

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika

## **A hipokalcémia és különféle kalcium-kezelések hatása frissen ellett tehenek méhkontraktilitására**

**Készítette:** Kürtös Gergő

**Témavezető:** Dr. Bajcsy Árpád Csaba  
tudományos főmunkatárs  
Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika

Budapest

2015

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. Bevezetés .....</b>	<b>2</b>
<b>2. Irodalmi áttekintés .....</b>	<b>3</b>
2.1. A kalcium háztartás élettani áttekintése.....	3
2.1.1. A kalcium jelentősége, eloszlása a szervezetben.....	3
2.1.2. A kalcium felszívódása és kiválasztása .....	3
2.1.3. A kalcium háztartás endokrin szabályozása .....	4
2.1.3.1. Parathormon .....	5
2.1.3.2. D-vitamin .....	5
2.1.3.3. Kalcitonin.....	6
2.1.4. Tejelő tehenek kalcium háztartása az ellés körül és a hipokalcémia kórfejlődése, következményei .....	6
2.1.4.1. Kalcium háztartás az ellés körül .....	6
2.1.4.2. Az ellési bénulás .....	8
2.1.4.3. A szubklinikai hipokalcémia.....	8
2.1.5. A hipokalcémia megelőzése és kezelése .....	9
2.1.5.1. Megelőzés .....	9
2.1.5.2. Per os kezelés .....	9
2.1.5.3. Intravénás kezelés .....	10
2.2. Méhkontraktilitás a puerperium idején .....	10
2.2.1. A puerperális méhkontraktilitás jelentősége.....	10
2.2.2. A méh aktivitása a puerperium idején .....	11
2.2.3. A magzatburkok eltávolítása a méhből .....	12
2.2.4. A puerperális méhkontraktilitást befolyásoló tényezők .....	12
2.2.5. A méhkontraktilitás mérésének in vivo módszerei, a méhnyomás mérése .....	13
2.2.5.1. A belső méhnyomás mérése.....	14
<b>3. Anyag és módszer .....</b>	<b>15</b>
3.1. A vizsgálatok ideje, a kísérleti tehenek.....	15
3.2. A kísérleti protokoll, kezelések.....	15
3.3. A vizsgálatok módja, eszközei.....	16
3.4. Az adatok elemzése.....	18
<b>4. Eredmények .....</b>	<b>21</b>
4.1. A „pp12” mérések eredményei a kezelések előtt.....	21
4.2. Kezeletlen tehenek méhaktivitásának időbeli változása .....	22
4.3. A kezelt csoportok méhaktivitása .....	25
4.4. Az ionizált kalcium változása az egyes csoportoknál és hatása a méhkontraktilitásra...	30
4.5. Az intravénás kezelésre látszólag nem reagáló állatok.....	32
<b>5. Megbeszélés.....</b>	<b>35</b>
<b>6. Összefoglalás .....</b>	<b>40</b>
<b>7. Irodalomjegyzék.....</b>	<b>42</b>
<b>8. Köszönetnyilvánítás .....</b>	<b>46</b>

## **1. BEVEZETÉS**

A puerperium kezdetén a méhösszehúzódnak fontos szerepet játszanak a tejelő tehenek méhtartalmának ürülésében (Zerobin és Spörri, 1972). Amennyiben a méh kontraktilitása az ellés után zavart szenved, az elégtelen involúcióhoz vezethet (Jordan, 1952; Venable és McDonald, 1958; Giama, 1975). Az involúció elnyúlásával romlanak a szaporodásbiológiai mutatók, csökken a tejtermelés gazdaságossága (Tenhagen és Heuwieser, 1999).

A szervezetben a kalciumnak jól ismert szerepe van többek között az izomösszehúzás folyamatában is (Rosol és mtsai, 1995). A vérben a kórosan alacsony kalcium-koncentráció megjelenési formája nem csupán a közvetlen életveszéllyel járó ellési bénulás lehet, hanem a tünetekben meg nem mutatkozó, de gazdasági szempontból mégis lényegesebb, számos másodlagos problémához vezető szubklinikai hipokalcémia is (Oetzel, 2013). Bár a vér alacsony kalcium szintjét és az ellési bénulást korábban már többen összefüggésbe hozták csökkent méhműködéssel (Jordan, 1952; Pelissier, 1972; Martin és mtsai, 1981; Al-Ekna és Noakes, 1989; Bajcsy, 2001), nem történt eddig még olyan vizsgálat, mely a szubklinikai hipokalcémia pontos hatását a méh kontraktilitására meghatározta volna.

A hipokalcémia összefüggésben áll a méhgyulladások gyakoribb kialakulásával (Martinez és mtsai, 2012), a méh ellés utáni méretének lassabb csökkenésével (Heppelmann és mtsai, 2015) és az elhúzódnak involúcióval (Kamgarpour és mtsai, 1999). A méhbetegségekkel való összefüggést részben magyarázhatja a vér csökkent kalcium szintjének immunszuppresszív hatása (Martinez és mtsai, 2012). Az ellési bénulás méhműködésre gyakorolt hatásának ismeretében úgy sejtettük, hogy az szubklinikai hipokalcémia az involúciós problémák kórfejlődésében a méh kontraktilitásának gátlásával is szerepet játszhat. Bár egy korábbi vizsgálat (Bajcsy és mtsai, 2005a) során nem figyeltek meg korrelációt a vér  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációja és a méhaktivitás különféle mutatói között, ennek oka lehetett az, hogy a kísérletbe csak enyhe fokú hipokalcémiás állatokat vontak be.

Kísérletünk célja az volt, hogy a korai puerperium idején vizsgáljuk a vér  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációjának hatását a méh kontraktilitására, normokalcémia és különféle fokú szubklinikai hipokalcémia esetén. Adatokat próbáltunk nyerni továbbá arról is, hogy a szájon át és intravénásan adott kalcium-készítmények miként befolyásolják frissen ellett tehenek méhműködését.

## **2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

### **2.1. A KALCIUM HÁZTARTÁS ÉLETTANI ÁTTEKINTÉSE**

#### **2.1.1. A kalcium jelentősége, eloszlása a szervezetben**

A kalcium a gerinces szervezet számára kiemelt fontosságú, számos élettani folyamathoz elengedhetetlen ásványi anyag. Szerepe van többek között az izomösszehúzódban, a vérárvadásban, egyes enzimek működésében, az idegi ingerületátvitelben, bizonyos hormonok szekréciónjában, a sejtadhézióban (Rosol és mtsai, 1995) és az immunsejtek aktiválásában (Kimura és mtsai, 2006).

A szervezetben a kalcium 99%-a a csontok szövetlen mátrixában található (Rosol és mtsai, 1995). Itt nagyobb részben kollagénhez kötött hidroxipatit formájában van jelen, ez szükség esetén az oszteoklasztok által végzett reszorpció útján felszabadítható a vérbe. Kis része eleve oldottan, a csont csatornácskáiban és sejtjei körül fordul elő (Goff és mtsai, 1991). Utóbbi például egy felnőtt tehénben körülbelül 6-10 g, a keringésbe azonnal kijuttatható kalciumforrást jelent (Vagg és Payne, 1970).

A kalcium 0,9%-a a sejtek plazmamembránjában és endoplazmatikus retikulumában szekvesztráltan található. Az extracelluláris folyadékok a szervezet összes kalciumának csupán 0,1%-át tartalmazzák. Ezekben a folyadékterekben (pl. a szérumban) a kalcium 3 formában van jelen: 45%-ban fehérjék (főleg albumin) negatív töltésű részeihez kötve, 5%-ban komplexek alkotóelemeként (pl. citrát, bikarbonát, foszfát, laktát komplex), 50%-ban pedig kalcium-ionként ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Utóbbi a biológiailag aktív forma. A sejtek citoplazmájában igen kis koncentrációban lévő, főleg ionizált kalcium a test teljes kalcium-készletének mindössze 0,00002%-át teszi ki (Rosol és mtsai, 1995).

#### **2.1.2. A kalcium felszívódása és kiválasztása**

A kalcium felszívódása a gyomor-bélcsatornából passzív, vagy aktív módon történhet. Előbbi folyamat a nyálkahártya sejtjei között (paracellulárisan), az élettani szabályozó mechanizmusoktól függetlenül, nem telíthető módon megy végbe. A passzív abszorpció a bél koncentrációviszonyaitól függ, végbemehet az emésztőcsatorna bármely szakaszán, nagyobb mennyiségű kalcium felvételével mértéke növelhető (Bronner, 1987).

Az aktív felszívódás főleg a bél proximális szakaszán (duodenum, felső jejunum), transzcelluláris úton történik. Ez a folyamat D-vitamin függő, így élettani szabályozás alatt áll. A kalcium extracelluláris folyadékterbe juttatásának 3 lépése a következő: belépés az

enterocytába a kefeszegélyen át, diffúzió a citoplazmában kötő fehérjék segítségével, kilépés a sejtől a bazális oldalon. Az intracelluláris tér alacsony Ca-koncentrációja miatt az apikális plazmamembránon való áthaladás a kémiai gradiensnek megfelelően megy végbe, így ez a lépés nem igényel energiafelhasználást. A kalcium citoplazmán való áthaladását egy fehérje, a calcium-binding protein (CaBP) gyorsítja, növelve így a sejt két pólusa közötti Ca-gradienst. Az utolsó lépés során az alacsonyabb koncentrációjú kompartmentből kell biztosítani az aktív kijutást a magasabb koncentráció irányába, így ez ATP felhasználásával jár (Bronner, 1987). A három szakasz közül a kalcium belépésének és intracelluláris transzportjának van limitáló hatása a folyamat egészére nézve. A sejt bazális membránján működő Ca-ATPáz már képes kijuttatni minden oda jutó kalciumot. Az aktív felszívódás minden lépését a D-vitamin szabályozza, a CaBP bioszintézise is ettől a hormontól függ (Bronner, 1987; Bronner, 2003).

Kérődzőkben a kalcium jelentős része felszívódhat a bendőhámon keresztül is (Leonhard-Marek és mtsai, 2007). Szarvasmarhákban az előgyomrokból történő abszorpció kifejezettebb lehet, amennyiben a felvett kalcium mennyisége nagyobb (Khorasani és mtsai, 1997). Juhokban megfigyelték, hogy a kalcium a bendőből akkor szívódik fel, amikor a bendőtartalom kalcium-koncentrációja meghaladja a 1,5 mmol/l-t. Ezt a jelenséget nem magyarázhatja önmagában passzív diffúzió, mivel a Nernst-egyenlet alapján legalább 6 mmol/l kalcium biztosítaná az ehhez szükséges koncentráció-gradienst (Höllner és mtsai, 1988). Bár a juh bendőfal tartalmaz D-vitamin receptorokat, exogén vitaminnal való kezelés nem befolyásolja a CaBP mennyiségét a szövetekben. Ez arra utalhat, hogy a klasszikus CaBP által mediált mechanizmus nem jellemző a kérődzők bendőhámjára (Schröder és mtsai, 2001).

A kalcium ürülése a szervezetből a vizelet, a bélsár és laktáló állatok esetében a tej útján is történik (Horst és mtsai, 1994). A vese általában a szűrletbe került Ca 98%-át visszaszívja. A reabszorpció 90%-a szabályozás nélkül történik a proximális kanyarulat csatornácskáiban és a Henle-kacs felszálló ágában. A szabályozott, PTH-függő visszaszívás a disztális kanyarulat csatornácskáiban lejátszódó aktív transzcelluláris folyamat (Rosol és mtsai, 1995).

### **2.1.3. A kalcium háztartás endokrin szabályozása**

A kalcium háztartást szabályozó három fő hormon a parathormon (PTH), a D-vitamin (biológiailag aktív formája: 1,25-dihidroxi-kolekalciferol) és a calcitonin.

### **2.1.3.1. Parathormon**

A PTH egy 84 aminosavból álló peptid, melyet a mellékpajzsmirigy fősejtjei termelnek. A keringő parathormon mennyisége függ génjének transzkripciójától, valamint a molekula sejten belüli lebomlásának és szekréciójának szabályozásától. A hormon vérbe jutását serkentő fő inger a szérumban lévő  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció csökkenése. Az alacsony kalciumkoncentrációra a mellékpajzsmirigy gyorsan tud reagálni: mivel a PTH nagy része normokalcémia során intracellulárisan lebomlik, ezért hipokalcémia esetén elegendő csupán ezt a katabolizmust csökkenteni. A keringő 1,25-dihidroxi-kolekalciferol negatív feedback mechanizmus részeként csökkenti a PTH szintézisét (Rosol és mtsai, 1995).

A parathormon fő funkciója a vér  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációjának növelése. Ennek érdekében a hormon serkenti a vese disztális kanyarulat csatornácskáiból a kalcium reabszorpcióját, a csontokból történő mobilizációját, továbbá főleg az 1,25-dihidroxi-kolekalciferol szintézisének stimulálásán keresztül elősegíti az emésztőtraktusból a kalcium felszívódását. A PTH felelős a gyors, rövidtávú kalcium szabályozásért, melyet főleg a vesében történő reabszorpción keresztül ér el. Órákon, vagy akár napokon át tartó parathormon hatás szükséges a D-vitamin előállítás és az oszteoklasztok által végzett csont reszorpció serkentéséhez, ezek a folyamatok viszont nagyobb mennyiségű kalciumot képesek szolgáltatni a szervezet számára (Rosol és mtsai, 1995). Az oszteoklasztok aktivitása csupán 48 óra PTH stimuláció után nő szignifikánsan (Horst és mtsai, 1994).

### **2.1.3.2. D-vitamin**

Az 1,25-dihidroxi-kolekalciferol a vese proximális kanyarulat csatornácskáinak hámsejtjeiben képződik 25-hidroxi-kolekalciferolból 1- $\alpha$ -hidroxiláció útján. Termelődését serkentő legfontosabb tényező a vérben lévő PTH, ezen kívül hatással van még rá a hipofoszfatémia, a növekedési hormon, az ösztrogén és a prolaktin is (Rosol és mtsai, 1995). Fő funkciója a belekből történő kalcium abszorpció és a csontok reszorpciójának serkentése. Előbbit a CaBP szintézisének növelésével éri el. Ezen kívül szabályozza a sejtek proliferációját és differenciálódását, az immunsejtek működését, valamint gátolja a PTH szintézist az mRNS transzkripció csökkentése által (Horst és mtsai 1994; Rosol és mtsai, 1995). Negatív feedback útján az aktív D-vitamin saját maga szintézisét is gátolja a vesében (Rosol és mtsai, 1995).

