. Duncombe W. G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* 1964, 9, 122.

15. *Elrod C. C., Van Amburg M., Butler W. R.*: Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.* 1993, 71, 702-706.
16. *Ferguson J. D., Galligan D. T., Blanchard T., Reeves M.*: Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 3742-3746.
17. *Garcia-Bojalil C. M., Staples C. R., Risco C. A., Savio J. D., Thatcher W. W.*: Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive response. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 1374-1384.
18. *Gehrke M.*: Influence of balance of protein and energy metabolism in rumen on hypomagnesaemia in cows. *Pol. J. Vet. Sci.* 2005, 8, 201-207.
19. *Greenfield R. B., Cecava M. J., Johnson T. R., Donkin S. S.*: Impact of dietary protein amount and rumen undegradability on the intake, peripartum liver triglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 703-710.
20. *Hartwell J. R., Cecava M. J., Donkin S. S.*: Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen-protected choline on intake, peripartum liver triacylglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 2907-2917.
21. *Marczuk J., Filar J.*: Ocena uszkodzenia wątroby i jej zaburzeń czynnościowych w przebiegu zespołu nadmiernej mobilizacji tłuszczu u krów mlecznych. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 47-50.
22. *Maswoswe S. M., Tremblay G. C.*: Biosynthesis of hippurate, urea and pyrimidines in the fatty liver: studies with rats fed orotic acid or a diet deficient in choline and inositol and with genetically obese (Zucker) rats. *J. Nutr.* 1989, 119, 273-279.
23. *McCormick M. E., French D. D., Brown T. F., Cuomo G. J., Chapa A. M., Fernandez J. M., Beatty J. F., Blouin D. C.*: Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 2697-2708.
24. *Park A. F., Shirley J. E., Titgemeyer E. C., Meyer M. J., VanBaale M. J., VandeHaar M. J.*: Effect of protein level in prepartum diets on metabolism and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 1815-1828.
25. *Paulova J., Janečková L., Novotný L., Kloak S., Čechová I.*: Poporodní steatóza jater u dojnic a její vztah k užitkovosti, fertilitě, energetickému metabolismu a funkci jater. *Biol. Chem. Vet. (Praha)* 1990, 6, 457-465.
26. *Reid I. M., Roberts C. J., Bard G. D.*: The effect of underfeeding, pregnancy and lactation on structure and chemistry of bovine liver and muscle. *J. Agric. Sci.* 1980, 94, 239-245.
27. *Reid I. M., Roberts C. J., Treacher R. J., Williams L. A.*: Effect of body condition at calving on tissue mobilization, development of fatty liver and blood chemistry of dairy cows. *Anim. Prod.* 1986, 43, 7-15.
28. *Reid I. M., Rowlands G. J., Dew A. M., Collins R. A., Roberts C. J., Mantston R.*: The relationship between post-parturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. Agric. Sci. Camb.* 1983, 101, 473-480.
29. *Schäfer M., Füll M., Johannsen U., Ehrentraut W., Deckert W., Geinitz D.*: Verhalten klinisch-chemischer Kennwerte des Blutes von Milchkühen in Abhängigkeit vom Fettgehalt der Leber. *Mh. Vet. Med.* 1991, 46, 666-669.
30. *Sinclair K. D., Kuran M., Gebbie F. E., Webb R., McEvoy T. G.*: Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *J. Anim. Sci.* 2000, 78, 2670-2680.
31. *Sokol J., Reichel P., Vrzgula L.*: Diagnostyka steatózy počene dojnic pomocí metabolického profilového testu. *Biol. chem. Vet. (Praha)* 1988, 24, 531-538.
32. *Staples C. R., Garcia-Bojalil C., Oldick B. S., Thatcher W. W., Risco C. A.*: Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a suggested mechanism and blood and milk urea measurements. *Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutrition Symposium*, 13-14 January 1993, Gainesville, FL, s. 37-51.
33. *Strang B. D., Bertics S. J., Grummer R. R., Armentano L. E.*: Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis and urea-genesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 728-739.
34. *Studer V. A., Grummer R. R., Bertics S. J., Reynolds C. K.*: Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 2931-2939.
35. *Veenhuizen J. J., Drackley J. K., Richard M. J., Sanderson T. P., Miller L. D., Young J. W.*: Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of experimental fatty liver and ketosis in cows. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 4238-4253.
36. *Zhu L. H., Armentano L. E., Bremner D. R., Grummer R. R., Bertics S. J.*: Plasma concentration of urea, ammonia, glutamine around calving and the relation of hepatic triglyceride to plasma ammonia removal and acid-base balance. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 734-740.
37. *Zhu L. H., Strang B. D., Armentano L. E.*: Effects of triglyceride accumulation on induction of urea synthesis by glucagon and dexamethasone in monolayer cultures of bovine hepatocytes. *J. Anim. Sci.* 2000, 78, 1659-1666.
38. *Zurek E., Foxcroft G. R., Kennelly J. J.*: Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1995, 78, 1909-1920.

Adres autora: dr Marek Gehrke, ul. Jodowa 4, 86-031 Osielsko; e-mail: gehrke1@o2.pl