A 1,25-dihidroxi-kolekalciferol hatásmechanizmusának alapja az intracelluláris D-vitamin receptorok (VDR) jelenléte. A VDR-hez kapcsolt aktív vitamin közvetlenül a szabályozott génekhez kötődik. A sejtek érzékenysége a kolekalciferolra modulálható a receptorok

mennyiségének változtatásával. Több faktor, pl. a retinolsav, a glükokortikoidok és az ösztrogén is növeli a VDR-ek számát a sejtben (Horst és mtsai, 1994). A D-vitamin maga is képes kiváltani a receptorok up-regulációját: tehenek exogén 1,25-dihidroxi-kolekalciferollal történő kezelése után a VDR mennyisége szignifikánsan nő az állatok bélcsatornájában (Naito és mtsai, 1989). Az idősebb tehenekben kevesebb receptor található, mint a fiatalokban. Ez részben magyarázhatja, hogy miért csökken a korral a tejelő szarvasmarhák kalcium abszorpciója az emésztőcsatornából, továbbá hogy miért ritka a súlyosabb hipokalcémia kialakulása első laktációs tehenekben. Utóbbi megfigyelés magyarázható azzal is, hogy a csontszövetben egyedülként D-vitamin receptorral rendelkező sejtek, az oszteoblasztok száma idősebb állatokban csökken, így romolik a csontokból a kalcium mobilizációja. Mind a bélcsatornában lévő VDR, mind a vérben lévő 1,25-dihidroxi-kolekalciferol mennyisége nő a vemhesség és a laktáció idején (Horst és mtsai, 1994).

### ***2.1.3.3. Kalcitonin***

A kalcitonin egy 32 aminosavból álló peptid hormon, feladata a vér  $\text{Ca}^{2+}$  szintjének csökkentése. A pajzsmirigy C-sejtjeinek citoplazmájában nagy mennyiségben tárolódik, hogy kalcium koncentráció emelkedés esetén gyorsan felszabadulhasson. Hatásmechanizmusának alapja az oszteoklasztok által végzett csont reszorpció gátlása. Ezek a sejtek hamar elvesztik érzékenységüket a kalcitoninra, így az idült hiperkalcémia szabályozására ez a hormon nem alkalmas (Rosol és mtsai, 1995).

### **2.1.4. Tejelő tehenek kalcium háztartása az ellés körül és a hipokalcémia kórfejlődése, következményei**

Az ellés körüli időszak sok szempontból megterhelő a tejelő tehén szervezete számára. A metabolikus és fertőző betegségek nagy része a laktáció első két hetében jelentkezik, ekkor fontos anyagcsere zavar a kalcium háztartás felborulása (Goff és Horst, 1997). Szinte az összes tehén átesik valamilyen szintű hipokalcémián a laktáció kezdetén, ennek súlyossága és időtartama azonban függ az állat kalcium-homeosztázisának hatékonyságától (Goff, 2014).

#### ***2.1.4.1. Kalcium háztartás az ellés körül***

A normokalcémia fenntartásához a szervezetnek egyensúlyra kell törekednie a kalcium vérből való távozása és keringésbe jutása között. Előbbi történhet a bélsár, a vizelet és a tej útján, de ehhez a saját és a magzati csontvázba való beépülés is hozzájárulhat. A keringésbe a kalcium a bélcsatornából való felszívódás és a csontokból való mobilizáció által juthat (Allen

és Sansom, 1985). A tejelő tehén az ellés után jelentős mennyiségű kalciumot kezd veszíteni a tejtermelés következtében. Egy 600 kg-os tehén plazmájában 3-3,5 g, az összes extracelluláris folyadékában 8-9 g, csontjaiban 7,8-8,5 kg, sejtjein belül 1 g-nál is kevesebb kalcium van. A kolosztrummal a tejtermelő tehén a vérben lévő teljes kalcium-készletének többszörösét, körülbelül 20-30 g kalciumot veszít el naponta. A tehénben már az ellés előtt megnő a kalcium-igény, mivel a tejmirigy már ebben az időszakban megkezdte a főcstej termelését (Goff, 2014).

A laktációhoz való alkalmazkodás homeorhetikus folyamat, mivel hosszútávú adaptáció szükséges az élettani állapot ilyen jellegű megváltozásához (DeGaris és Lean, 2009). A negatív kalcium egyensúly az ellés után hetekig fennáll, mivel a tejjel való ürüléshez képest a szárazanyag-felvétel és a kalcium felszívódás nem elégséges. A szárazonállás alatt a szabályozó mechanizmusok még viszonylag inaktívak, viszont az első napokban reagálniuk kell az anyagcsere-viszonyok megváltozására. A D-vitamin és a PTH koncentrációja a plazmában jelentősen megnő az alkalmazkodási folyamat elején. (Horst és mtsai, 1994). A PTH által serkentett kalcium visszaszívás a vesében az elsőként jelentkező hatás, de ez csak viszonylag enyhe hiány esetén képes normalizálni a vér kalcium-koncentrációját. Intenzívebb kalcium-ürítés esetén más mechanizmusokra is szükség van (Goff, 2014). Ennek megfelelően a PTH és a 1,25-dihidroxi-kolekalciferol együtt növelik a csontból történő kalcium reszorpciót, továbbá a biológiailag aktív D-vitamin növeli a bélből a kalcium abszorpciót. A kalcium felszívódásának szignifikáns növeléséhez körülbelül 24 órányi 1,25-dihidroxi-kolekalciferol stimuláció szükséges, míg az oszteoklasztokat nagyjából 48 órányi PTH hatás aktiválja megfelelő szinten (Horst és mtsai, 1994). Ennek megfelelően a vér kalcium-koncentrációja az ellés után átmenetileg csökken, a legalacsonyabb szintet általában az ellés után 12 és 24 óra között éri el. Amennyiben a fenti homeosztatisz folyamatok elégtelennek bizonyulnak, hipokalcémia alakul ki. (Goff, 2008).

Élettani viszonyok között a tehén szervezete 2,1 és 2,5 mmol/l között tartja vérének teljes kalcium-koncentrációját (Goff, 2014). Ebből a biológiailag aktív  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációja a vérben normokalcémia esetén 1,06-1,26 mmol/l. Amennyiben ez a szám 1,06 mmol/l alá esik, hipokalcémiáról beszélünk. A hipokalcémia lehet enyhe (0,8-1,05 mmol/l), közepes (0,5-0,75 mmol/l) vagy súlyos (0,5 mmol/l alatt) fokú (Kvart és mtsai, 1982). Ennek az anyagcserezavarának az előfordulása meghatározó fontosságú a frissen ellett tehén egészsége és tejtermelése szempontjából. Megjelenési formája szerint lehet klinikai tünetekkel járó ellési benuulás vagy szubklinikai hipokalcémia (Oetzel, 2013).



#### **2.1.4.2. Az ellési bénulás**

Az ellési bénult tehenekben a kalcium koncentrációja oly mértékben lecsökken, hogy az már klinikailag megnyilvánuló zavart okoz az állat ideg-izom tevékenységében (Horst és mtsai, 1997). Ezekben az állatokban a mellékpajzsmirigy bár elvárható szinten aktiválódik a hipokalcémiára, és a vérben is magas PTH koncentrációk mérhetőek, a szervezet mégse képes megfelelő mértékben reagálni a hormonra (Goff, 2014).

A megfigyelhető tünetek alapján ez a betegség 3 stádiumba sorolható. Az első stádiumban az állat még nem fekszik el, de már megfigyelhető gyengeség, idegesség és ingerlékenység. A második stádiumban a tehen a szegycsontján fekszik, közepes-súlyos levertséget és részleges bénulást mutat. A harmadik stádiumban már jellemző az oldalfekvés és a teljes bénulás, az állat ekkor szinte komatózus állapotban van. Ebben a stádiumban kezelés nélkül órákon belül elhullás következik be (Oetzel, 2013).

Az ellési bénulás a közvetlen életveszélyen túl összefüggésben van más megbetegedésekkel is. A sikeresen kezelt állatok felépülésük után gyakrabban betegednek meg különféle metabolikus és fertőző kórformákban (Goff és mtsai, 1996). Ezeknél a teheneknél nagyobb a ketózis, a tőgygyulladás, a magzatburok-vissamaradás, a méhgyulladás, az oltógyomor-helyzetváltozás (OHV) és a méhelőesés előfordulása (Goff és mtsai, 1989). Az ellési bénulást összefüggésbe hozták csökkent méhaktivitással is a korai puerperium idején (Jordan, 1952; Pelissier, 1972; Martin és mtsai, 1981).

#### **2.1.4.3. A szubklinikai hipokalcémia**

A szubklinikai hipokalcémia, bár közvetlen tünetekben nem mutatkozik meg, sok másodlagos problémával áll kapcsolatban. Jól ismert, hogy a vérben lévő kalcium elengedhetetlen a megfelelő vázizom- és simaizom-működéshez. Hiányában csökken a bendő- és oltógyomor-motilitás, így romlik a takarmányfelvétel, nő az OHV kockázata, a ketózis előfordulása, végeredményként csökken a tejtermelés (Oetzel, 2013). A hipokalcémia gátolja a tőgybimbócsatorna záróizmának az összehúzódását, így növeli a mastitis kialakulásának esélyét (Goff, 2008). Az alacsony kalcium-koncentráció a vérben azáltal járulhat hozzá az ellés körüli immunszuppresszióhoz, hogy csökkenti az intracelluláris kalcium szignál erősségét az aktiválódó immunsejtekben (Kimura és mtsai, 2006). A hipokalcémiás tehenekben csökkent a méh kontraktilitása (Al-EknaH és Noakes, 1989), elnyújtott az involúció folyamata (Kamgarpour és mtsai, 1999), és a méhszarvak mérhetően lassabban veszítenek hosszukból (Heppelmann és mtsai, 2015). A szubklinikai hipokalcémiának központi szerepe lehet a méhgyulladás kialakulásában: még az egyéb hajlamosító tényezőkkel

(nehéz ellés, ikerellés, halvaellés, magzatburok-visszamaradás) terhelt állatok között is a vérükben alacsony kalcium-koncentrációt is mutató teheneknél jelentősen magasabb a metritis előfordulása (Martinez és mtsai, 2012).

Bár a szubklinikai hipokalcémia nem nyilvánul meg egyértelmű tünetekben, mégis több veszteséget okoz egy gazdaság számára, mint az ellési bénulás. Ennek oka az, hogy a szubklinikai esetek az állomány jóval nagyobb részét érintik (Oetzel, 2013). Az ellés utáni hipokalcémia előfordulása jelentősen eltérhet egyes állományokban. Míg van olyan telep, ahol az ellési bénulás előfordulása 1% alatti, máshol ez 25% felett is lehet. (DeGaris és Lean, 2009). Reinhardt és munkatársai (2011) felmérésük során az általuk vizsgált állományokban az ellési bénulás előfordulási arányát átlagosan 5%-ban határozták meg. Ebben a kutatásban szubklinikai hipokalcémiás tehenek aránya korcsoportonként eltért: az elsőtől a hatodik laktációig sorrendben az incidencia 25%, 41%, 49%, 51%, 54% és 42% volt.

### **2.1.5. A hipokalcémia megelőzése és kezelése**

#### **2.1.5.1. Megelőzés**

A hipokalcémia és az ellési bénulás megelőzésére számos módszer létezik. Az előkészítés során két preventív takarmányozási stratégia alkalmazott széles körben: a takarmány kation-anion különbségének (dietary cation-anion difference, DCAD) csökkentése és az alacsony kalcium-tartalmú takarmányok etetése ellés előtt (Horst és mtsai, 1997). A megelőzés másik módja lehet az ellés előtt 10-14 nappal D-vitaminnal parenterálisan kezelni a tehenet. Ez megfelelő időben adva megelőzheti az ellési bénulást. Hátránya, hogy igen nagy dózissal van szükség, nehézkes az injekció megfelelő időzítése, egyes esetekben pedig a kezelés az exogén D-vitamin kiürülése után akár indukálhatja is a hipokalcémiát a PTH és az endogén 1,25-dihidroxi-kolekalciferol termelés gátlása miatt (Goff, 2014). További lehetőség az állatot preventíven az ellés körül *per os* kalcium-készítményekkel kezelni (Goff és Horst, 1993).

#### **2.1.5.2. Per os kezelés**

A *per os* kezelés célja, hogy olyan kalcium-koncentrációt érjünk el az emésztőcsatorna üregében, mely az elégtelen aktív transzcelluláris transzportot kikerülve, passzív paracelluláris diffúzióval növeli az abszorpciót. Ehhez ideálisan egy dózisban 50-125 g kalciumot kell adni (Goff, 2014).

A szájon át adott kezelés hatása függ attól, hogy a felhasznált készítményben milyen formában van jelen a kalcium. Drencsben adva a kalcium-klorid jobban emeli a vérben a

kalcium-koncentrációt, mint a kalcium-propionát, a kalcium-karbonátnak pedig nincsen megfigyelhető pozitív hatása. *Per os* gél esetén a kalcium-propionát jobbnak bizonyult a kalcium-kloridnál (Goff és Horst, 1993).

Goff és Horst (1993) megfigyelése alapján a kalcium-klorid 30 percen belül megemeli a kalcium koncentrációját a keringésben, és 3 órán keresztül megmarad ez az emelkedett szint a vérben. A kalcium-klorid savasító hatása előnyös lehet az állat PTH-ra való érzékenységének növelése miatt. Hátránya, hogy irritálja a nyálkahártyát, fekélyesedést okozhat, túladagolása metabolikus acidózishoz vezethet. Ha ezek bekövetkeznek, tovább csökkenthetik az ebben az időszakban amúgy is elégtelen szárazanyag-felvételt (Horst és mtsai, 1997). Drencs formában adva fennáll az aspiráció veszélye, ez pedig légúti megbetegedéshez vezethet (Oetzel, 2013). A kalcium-propionát nem olyan hatékony, lassabb a felszívódása, nagyobb mennyiséget kell belőle adni. Előnye, hogy kevesebb a mellékhatása a kalcium-kloridnál, a propionát pedig prekuzorként elősegítheti a glükoneogenezist (Horst és mtsai, 1997).

### **2.1.5.3. Intravénás kezelés**

Az ellési bénulás kezelésének egyedüli hatékony módja az intravénás kalcium-készítmények adása. A kezelés alapelve az, hogy az állatot exogén kalciummal segítsük túlélni a hipokalcémiás krízist, míg a tehén saját homeosztázisa nem adaptálódik a laktáció kihívásához. Erre a célra általában kalcium-boroglükonát vagy kalcium-glükonát tartalmú készítményt használnak (Goff, 1999).

Oetzel (2013) ajánlása szerint csak az elfekvő tehenek (második és harmadik stádiumú ellési bénulás) kezelése ajánlott intravénásan, mert a kalcium koncentrációjának gyors emelkedése akár elhullással végződő kardiológiai komplikációkat vonhat maga után. Szerinte az intravénás kezelés további hátránya, hogy az a tehén saját homeosztatiszikus folyamatait gátolhatja, az állatok gyakran hipokalcémiába esnek vissza 12-18 órával az infúzió után.

## **2.2. MÉHKONTRAKTILITÁS A PUERPERIUM IDEJÉN**

### **2.2.1. A puerperális méhkontraktilitás jelentősége**

Az ellés követő napokban a méhösszehúzódások fő szerepe a méhtartalom eltávolítása (Zerobin és Spörri, 1972). Az ekkor jelentkező szaporodásbiológiai problémák, például a nem megfelelő involúció jelentősen elnyújthatják a termékenyülésig eltelt időt, ez pedig ronthatja a tejtermelési és selejtezési adatokat (Tenhagen és Heuwieser, 1999). Az involúciós problémák hátterében számos tényező állhat, így például az elégtelen méhkontraktilitás a puerperium

idején (Jordan, 1952; Venable és McDonald, 1958; Giama, 1975). Bár ezekből látszik, hogy a méhizomzat megfelelő működése fontos lehet az állat ellés körüli egészsége és a termelés gazdaságossága szempontjából, mégis viszonylag kevés tanulmány foglalkozik ezzel a kérdéskörrel, és ezeknek a publikációknak a túlnyomó része viszonylag régen íródott.

### **2.2.2. A méh aktivitása a puerperium idején**

A méh aktivitásának jellege megváltozik ugyan a borjú megszületése után, de a kontrakciók eleinte megmaradnak (Kündig és mtsai, 1990). Az ekkor jelentkező összehúzódsok szabályos mintázatot mutatnak (Burton és mtsai, 1987), ismétlődő nyomáshullámokként jellemezhetőek (Gillette és Holm, 1963; Zerobin, 1970).

A kontrakciók gyakorisága (frekvencia) az első 2 órában 14-19 n/h (összehúzóds/óra), de ez az idő előrehaladtával lineárisan csökken (Venable és McDonald, 1958; Burton és mtsai, 1987). Ekkor a kontrakciók amplitúdója 20-40 Hgmm (Jordan, 1952; Venable és McDonald, 1958; Martin és mtsai, 1981), hosszuk 30-150 másodperc (Venable és McDonald, 1958; Taverne és mtsai, 1979; Martin és mtsai, 1981; Kündig és mtsai, 1990).

12 órával az ellés után Bajcsy és mtsai (2005a) 8,9 n/h frekvenciát mértek, az átlagos amplitúdó ekkor 19,6 Hgmm volt. Szabályosan ellett teheneken nagyüzemben elvégzett vizsgálatukban a méhkontraktilitás legnagyobb csökkenését az ellés után a 12. és 24. óra között mérték.

A 2. napra a kontrakciók gyengülnek, de még jelen vannak (Zerobin, 1970). Martin és mtsai (1981) az ellés után 48 órával a méhnyomás mérésével 1 összehúzóds/10 perc frekvenciát, 7,37 Hgmm átlagos amplitúdót és 0,88 perc átlagos időtartamot figyeltek meg. A Bajcsy és mtsai (2005a) által közölt adatok szerint az ellés után 48 órával a kontrakciók átlagos frekvenciája a 12 órás értékekhez képest jelentősen csökkent 1,8 n/h-ra. A nyomásgörbék átlagos amplitúdója kísérletükben ekkorra 3,2 Hgmm-re esett. Giama (1975) a 3. és 4. napon az amplitúdó további csökkenését találta, viszont a korábban nehéz ellésen átesett teheneknél a harmadik napon a frekvencia enyhe emelkedését tapasztalta.

Giama (1975) a 6. napon kis amplitúdójú (20 Hgmm), elhúzóds összehúzódsok, úgynevezett kontraktúrák megjelenését figyelte meg. A kontraktúra definíciója szerint egy legalább 5 perces és minimum 3,5 Hgmm amplitúdójú összehúzóds. A méhkontrakciók ezen fajtáját először vemhességük végén lévő juhokban írták le (Jansen és mtsai, 1979). Kontraktúrákat Bajcsy és mtsai (2005a) is megfigyeltek az ellés után 36 és 48 órával a kísérletükbe bevont néhány állatban.

### **2.2.3. A magzatburkok eltávolítása a méhből**

Az ellés lefolyásával a méh simaizomzata nem fejezi be működését, megfelelő aktivitása fontos a magzatburkok és a méhtartalom eltávolításában (Zerobin és Spörri, 1972; Laven és Peters, 1996). A szarvasmarhában a méhlepény az anyai-magzati kapcsolat rétegei alapján szövettanilag szindezmokoriális típusú (Wooding, 1992), az allantokorion kotiledonokkal kötődik a méhfal karunkuláihoz, tehát a tehén placentája kotiledonáris (Noakes, 2001). Mivel a magzataburok csak ott rögzített a méhfalhoz, ahol ezek a kotiledonokból és karunkulákból álló kapcsolódó struktúrák (placentómák) vannak, a placentának is csak ezeken a területeken kell leválnia a méhfalról (Bjorkman és Sollen, 1960). Elléskor először a köldökzsinór elszakadásával a méhlepény vérellátása megszűnik, az allantokorion villusai megkissebbednek, eközben pedig a méh erei is összehúzódnak (Wetherill, 1965). A kapcsolat további meglazítása később enzimatisus úton folytatódik (Gross és mtsai, 1985; Eiler és Hopkins, 1992).

Azon tehenek, melyeknél a placenta eltávozása rendben megy, 75%-ban az első 6 órában hagyják el magzataburkaikat. Az állatok kevesebb, mint 5%-ánál ez az ellés utáni 12. és 24. óra között megy végbe (Van Werven és mtsai, 1992). Magzataburok-visszamaradásnak azokat az eseteket tekintjük, amikor a magzataburok elvetése 12 (Eiler, 1997) vagy 24 órával az ellés után (Esslemont és Peeler, 1993) történik. Magzataburok-visszamaradásra hajlamosíthatja az állatot például a nehéz ellés, a méhcsavarodás, a vetélés, a holtellés, az ellési benuulás, az ikerelés, befolyásoló tényező az állat életkora (Wetherill, 1965)

A méhösszehúzóadások pontos szerepe a placenta eltávolításában még nem ismert. Jordan (1952) azt figyelte meg, hogy magzataburok-visszamaradásos tehenekben a méhaktivitás kisebb közvetlenül az ellés után. Ennek alapján azt teorizálta, hogy az elégtelen kontraktilitás szerepet játszhat ennek a betegségnek a kórfejlődésében. Ezzel szemben más szerzők megfigyelései során magzataburok-visszamaradás esetén megnőtt a méh mechanikai aktivitása (Venable és McDonald, 1958; Zerobin és Spörri, 1972; Taverne és mtsai, 1979; Martin és mtsai, 1981). Utóbbiból arra lehet következtetni, hogy a csökkent méhkontraktilitás vélhetően gyakran nem oka a magzataburok-visszamaradásnak (Martin és mtsai, 1981).

### **2.2.4. A puerperális méhkontraktilitást befolyásoló tényezők**

A méh kontraktilitását több tényező is befolyásolhatja. Megfigyelték, hogy az ellés után a magzataburok eltávozását követően a méhet kisebb mechanikai aktivitás jellemzi (Taverne és mtsai, 1979; Kündig, 1990). A magzataburok-visszamaradást többen tartósan intenzívebb

méhkontraktilitással együtt figyelték meg (Venable és McDonald, 1958; Zerobin és Spörri, 1972).

A borjú elválasztása a tehéntől, vagyis, ha a szopás akadályozott, az negatív hatással van az oxitocin felszabadulására (Tancin és mtsai, 2001). Míg Jordan (1952) nem talált szignifikáns különbséget a méhkontraktilitásban a borjú szoptatása esetén, más szerzők fokozott méhaktivitást figyeltek meg szoptatás és fejés hatására is (VanDemark és Hays, 1951; Venable és McDonald, 1958; Gillette és Holm, 1963; Zerobin és Spörri, 1972).

Jelentős kalciumhiány gátolja az izomsejtek összehúzódását, így a hipokalcémia hatással van a méh működésére is. Megfigyelték, hogy ellési bénulás esetén a méh ellazult, üregében nyomásváltozások nem mérhetőek (Bajcsy, 2001). Egy kísérletben a kiváltott hipokalcémia negatív hatással volt az ellés alatti és utáni méhkontraktilitásra (Al-Ekna és Noakes, 1989). Bajcsy és mtsai (2005a) ezek ellenére nem figyeltek meg összefüggést a vér  $Ca^{2+}$  koncentrációja és a méhaktivitás paraméterei között enyhe szubklinikai hipokalcémia (vér  $Ca^{2+}$  0,94-1,05 mmol/l) esetén. A vér alacsony kalcium-koncentrációja mellett a magzatburok-visszamaradás gyakoribb előfordulását többen is igazolták (Pelissier, 1972; Muller és Owens, 1974), és elhúzódó involúciót is megfigyeltek (Kamgarpour és mtsai, 1999).

#### **2.2.5. A méhkontraktilitás mérésének *in vivo* módszerei, a méhnyomás mérése**

A méhkontraktilitás mérhető *in vitro*, *in situ* és *in vivo* módszerekkel. Az *in vitro* technikák során vagy az egész méhet, vagy csak egy darab méhszövetet eltávolítanak az állatból, és mesterséges körülmények között vizsgálják a myometrium kontraktilitását. Az *in situ* technikákat altatásban végzik, műtétiileg felnyitják az állat hasüregét, és így vizsgálják a méh működését (Finn és Porter, 1975).

Az *in vivo* technikák lényege és előnye, hogy a méh működését egy éber állaton vizsgálják. Hátránya, hogy az eredményeket számos külső tényező befolyásolhatja (Finn és Porter, 1975). Tehenekben alkalmazott *in vivo* technika a tapintás kézzel, a feszülésmérő bélyegek (strain gauge) alkalmazása, a belső méhnyomás (intrauterine pressure, IUP) mérése és az ultrahangvizsgálat. A manuális tapintás szarvasmarhákban rektálisan történik, ez a módszer információt adhat a méh tónusáról, de a kontraktilitás egyéb számszerűsíthető jellemzésére nem alkalmas. A feszülésmérő bélyegek üreges szervek izomaktivitásának mérésére úgy használhatók, hogy a szerv falára helyezzük őket, az eszköz elektromos ellenállása pedig megváltozik az izomösszehúzódás következtében végbemenő mechanikai deformáció hatására. Az ultrahangvizsgálat a petefészek-képletek és a méh morfológiájának vizsgálatán túl részben alkalmas a méhkontraktilitás megfigyelésére is.

Az *in vivo* technikák közül a legelterjedtebb módszer a méh kontraktilitásának pontos jellemzésére a belső méhnyomás mérése, mely történhet nyitott vagy zárt rendszerekkel (Bajcsy, 2005).

#### **2.2.5.1. A belső méhnyomás mérése**

A belső méhnyomás mérése két törvényen alapszik: Laplace és Pascal törvényén. Laplace törvénye szerint a lumenben a nyomás (P) függ a fal feszülésétől (T), a fal vastagságától (w) és a lumen sugarától (R):  $P=(2w/R)T$ . Pascal törvénye szerint a folyadékkal telt zárt rendszerben a nyomás minden ponton azonos. Utóbbi a méhre nem minden esetben alkalmazható, mivel a méhnyakon keresztül a szerv tartalma időnként külvilág felé távozik (Bajcsy, 2005).

Az IUP zárt rendszerrel történő mérésénél a méhbe egy olyan katétert vezetnek, melynek vége egy folyadékkal, vagy gázzal töltött ballonhoz kapcsolódik, vagy egy membránnal van lezárva. A módszer hátránya, hogy a ballon feltöltésére használt közeg térfogata minden alkalommal eltérhet, így az alapnyomás is más lehet a különböző mérések során. További hátránya, hogy a folyadék tehetetlensége miatt gyors változások mérésére kevésbé alkalmas, valamint, hogy a ballon által irritált méhfal kontraktilitása megváltozhat (Finn és Porter, 1975).

A nyitott rendszereknél a méhben lévő katéter vége nincs lezárva, esetleg szivaccsal van bevonva (Bengtsson, 1968). A katéter folyadékkal van feltöltve, mely közvetítő közegként a nyomást egy, az állat farára erősített transzducerhez továbbítja. A hosszabb mérésekhez a katétert az állat méhében rögzíteni kell, hogy az állat erőlködés közben ne nyomhassa ki azt a méhnyakon keresztül. Ha a katéter végét egy karunkulához rögzítjük a méhen belül, az a kinyomódást hatékonyan megakadályozza, hosszabb mérések során is a méh ugyanazon pontján marad az eszköz (Bajcsy és mtsai, 2005b). A módszer hátránya, hogy a katéter vége részben, vagy teljesen eltömődhet, például ha nekifekszik a méh nyálkahártyájának, vagy a magzatburkoknak (Bajcsy, 2005).

A méh nyomása mikrotranszducerek segítségével is mérhető. Itt a nyomásváltozások elektromos jellé alakítása közvetlenül a méhben történik, amit a mikrotranszducer végez, így az ilyen felvételeket kevésbé zavarják külső tényezők (például a tehén mozgása, lépkedése). Hátránya, hogy még mindig költségesebb, mint a nyitott végű katéter rendszer, így napjainkban kevésbé alkalmas telepi körülmények között történő mérésekhez. A műszaki fejlődés azonban jelentős lépésekkel halad a miniatürizálás és a költségcsökkenés irányába (Bajcsy és mtsai, 2005b).

### **3. ANYAG ÉS MÓDSZER**

#### **3.1. A VIZSGÁLATOK IDEJE, A KÍSÉRLETI TEHENEK**

A vizsgálatokat egy nagylétszámú tejelő szarvasmarha telepen végeztük. A mérésekre 2006, 2007, 2010, 2012, 2014 és 2015-ben szervezett többhetes vizsgálati szakaszok keretében került sor.

A kísérleti állatok frissen ellett, legalább második laktációjukat kezdő Holstein-fríz szarvasmarhák voltak. A vizsgálatba bevont egyedek az ellés körül nem kaphattak semmilyen, a kísérleti protokolltól eltérő kalcium vagy D-vitamin tartalmú kezelést. A teheneket a mérések idején kívül átlagos telepi körülmények között, a többi szarvasmarhával együtt, kiscsoportokban tartották az ellető istállóban. A kísérletbe vont állatokat csupán a mérések idejére fogtuk ki egyedi állásokba. Abból a célból, hogy a behelyezett katéterek és az állatok farára erősített transzducerek ne sérüljenek a fejőházba való hajtás során, a vizsgált teheneket a többivel ellentétben az elletőben, sajtáros technológiával fejték. A kísérlet során összesen 52 egyedet vizsgáltunk: 2006-ban 13-at, 2007-ben 2-öt, 2010-ben 10-et, 2012-ben 2-öt, 2014-ben 15-öt, 2015-ben 10-et.

#### **3.2. A KÍSÉRLETI PROTOKOLL, KEZELÉSEK**

Az összes kísérletbe vont tehenen összesen 4 alkalommal végeztünk IUP mérést. Az első vizsgálat megkezdése előtt az állatok farokvénájából vagy -artériájából vért vettünk. Egy hordozható vérgáz- és elektrolit-automatán (ABL 77, Radiometer) egyéb paraméterek mellett megmértük a minták  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációját. A mért érték alapján a teheneket hipokalcémiás ( $n=38$ ), vagy normokalcémiás (kontroll) csoportba ( $n=14$ ) osztottuk. A normokalcémia alsó határértékét Kvarit és mtsai (1982) publikációja alapján  $1,06 \text{ mmol/l}$  vér  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációban határoztuk meg. A hipokalcémiás (vér  $\text{Ca}^{2+} < 1,06 \text{ mmol/l}$ ) teheneket véletlenszerűen további 3 csoportba osztottuk: hipokalcémiás kezeletlen ( $n=18$ ), szájon át kalcium-tartalmú pasztával kezelt ( $n=10$ ) és intravénásan kalcium-tartalmú infúzióval kezelt ( $n=10$ ).

Minden állatnál feljegyeztük a magzatburkok meglétét. Amennyiben az első méréskor a tehénből még nem távozott a placenta, az egyedet RFM (retained fetal membrane, magzatburok-visszamaradásos) alcsoportba osztottuk ( $n=14$ ). Ellenkező esetben az állat NRFM (no retained fetal membrane, nem magzatburok-visszamaradásos) alcsoportba került ( $n=38$ ).



Az első, az ellés után 14-17 órával kezdett vizsgálat kezeletlen állatok (kontroll és hipokalcémiás kezeletlen csoport) esetében 4 órán át tartott. A kezelt csoportok állatain (szájon át vagy intravénásan kezelt hipokalcémiás csoport) 1 óra mérés után elvégeztük a megfelelő kezelést, a kalcium-készítmény beadása után pedig további 4 óra (így összesen 5 óra) IUP vizsgálatot végeztünk. Az első mérést az egyszerűség kedvéért „pp12”-nek (post partum 12 óra) neveztük el. Minden kísérleti tehén esetében további három 1 órás vizsgálatot végeztünk az előző kezdetétől számított 12 óra múlva. Ezeket a méréseket ennek megfelelően „pp24”, „pp36” és „pp48” névvel jelöltük. A fejés hatásának kiküszöbölése érdekében, amennyiben az a mérések ideje körül szükséges volt, az elletősök az adott vizsgálat előtt legalább 1 órával fejhették meg a teheneket.

A hipokalcémiás szájon át kezelt állatoknak a „pp12” mérés első órájának végén 1 tubus ReCovin Calcium pasztát (295g, benne: 180,5 g CaCl<sub>2</sub>/Jørgen Kruuse A/S/) adtunk *per os*. A hipokalcémiás intravénásan kezelt csoport egyedeit ugyanebben az időben 500 ml Cofacalcium A.U.V. injekcióval (40 g Ca-glükonát /Coophavet/) infundáltuk a *vena jugularis*-ba. Az infúzió beadásánál ügyeltünk annak sebességére, az állat szívverését folyamatosan figyeltük fonendoszkóppal.

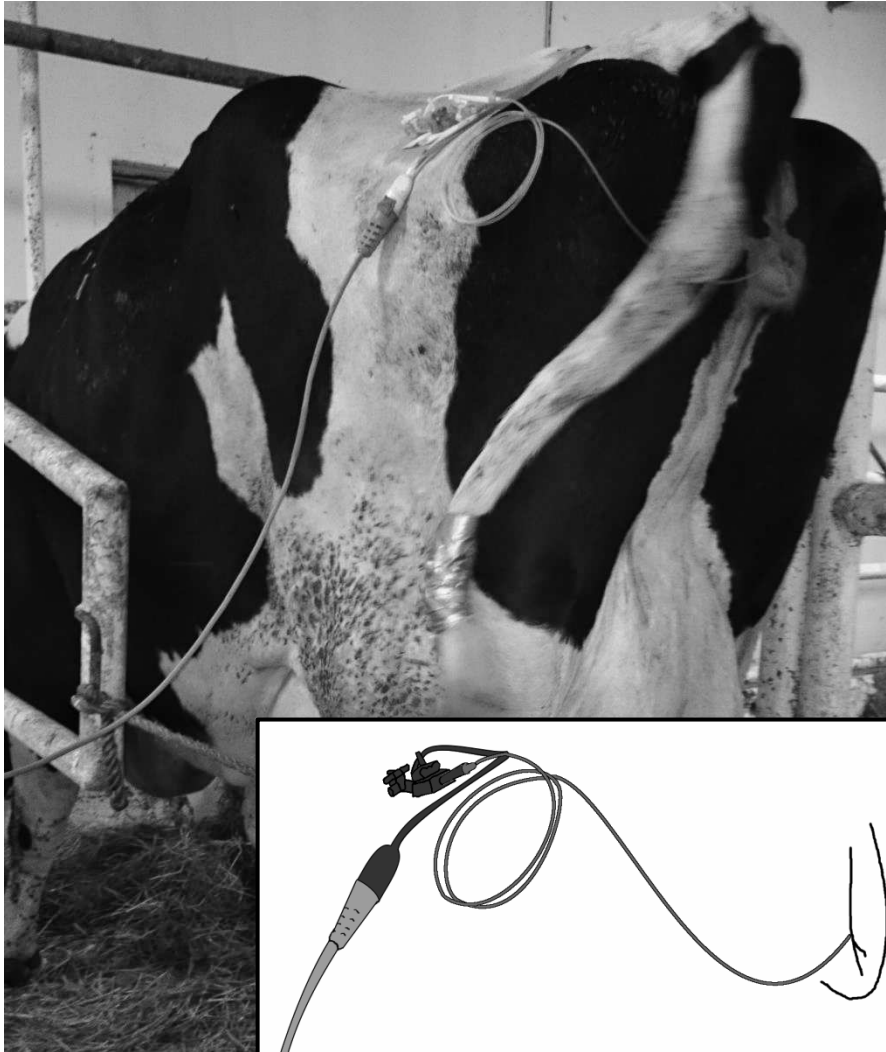
A „pp12”-es vizsgálat kezdetén vett vérmintán kívül további kalcium mérések történtek egyrészt ugyanennek az első mérésnek a végén, valamint az összes többi 1 órás vizsgálat befejeztével. Így összesen 5 vérmintából történt ionizált kalcium meghatározás: ezek jelzése „pp12”, „pp16” (kezeletlen állat) vagy „pp17” (kezelt állat), „pp25”, „pp37” és „pp49” volt.

### **3.3. A VIZSGÁLATOK MÓDJA, ESZKÖZEI**

A legalább második laktációjukat kezdő teheneken az első IUP mérést az ellés után 14-17 órával kezdtük el. A mérések előtt az állatok méhébe vezettünk transzcervikálisan egy vékony, nyitott végű polietilén katétert. A katéter rögzítése Bajcsy és mtsai (2005b) által leírt módszer szerint történt. A katéter vége mögé erősített gumigyűrűn korábban átfűztünk egy sebészi fonalat oly módon, hogy az egy hurkot alkosson. A hurok segítségével a katéter végét egy karunkulához rögzítettük ügyelve arra, hogy az eszköz nyílása ne feküdjön neki a méh nyálkahártyájának vagy a magzatburoknak. A gumigyűrűhöz előzőleg egy másik sebészi fonalat rögzítettünk, ennek segítségével az utolsó mérés végén a katéter és a rögzítő apparátus könnyedén eltávolítható volt.

A behelyezett katéter külső végét egy folyadéknymást mérő transzducerhez (Ohmeda Inc., Murray Hill, NJ) kapcsoltuk. A transzducert a tehén leborotvált és alkohollal

megtisztított farához rögzítettük Leucoplast segítségével (1. ábra). A transzducer által generált elektromos jelek erősítés és digitális konvertálás után egy számítógépbe jutottak. Az IUP adatok fogadása és feldolgozása a LabVIEW 5.0 (National Instruments Corp., Austin, TX) szoftver segítségével egy direkt erre a célra fejlesztett programmal történt.



*1. ábra: A méhbe vezetett katéter (piros) és a tehén farára erősített transzducer (kék). Egy kábel (zöld) továbbítja az elektromos jeleket az erősítő felé.*

A katéter behelyezése után, az első vizsgálat megkezdése előtt vért vettünk az állatok farokvénájából vagy -artériájából, és ennek alapján megtörtént a megfelelő csoportba való besorolás. A transzducert az első mérés előtt pár ml 0,9%-os NaCl-oldattal töltöttük fel. A feltöltés után egy manométer segítségével a rendszert kalibráltuk, hogy a LabVIEW által tárolt relatív nyomás értékeket utólag át tudjuk számítani Hgmm-re. A kalibrálás után a

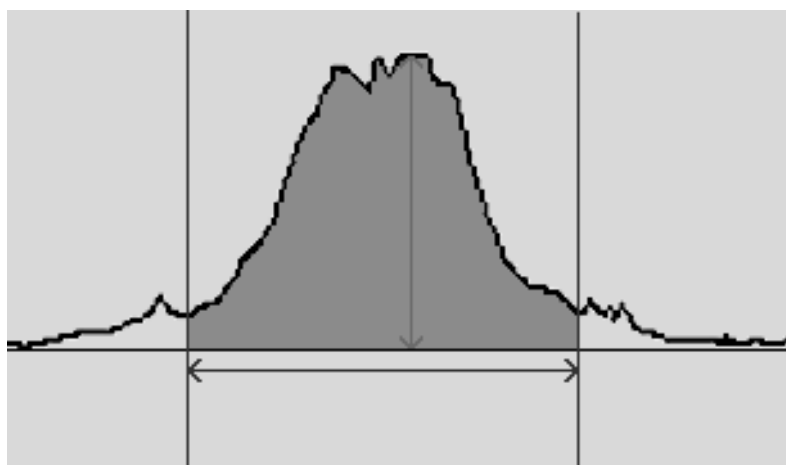
katétert feltöltöttük 10 ml 0,9%-os NaCl-oldattal, és megkezdjük a mérést. A tehenek későbbi 1 órás méréseinek a kezdetén is megtörtént a rendszer NaCl-oldatos átmosása.

A mérések ideje alatt az állatokat végig megfigyeltük, hogy a nem a méh összehúzódásából származó, de a has és a méh üregében nyomást generáló zavaró történéseket (pl. vizelet vagy bélsár ürítés, köhögés, bögés, lefekvés, felállás stb.) utólag kiszűrhessek. Ennek érdekében a tehenek által mutatott minden aktivitást a számítógépen, a zajt okozó esemény idejével együtt feljegyeztük, ezeket a feljegyzéseket a későbbi elemzésekhez felhasználtuk.

### 3.4. AZ ADATOK ELEMZÉSE

A méréseket 1 órás szakaszokra bontva vizsgáltuk. Ennek megfelelően a „pp12” mérések 4 db 1 órás mérésből álltak, a „pp24”, „pp36” és „pp48” felvételek mind 1 órák voltak.

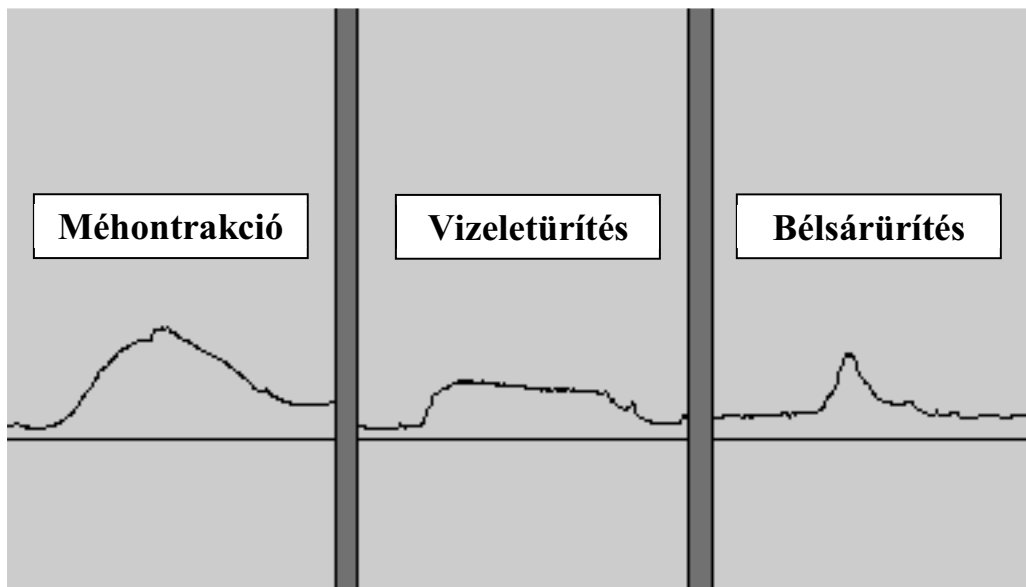
A LabVIEW által rögzített adatok a programban az idő és a mért relatív nyomás függvényeként jelennek meg a grafikus felületen. Ennek megfelelően a méhkontrakciók a myometrium lassú összehúzódása és elernyedése miatt egy Gauss-görbére emlékeztetnek (2. ábra) A méhaktivitás számszerűsítésének érdekében a szoftver segítségével ezeket a görbéket több paraméterrel jellemeztük: megmértük azok alapvonalától való elemelkedésének mértékét, vagyis amplitúdóját (amplitude, AMP), az elemelkedés hosszát (duration, DUR), kiszámítottuk a görbe alatti területüket (area under the curve, AUC). A méhösszehúzódások gyakoriságát (frequency, FREQ) az 1 óra mérés alatt azonosított összes kontrakció száma adta meg. Meghatároztuk a mérés adott órájában az összes görbe alatti területet (total area under the curve, TAUC) is. Ezeknek az értékeknek a kinyerése 3 lépésben történt.



2. ábra: Egy méhösszehúzódás által generált nyomásgörbe. Az görbén jelölve van annak amplitúdója (piros nyíl), hossza (kék nyíl), és a görbe alatti terület (sötétebb terület).

Mivel minden mérés során keletkezik valamennyi zaj (például az állat lépkedése miatt), amely az alapvonal kisebb-nagyobb egyenetlenségéhez vezet, ezért fontos egy olyan amplitúdó-határérték meghatározása, mely alatt a nyomásváltozásokat nem vesszük figyelembe. Ennek érdekében az első lépésben a „pp12” mérés legnagyobb amplitúdójú méhnyomás-görbéi alapján kiszámítottunk egy átlagos maximum amplitúdó értéket (mean maximum amplitude, MMA). Ennek az MMA értéknek a 10%-a volt az a határ, ami alatt figyelmen kívül hagytuk a görbéket. Ezt a határértéket alkalmaztuk az adott egyed összes mérésének elemzéséhez.

A második lépésben az 1 órás szakaszokban az MMA érték 10%-ánál magasabb görbéket elemeztük. Mivel sok olyan, méhösszehúzódtól eltérő tényező lehet, mely akár a meghatározott határértéknél is magasabb IUP növekedést okozhat, ezért az elemzések során mindig figyelembe vettük a mérés alatt korábban már feljegyzett viselkedését a tehénnek. Gyakran előforduló zavaró tényező a vizelet és bélsár ürítés, a hasprés, gázok távozása a rektumból vagy a vulvából. Ezek a történések általában a méhkontrakcióktól eltérő a morfológiájuk a LabVIEW által képzett grafikus felületen (3. ábra) A zajokat az elemzésből kizártuk, a többi görbének a program segítségével megmértük az AMP, DUR és AUC értékeit.



3. ábra: A méhösszehúzódtól, a vizelet- és bélsárürítés görbéinek morfológiája a LabVIEW grafikus felületén, egy és ugyanazon mérésen belül.

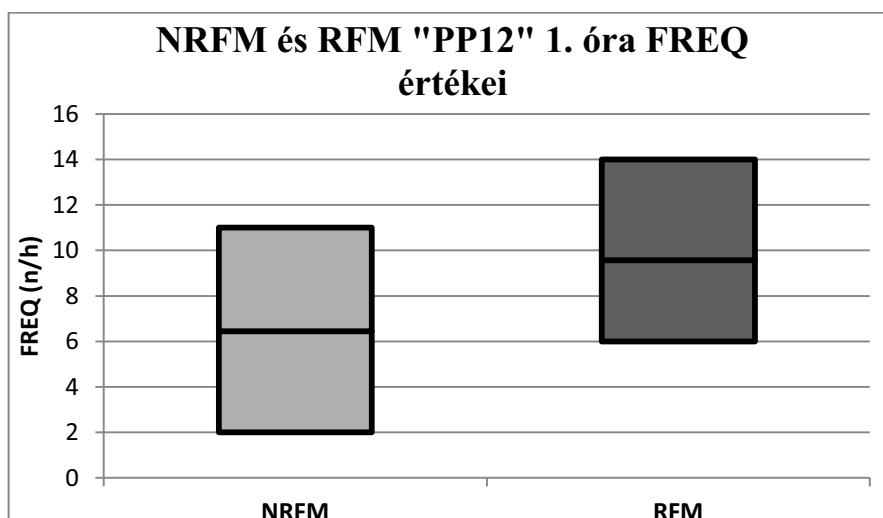
A harmadik lépésben a görbék végleges szelekciója azok AUC értéke alapján történt. Csak azokat a nyomásváltozásokat vettük figyelembe, melyeknél az AUC meghaladta a „pp12” mérés 4 legnagyobb méhösszehúzódnásából számolt átlagos maximum AUC érték 10%-át. Végül az adott 1 órás mérési periódusokra kiszámoltuk a görbék átlagos AMP, DUR és AUC értékeit, valamint meghatároztuk a frekvenciát és a TAUC-t. A korábbi kalibráció alapján az eddig még relatív nyomásértékeket átszámoltuk abszolút, Hgmm-ben megadott nyomásértékekké. Az elemzés végeztével minden tehénből 7 db 1 órás mérési periódusról voltak adataink (4\*1 óra „pp12”, 1-1 óra „pp24”, „pp36” és „pp48”)

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1. A „PP12” MÉRÉSEK EREDMÉNYEI A KEZELÉSEK ELŐTT**

Az ellés után 14-17 órával kezdődő „pp12” mérés 1. órájában még egyik állat sem részesült kezelésben. Ekkor az összes tehenet (n=52) figyelembe véve az összehúzóadások átlagos frekvenciája 7,3 (2-14) n/h, átlagos amplitúdója 21,4 (6,9-56,1) Hgmm, átlagos hossza 66,7 (28,5-122,0) másodperc, átlagos AUC-je 595,7 (24,0-1458,1) Hgmm\*sec, átlagos TAUC-je 4641,6 (471,9-17432,9) Hgmm\*sec volt. Látható, hogy minden adat esetében nagy egyedi különbségek mutatkoztak a tehenek között.

Kísérletünkben a vizsgált tehenek 26,9%-át diagnosztizáltuk magzatburok-visszamaradással. Szignifikáns különbséget találtunk az RFM (n=14) és NRFM (n=38) csoport teheneinél a „pp12” első órájának FREQ, AUC és TAUC eredményei között. A magzatburok-visszamaradással diagnosztizált tehenek „pp12” első órás mérésekor az átlagos frekvencia 9,6 (6-14) n/h volt, ez az érték NRFM állatoknál szignifikánsan ( $P < 0,001$ ) kisebb, 6,5 (2-11) n/h volt (4. ábra). Ugyanebben az időben az NRFM csoport AUC átlaga 531,5 (118,0-1458,1) Hgmm\*sec, az RFM csoporté 758,5 (281,2-1245,2) Hgmm\*sec ( $P < 0,05$ ) volt. A „pp12” első órájában az NRFM csoport TAUC értéke 3631,09 (471,9-16039,0) Hgmm\*sec, az RFM csoporté 7384,5 (2811,8-17432,9) Hgmm\*sec ( $P < 0,01$ ) volt. Bár az RFM csoport DUR átlaga 73,79 (56,9-102,6) sec, AMP átlaga pedig 25,49 (12,3-50,0) Hgmm volt az NRFM csoport 64,04 (28,5-121,6) sec-es DUR átlagával és 19,8 (6,9-56,1) Hgmm-es AMP átlagával szemben, ez a különbség nem volt szignifikáns.



4. ábra: NRFM és RFM tehenek minimum, átlagos, és maximum FREQ értékeinek összehasonlítása a "pp12" 1. órájában

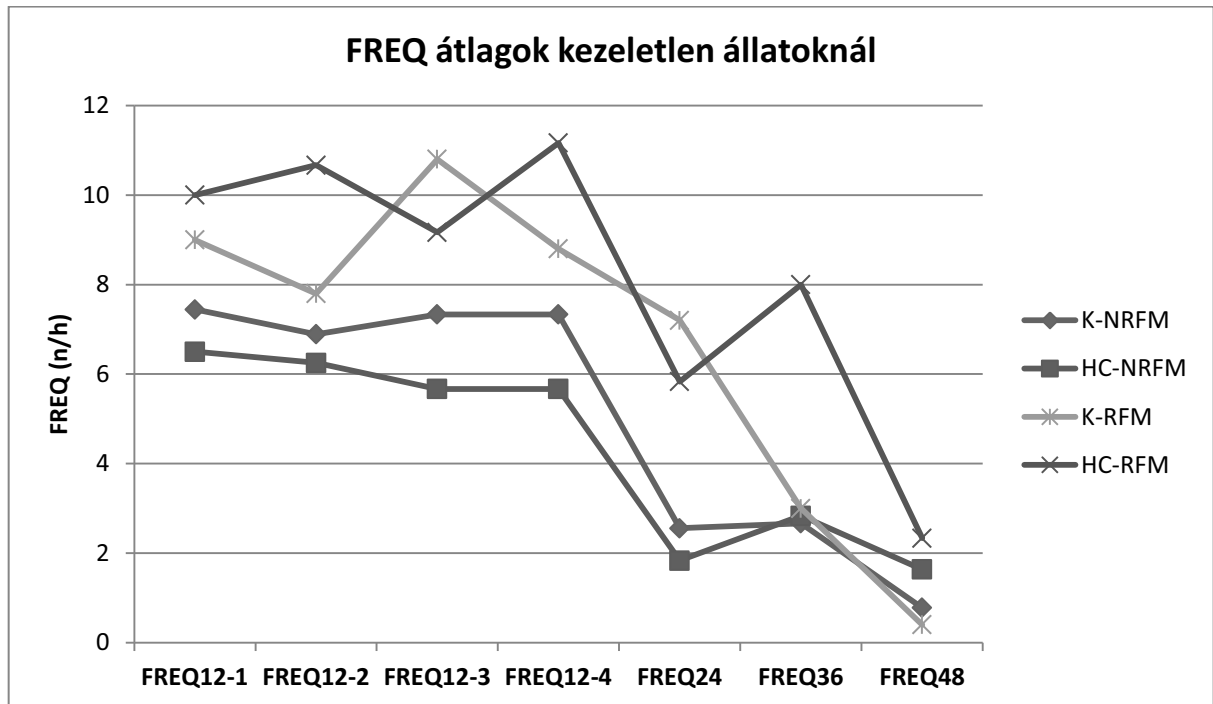
## 4.2. KEZELETLEN TEHENEK MÉHAKTIVITÁSÁNAK IDŐBELI VÁLTOZÁSA

A fent leírt lényeges különbségekből látható, hogy érdemes a csoportokat mindig a magzatburok megléte alapján felosztva vizsgálni. A kontroll csoport RFM (n=5) és NRFM (n=9) teheneinél, valamint a hipokalcémiás kezeletlen csoport RFM (n=6) és NRFM (n=12) állatainál is az látszott, hogy a „pp12” mérés 4 órájában nem történik szignifikáns változás egyik csoport átlagos FREQ értékeiben sem. A hipokalcémiás csoportok átlagos FREQ értékei némileg alacsonyabbak voltak a kontroll csoportokénál, de a különbség nem volt szignifikáns (kontroll NRFM 6,9-7,4 n/h, hipokalcémiás NRFM 5,7-6,5 n/h; kontroll RFM 7,80-10,80 n/h, hipokalcémiás RFM 9,2-11,2 n/h).

A „pp24”, „pp36” és „pp48” mérésekre az összes csoport átlagos FREQ paraméterei csökkentek a „pp12” 4 órájában mért értékekhez képest. A legjelentősebb FREQ csökkenés az előző méréshez képest a „pp24” során történt, ekkor a „pp12” első órájához képest a kontroll NRFM csoport átlaga 34%-ra ( $P < 0,001$ ), a hipokalcémiás kezeletlen NRFM csoporté 28%-ra ( $P < 0,005$ ) csökkent. Ezek az értékek „pp48”-ig további enyhe csökkenést mutatnak. Bár az RFM csoportok átlagos FREQ értéke szintén csökkent „pp24”-kor, arányaiban az NRFM csoportokéhoz hasonló mértékű szignifikáns csökkenést csak később, a kontroll RFM csoport „pp36”-ban ért el 33%-al ( $P < 0,005$ ), a hipokalcémiás kezeletlen RFM csoport pedig „pp48”-ban 23%-al ( $P < 0,005$ ). Az RFM és NRFM csoport átlagai a „pp48”-as mérést leszámítva szignifikánsan ( $P < 0,01$ ) eltértek egymástól. A „pp48” során a csoportok hasonlóan alacsony méhaktivitást mutattak, FREQ átlagaik 0,4-2,3 n/h között voltak (5. ábra). A FREQ szempontjából a hipokalcémiás kezeletlen és a kontroll csoportok átlagai nem mutattak szignifikáns eltérést a „pp12” utáni mérésekkor sem. A tehenek egy részénél „pp24”-től kezdve előfordult, hogy nem tudunk méhösszehúzódot azonosítani az 1 órás mérés során, ekkor a FREQ 0 volt (1. táblázat).

1. táblázat: A FREQ=0 mérések aránya %-ban az utolsó 3 mérési óra során, az összes csoportban

	pp24	pp36	pp48
<b>Kontroll-NRFM</b>	22,22	22,22	66,67
<b>Hipokalcémiás kezeletlen-NRFM</b>	41,67	8,33	33,33
<b>Pasztával kezelt-NRFM</b>	0,00	14,29	0,00
<b>Intravénásan kezelt-NRFM</b>	30,00	30,00	20,00
<b>Kontroll-RFM</b>	0,00	0,00	80,00
<b>Hipokalcémiás kezeletlen-RFM</b>	0,00	16,67	66,67
<b>Pasztával kezelt-RFM</b>	0,00	33,33	66,67



5. ábra: FREQ átlagok változása időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen)

A TAUC átlagok minden tekintetben FREQ-hez hasonlóan változtak, a „pp24” méréskor jelentősebb csökkenés tapasztalható, az RFM és NRFM csoportok között „pp48” kivételével szignifikáns ( $P < 0,05$ ) a különbség (6. ábra).

Az AMP átlagokat vizsgálva nem volt olyan mértékű szignifikáns csökkenés „pp24”-nél, mint a FREQ vagy TAUC esetében. Az AMP átlagok szempontjából az RFM és NRFM csoportok között szignifikáns ( $P < 0,05$ ) volt a különbség a „pp36” és „pp48” méréseket leszámítva. „pp48”-ra az AMP átlagok végül a kiinduló értékek 31-53%-ára 7,9-12,5 Hgmm-re csökkentek (7. ábra).

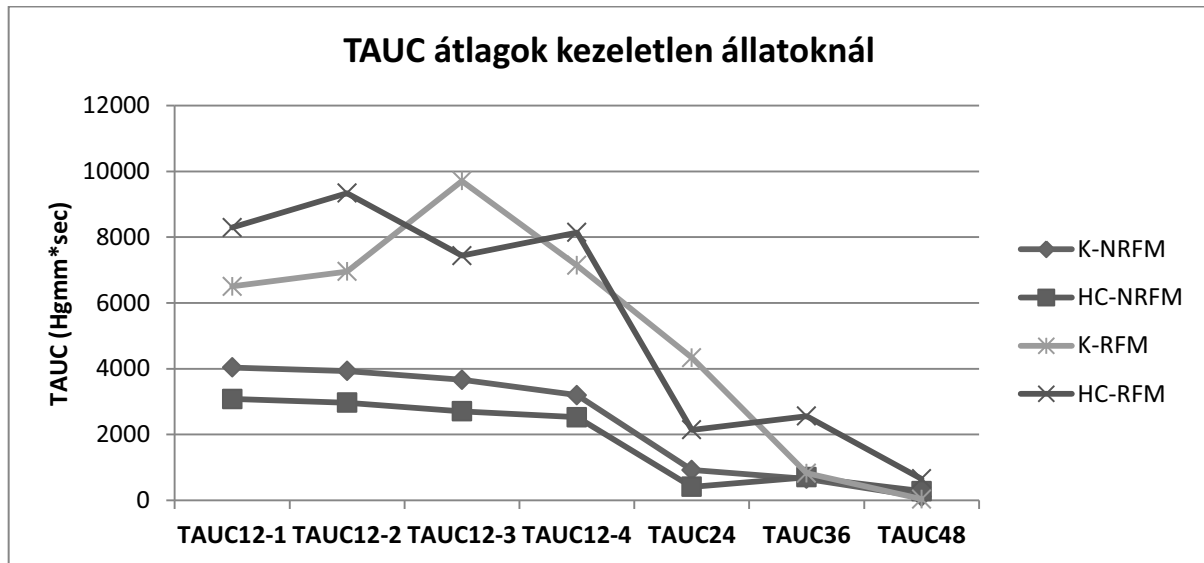
Az AMP-hoz hasonló fokozatosabb csökkenést mutattak az AUC átlagok is. „pp24”-nél csak a hipokalcémiás kezeletlen RFM csoport mutatott szignifikáns ( $P < 0,05$ ) esést. Az AUC átlagok „pp48”-ra fokozatosan a kiinduló „pp12”-es értékek 14-41%-ára csökkentek. Az RFM és NRFM csoportok között szignifikáns ( $P < 0,01$ ) volt a különbség a „pp24” és „pp48” méréseket leszámítva (8. ábra).

Az átlagos DUR alakulása a mérések során jelentősebben eltért a többi paraméterétől. Szignifikáns ( $P < 0,05$ ) csökkenés a „pp12” első órájához képest csupán a hipokalcémiás kezeletlen NRFM és kontroll RFM csoportoknál, a „pp36” és „pp48” méréseknél mutatkozott, és ekkor is csupán a „pp12” első órájának 63-67%-ra esett le az összehúzódnások átlagos ideje.

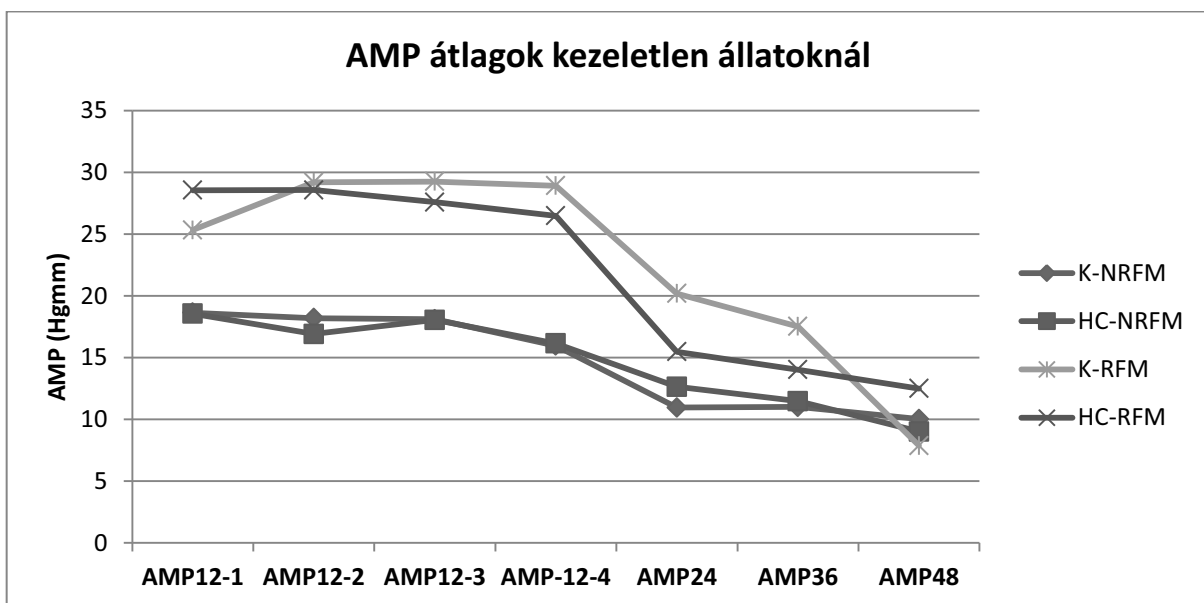


A DUR-t vizsgálva a többi paraméterrel ellentétben nem látszottak szignifikáns különbségek az RFM és NRFM csoportok között (9. ábra).

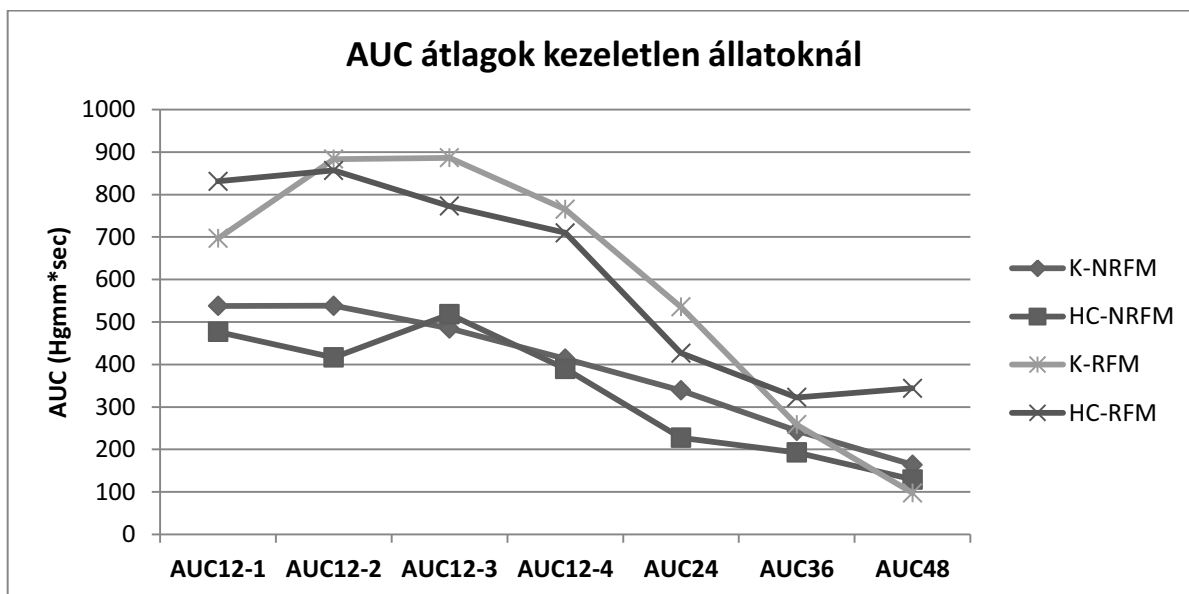
Bár a kontroll csoport AUC, TAUC és DUR paramétereinek átlagos értékei általában magasabbak voltak a mérések során a hipokalcémiás kezeltlen csoportéival összehasonlítva, ez az eltérés mégsem volt szignifikáns egyik vizsgálat során sem. A két csoport AMP átlagai nagyjából hasonlóan alakultak.



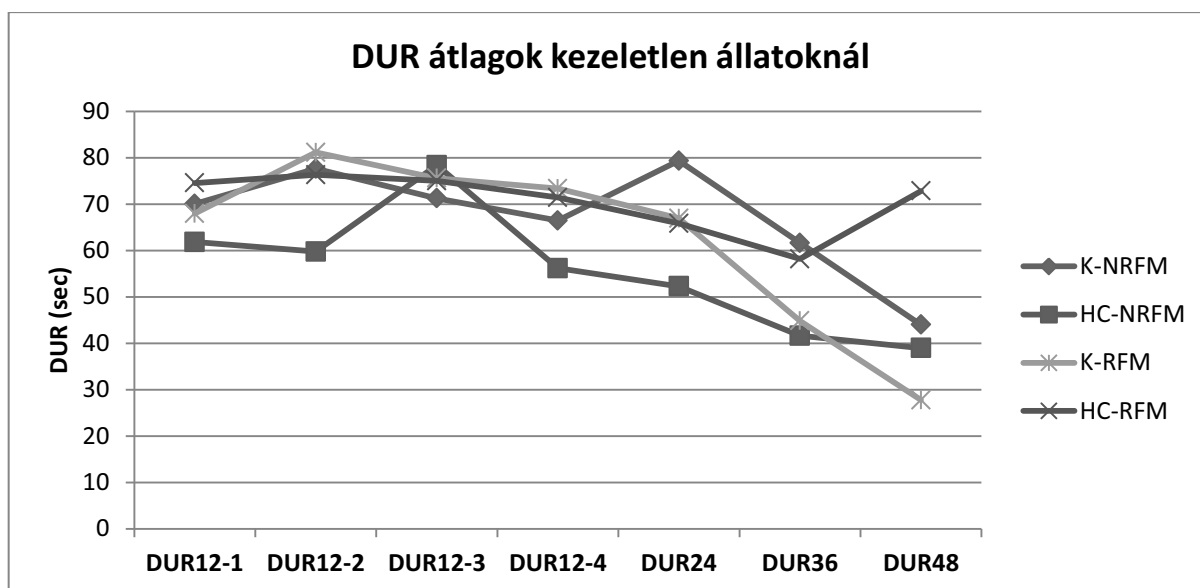
6. ábra: TAUC átlagok időbeni változása (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeltlen)



7. ábra: AMP átlagok változása az időben (K=Kontroll, HC=Hipokalcémiás kezeltlen)



8. ábra: AUC átlagok időbeni változása (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen)

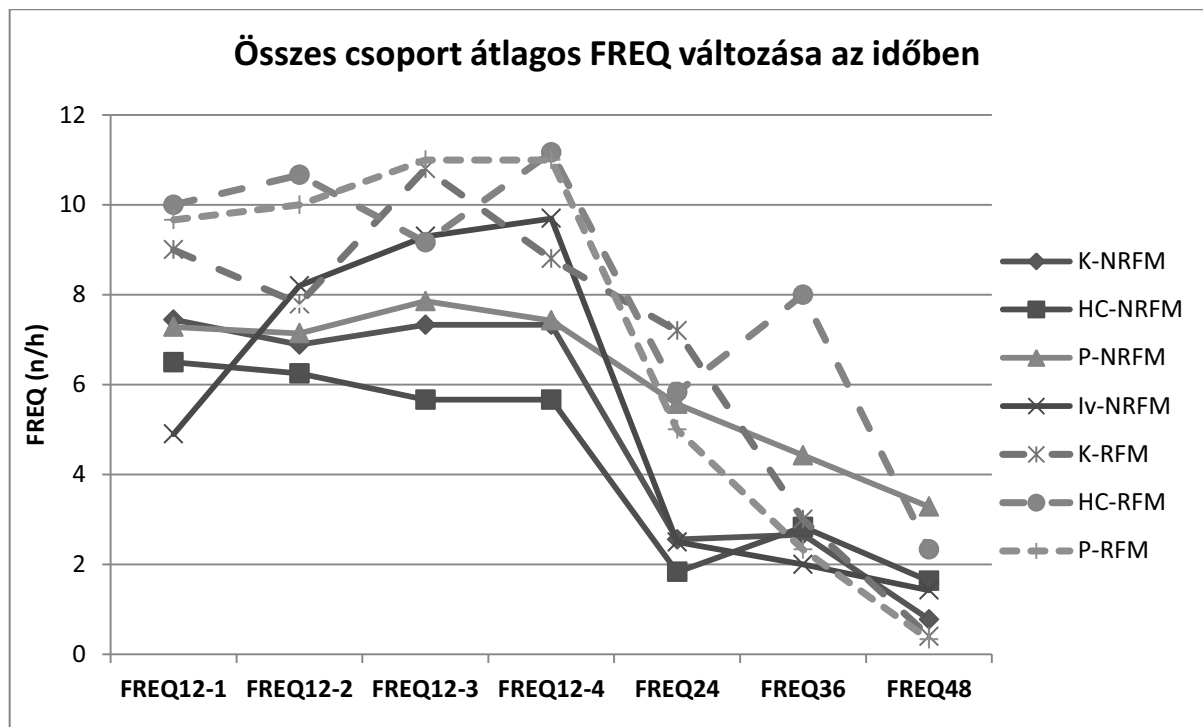


9. ábra: DUR átlagok változása az időben (K=Kontroll, HC=Hipokalcémiás kezeletlen)

### 4.3. A KEZELT CSOPORTOK MÉHAKTIVITÁSA

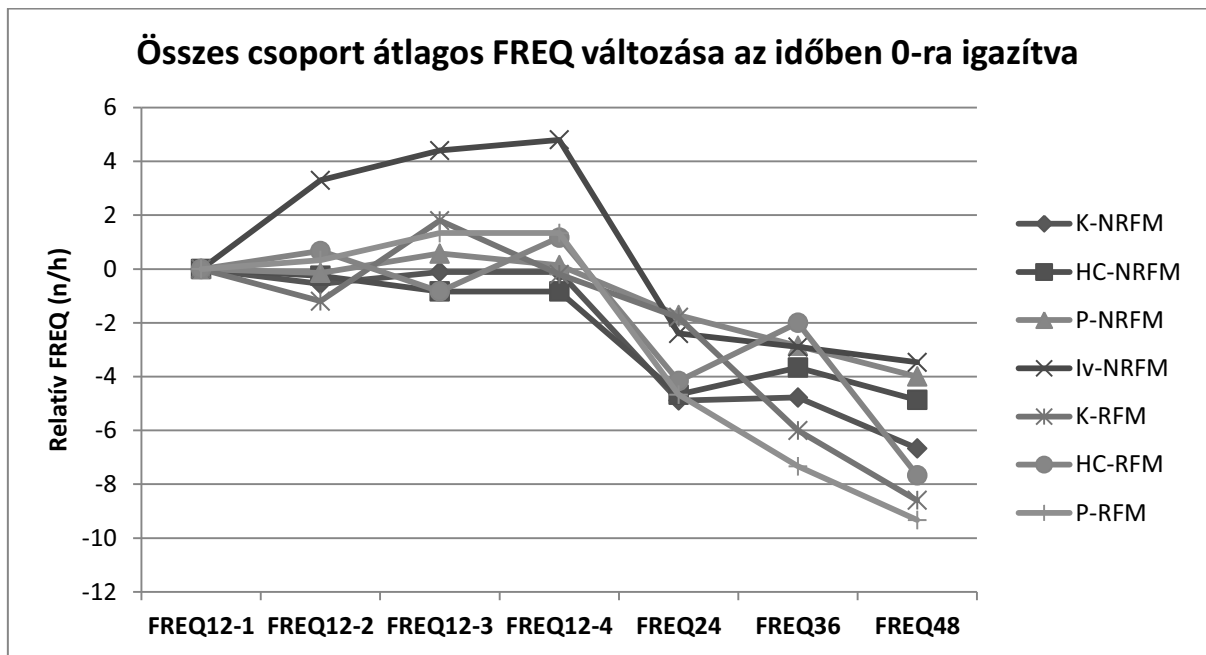
A szájon át kezelt csoportban voltak NRFM (n=7) és RFM (n=3) állatok is. Az intravénásan kezelt hipokalcémiás csoport csak NRFM tehenekből állt (n=10). A kezelt csoportok némileg már kiinduló értékeikben eltértek a kezeletlen csoportoktól. Az intravénásan kezelt hipokalcémiás állatok átlagos FREQ értéke a „pp12”-ben az összes csoport közül a legalacsonyabb volt (10. ábra). A kalcium-pasztával kezelt NRFM csoport

kezdő átlagai több dologban is eltértek a kontroll NRFM és hipokalcémiás kezeletlen NRFM csoportokétól. Az „pp12” 1. órájában a pasztás NRFM csoport átlagos AMP (13. ábra) és AUC (14. ábra) értékei az RFM csoportok szintjén voltak, továbbá viszonylag magas volt ekkor az átlagos TAUC is (12. ábra). Ebben az időben a három *per os* kezelt RFM egyed ekkor mért AMP értéke az NRFM csoportokéhoz hasonló volt (13. ábra).



10. ábra: Az összes csoport FREQ változása az időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)

Míg a kontroll és hipokalcémiás kezeletlen NRFM csoportok a „pp12” első 4 órájában szignifikáns átlagos FREQ változást nem mutattak, az intravénásan kezelt hipokalcémiás csoportnál jelentős (167%-os) és szignifikáns ( $P < 0,01$ ) emelkedés következett be a „pp12” 1. órájáról annak 2. órájára. A 3. és 4. órákra ez a paraméter tovább növekedett a kiindulási érték 198,0%-áig, elérve így az RFM csoportokhoz hasonló 9 n/h feletti frekvenciát. A pasztával kezelt RFM és NRFM csoport a kontroll és hipokalcémiás kezeletlen csoportokhoz hasonlóan nem mutatott ebben a 4 órában jelentős változást (10. ábra). A FREQ változása jól összehasonlítható volt a különböző csoportok között, amennyiben a „pp12” 1. órájának értékét mindnél 0-nak vettük (11. ábra).



11. ábra: Az összes csoport FREQ átlagainak változása, ha a „pp12” 1. órájának értékét 0-nak vesszük mindnél. (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)

A „pp24” mérésnél a kezelt csoportok FREQ értékei is csökkentek a „pp12” 1. órájához képest. Az intravénásan kezelt csoportnál ez a csökkenés oly mértékű volt, hogy az NRFM kezeletlen állatokhoz hasonló 2,5 n/h-ra esett vissza az átlag. Nem csökkent ugyanakkor ilyen jelentősen a szájon át kezelt NRFM csoport FREQ átlaga a „pp24” mérésre. Ennél a mérésnél a *per os* csoport átlaga a kezeletlen NRFM és intravénásan kezelt csoportokénál is magasabb volt (5,57 n/h), bár ez csak a hipokalcémiás kezeletlen csoporttal összehasonlítva volt szignifikáns ( $P < 0,05$ ). A pasztával kezelt RFM csoport FREQ átlaga hasonlóan csökkent „pp24” során, mint a kezeletlen RFM csoportoké (10. ábra).

A „pp36” és „pp48” során is a pasztával kezelt NRFM állatok FREQ átlaga (a hipokalcémiás kezeletlen RFM csoport „pp36”-os értékét leszámítva) a többi csoporté fölé maradt. Ez a különbség csak a kontroll csoporttal összehasonlítva, „pp48” során volt szignifikáns ( $P < 0,05$ ). A „pp36” és „pp48” során a másik két kezelt csoport FREQ átlagai a kezeletlen csoportokhoz hasonlóan alacsonyok voltak (10. ábra).

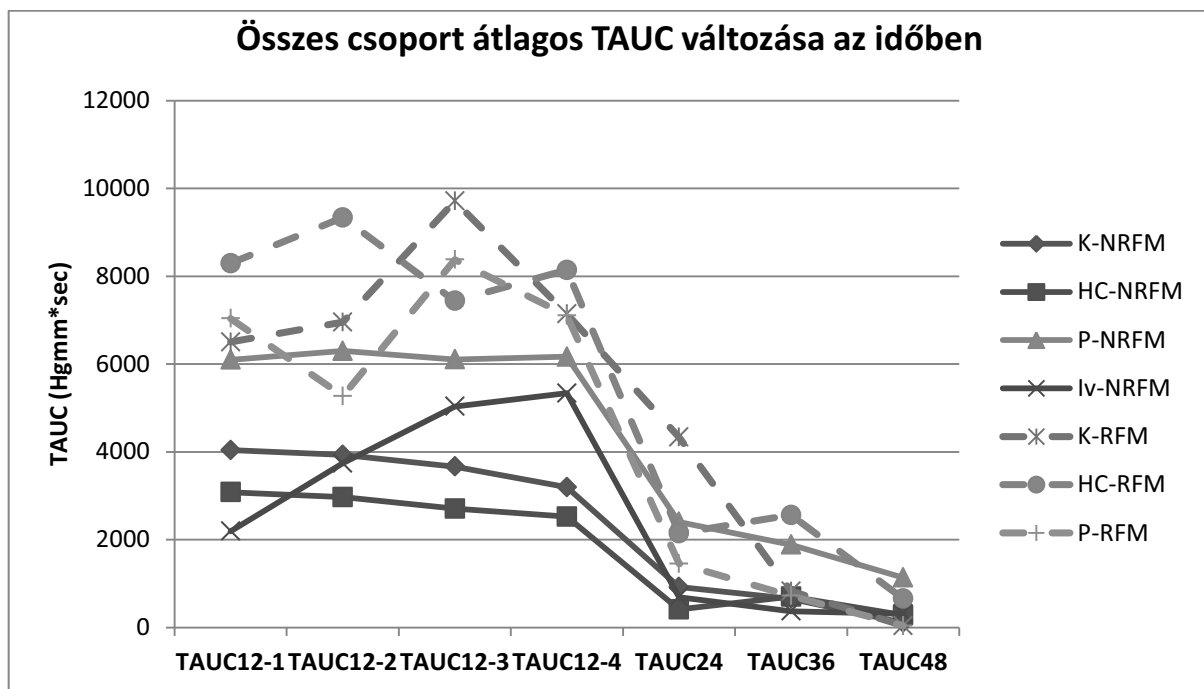
A TAUC átlagokat vizsgálva a FREQ-hoz hasonló emelkedést mutatott a kezelés után az intravénás csoport, majd a „pp24” során szintén szignifikáns ( $P < 0,001$ ) csökkenés jelentkezett. A pasztával kezelt NRFM állatoknál a kiinduló értékhez hasonlóan a TAUC átlaga végig a többi NRFM csoporté fölé maradt, de ez csak „pp48”-nál volt szignifikáns

( $P < 0,05$ ). A pasztával kezelt RFM csoport TAUC átlagai a többi RFM csoportétól nem tértek el szignifikánsan (12. ábra).

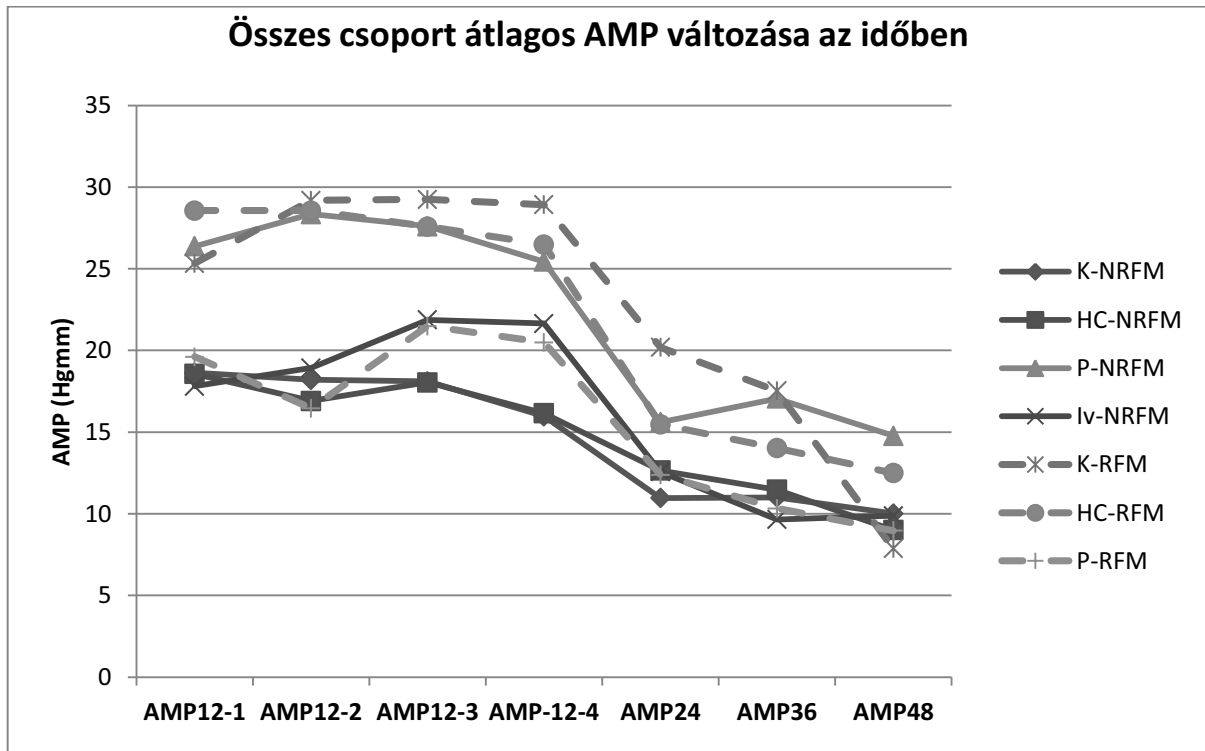
Az AMP átlag az intravénásan kezelt teheneknél kismértékű növekedést mutatott, de ez nem volt szignifikáns. Bár a pasztával kezelt RFM csoport AMP átlagai az NRFM csoportokéhoz hasonlóak voltak, a pasztával kezelt NRFM csoport AMP átlagai pedig az RFM csoportokéhoz közelítettek, ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak (13. ábra).

Az AUC átlagait nézve szintén nem volt szignifikáns növekedés egyik kezelést követően sem. A pasztával kezelt NRFM csoport AUC átlagai az RFM kezeletlen csoportokéihoz közelítettek (14. ábra).

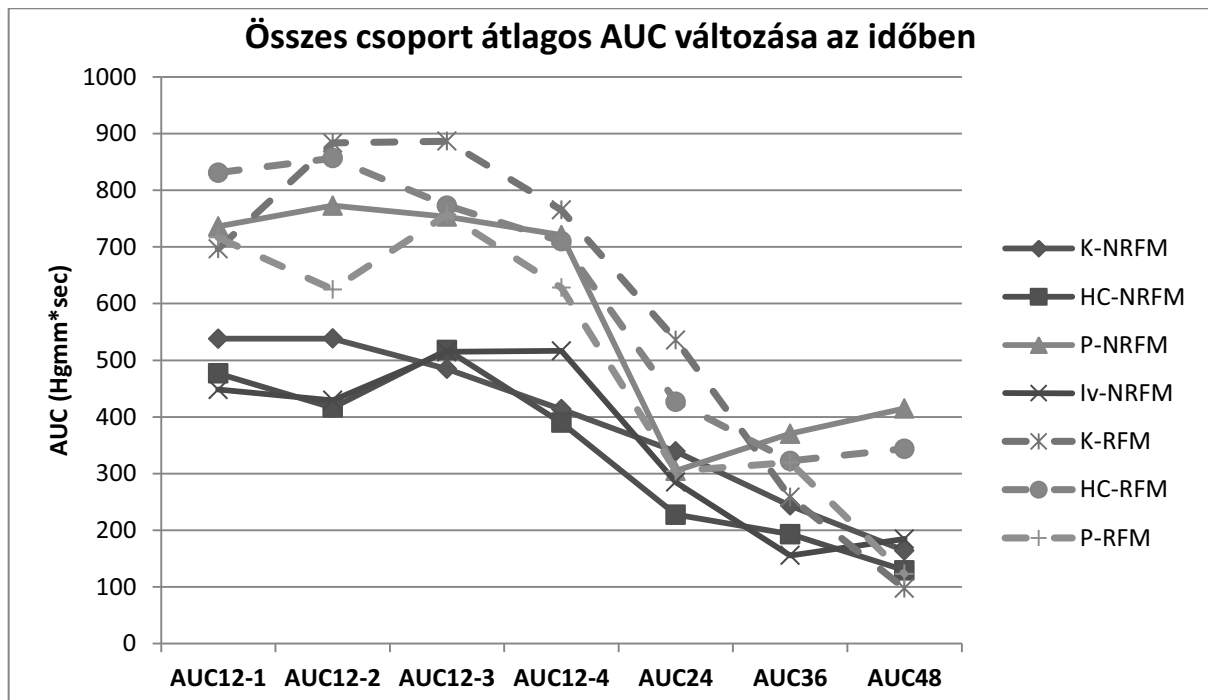
A DUR átlagok szintén nem mutattak növekedést a kezelés után, a kezelt csoportok DUR értékeinek változása pedig nem mutatott jelentős eltérést a kezeletlen csoportokéhoz képest. A pasztával kezelt RFM és NRFM állatok esetében előfordultak kontraktúrák a „pp36” és „pp48” mérések során, így ezek néhol kiugróan magas DUR átlagokhoz vezettek (15. ábra).



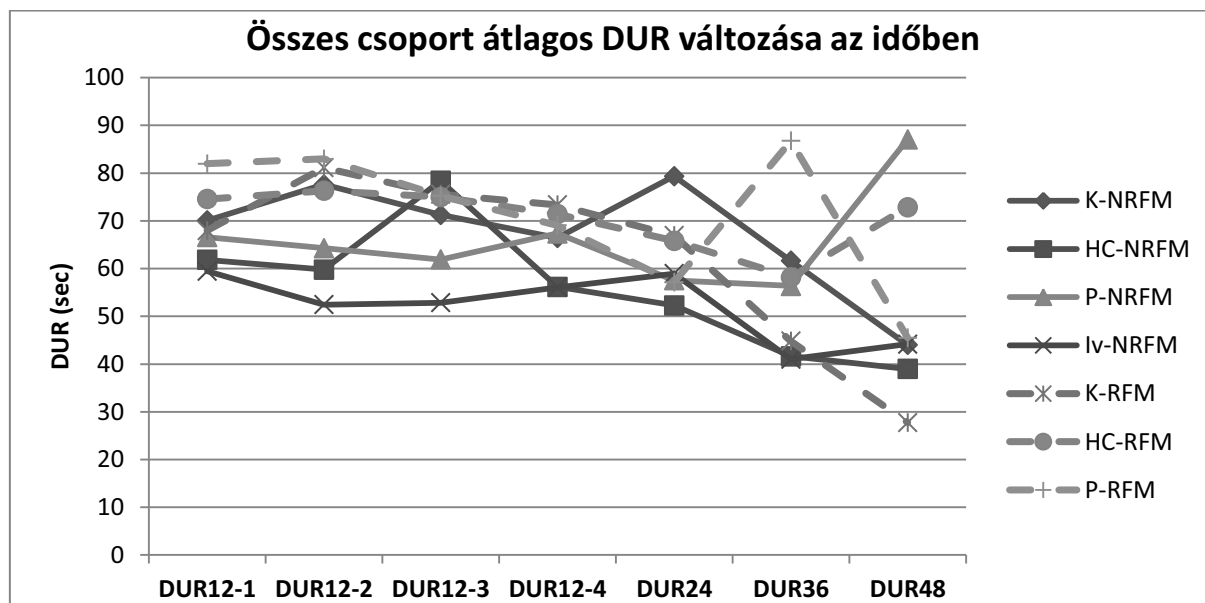
12. ábra: Az összes csoport TAUC változása az időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)



13. ábra: Az összes csoport AMP változása az időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)



14. ábra: Az összes csoport AUC változása az időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)



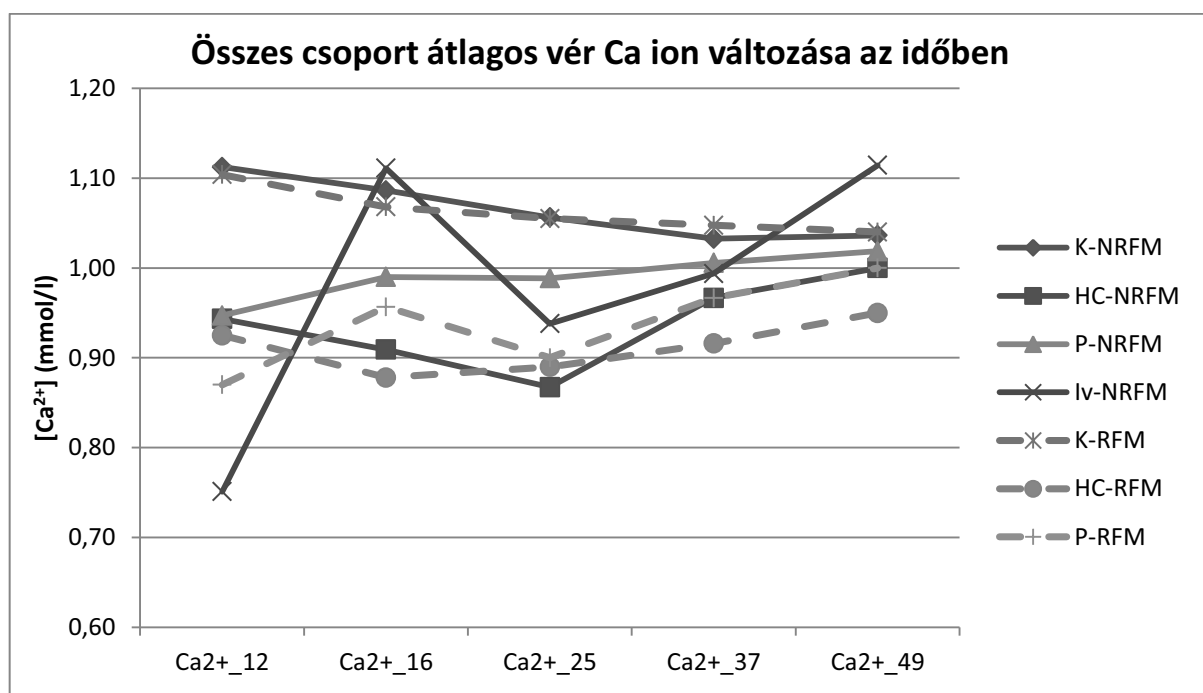
15. ábra: Az összes csoport DUR változása az időben. (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)

#### 4.4. AZ IONIZÁLT KALCIUM VÁLTOZÁSA AZ EGYES CSOPORTOKNÁL ÉS HATÁSA A MÉHKONTRAKTILITÁSRA

A kontroll csoport „pp12”-es vérmintáiból mért átlagos  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció 1,11 mmol/l volt. A hipokalcémiás csoportoknál ez az érték 0,88 mmol/l volt. A hipokalcémiás csoporton belül az intravénásan kezelt állatok „pp12”-es ionizált kalcium szintje 0,75 mmol/l volt, mely a legalacsonyabb érték volt az összes csoport közül. A hipokalcémiás RFM és NRFM és a hipokalcémiás *per os* kezelt RFM és NRFM csoportok átlagai sorrendben 0,93, 0,94, 0,87 és 0,95 mmol/l voltak, láthatóan nem tértek el jelentősen egymástól.

Míg a 32 kezeletlen egyedeknél 8 kivétellel tovább csökkent a vér  $\text{Ca}^{2+}$  szintje a „pp16” vérminták alapján, a 20 kezelt tehénnél 1 állat kivételével növekedést tapasztaltunk a „pp17”-re. A kezeletlen csoport átlagosan 0,03 mmol/l csökkenést mutatott a „pp12” mérés végére, ekkorra viszont az intravénásan kezelt csoportnál 0,36 mmol/l, a szájon át kezelt csoportnál 0,06 mmol/l  $\text{Ca}^{2+}$  növekedés volt megfigyelhető. A kontroll csoportok kalcium átlagai folyamatosan csökkentek a „pp49” vérmintáig, a „pp37” során már hipokalcémiás szintre estek. A hipokalcémiás kezeletlen csoportok ionizált kalcium átlaga a „pp25” mérésre elérte a mélypontot, majd „pp49”-ig emelkedést mutatott. Bár az intravénásan kezelt csoport átlaga korábban normokalcémiás 1,11 mmol/l koncentrációra emelkedett „pp17”-re, viszont ez után ismét hipokalcémiás tartományba ( 0,94 mmol/l) esett a „pp25” vérmintákban. Ennél a

csoporthal a további mérések során a kalcium-koncentráció ismét növekedést mutatott, a „pp49” vérmintákban már elérte az átlagos 1,11 mmol/l-t, így ekkor magasabb volt a kontroll állatokban megfigyelt 1,04 mmol/l-nél is. A szájon át kezelt NRFM állatok kalcium-koncentrációinak az átlaga bár nem érte el a normokalcémiás küszöböt, de a későbbi mérések során tovább nőtt, és végig a kezeletlen csoportokénál magasabb kalcium átlag jellemezte. A pasztás RFM csoport alacsonyabb átlagos  $Ca^{2+}$  szintről indult, a kezelés utáni vérmintákban növekedést mutatott, de a „pp25”-re ismét a hipokalcémiás kezeletlen tehenekehez hasonló 0,9 mmol/l koncentrációra csökkent vissza (16. ábra).

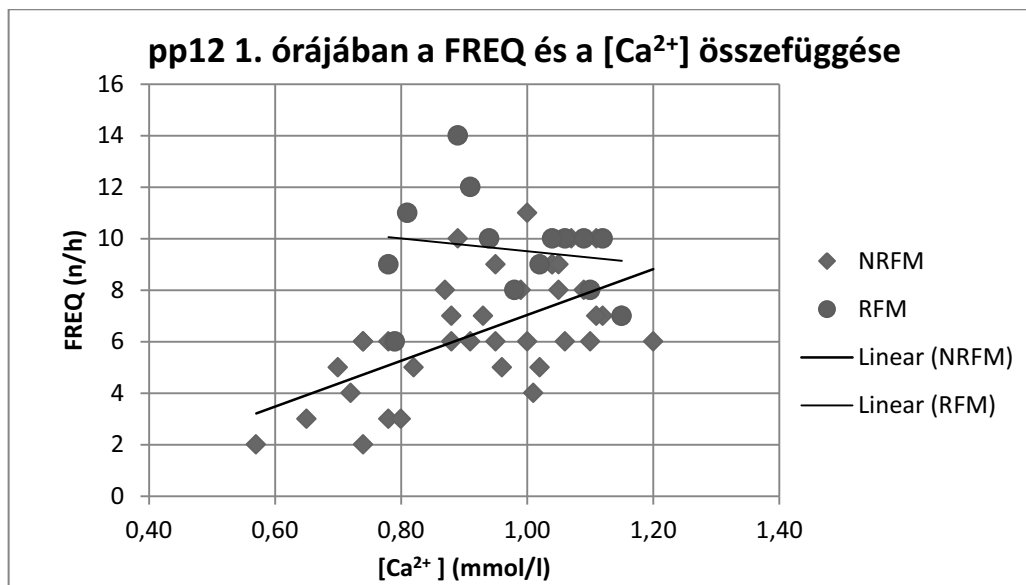


16. ábra: A csoportok átlagos ionizált Ca koncentrációjának változása az időben (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás)

Bár a hipokalcémiás kezeletlen és kontroll csoportok méhaktivitási paraméterei között a különbség nem volt szignifikáns, mégis megfigyelhető volt a vér  $Ca^{2+}$ -koncentrációjának hatása a méhkontraktilitásra. Az NRFM tehenek kezelés előtti „pp12” mérésének FREQ értékei pozitív korrelációban álltak a „pp12” elején vett vérek kalcium-koncentrációival ( $r=0,61$ ;  $P<0,001$ ) (17. ábra). Ez a szignifikáns ( $P<0,005$ ) pozitív korreláció jelen volt a „pp16” és „pp17” ( $r=0,48$ ) mintákat vizsgálva ( $r=0,58$ ), továbbá a „pp24” ( $r=0,48$ ) és „pp36” ( $r=0,44$ ) mérések során is. A „pp48” méréseknél a korreláció kis mértékű volt és nem



szignifikáns. A TAUC esetében gyengébb volt ez a korreláció, és csak „pp12” mérésnél volt szignifikáns ( $r=0,27$ ,  $P<0,05$ ). Az AMP, AUC és DUR értékek a kalciummal nem szignifikáns, gyenge, általában pozitív, esetenként negatív korrelációt mutattak. Az RFM tehének esetében nem találtunk szignifikáns korrelációt a méhműködés paramétereit és a kalcium-koncentráció között.



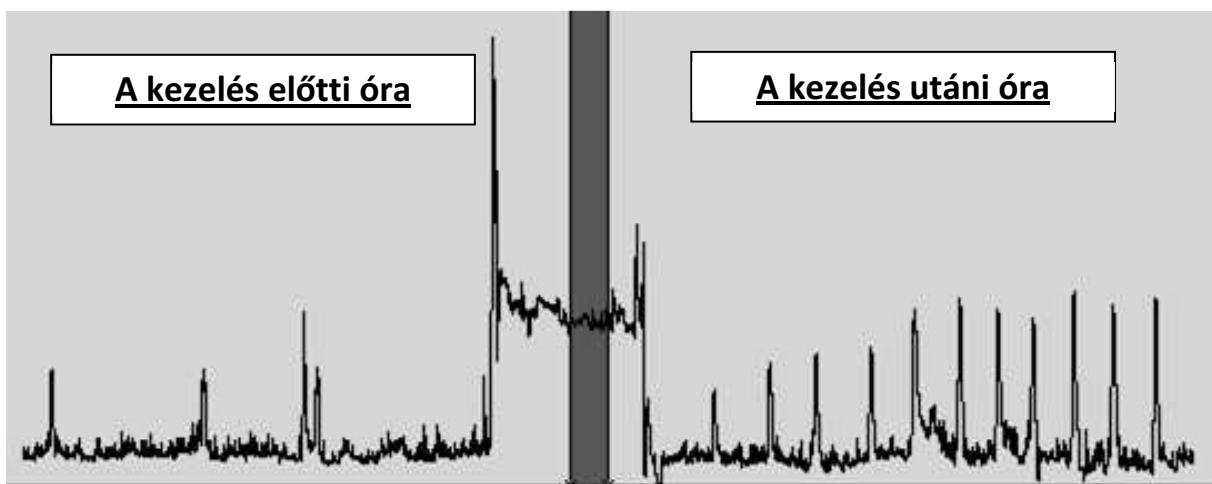
17. ábra: A ionizált kalcium szintek és a FREQ pozitív korrelációja látható NRFM tehének esetében, ha lineáris trend vonalat illesztünk a grafikonra. RFM tehének esetében csupán gyenge negatív korreláció látható, ami nem szignifikáns.

#### 4.5. AZ INTRAVÉNÁS KEZELÉSRE LÁTSZÓLAG NEM REAGÁLÓ ÁLLATOK

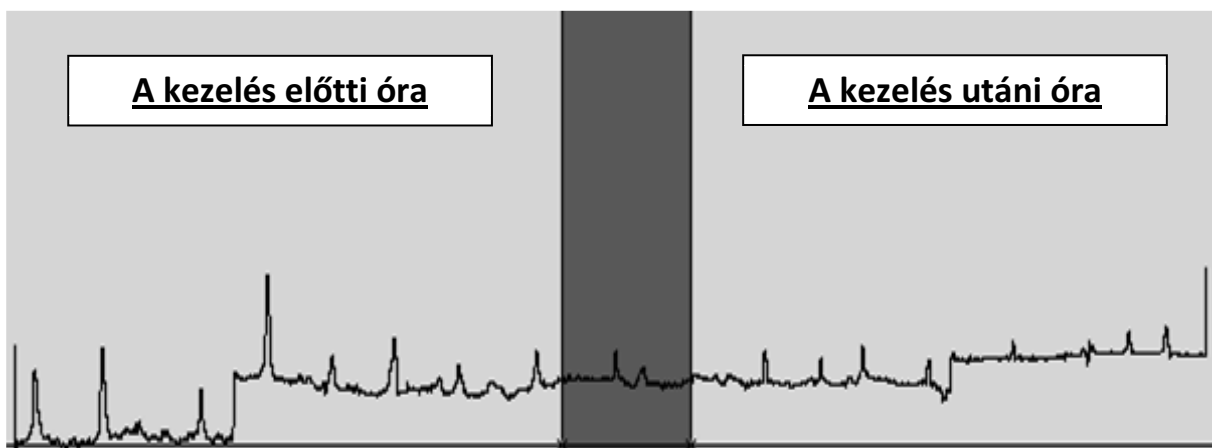
Az intravénásan kezelt 10 állat közül 6-nál a kezelés vége után körülbelül 25-35 perccel olyan mértékű volt a méhaktivitás növekedése, hogy az a LabVIEW grafikus felületén is jól látható volt (18. ábra). Ezekben az esetekben a IUP görbék gyakorisága viszonylag hamar megemelkedett, és jellemző volt, hogy a „pp12” 1. órájának FREQ értékéhez képest a többi „pp12”-es frekvencia végig magasabb volt. Ezekkel ellentétben 4 tehén nem mutatott ilyen látványos változást, náluk a kezelést követő órákban a FREQ a kiinduló érték alatt is lehetett (19. ábra).

A kifejezett FREQ emelkedést nem mutató állatok valamelyest eltértek jól reagáló társaiktól abban, hogy bár vérükben a Ca<sup>2+</sup> ugyanúgy kifejezett emelkedést mutatott, de a kiinduló kalcium értékeik egy tehén kivételével magasabbak voltak a másik csoporthoz

képest. Míg a jól reagáló állatoknál a „pp12” kalcium-koncentrációi mind 0,8 mmol/l alatt voltak, átlaguk 0,71 mmol/l volt, addig a nem jól reagáló egyedek kalcium szintjei 0,89, 0,88, 0,80 és 0,70 mmol/l voltak. Az utóbbi négy állat átlagos FREQ, AMP, AUC, DUR és TAUC értékei szintén magasabbak voltak a „pp12” első órájában. Bár átfedés a két csoport között a TAUC kivételével minden paraméternél volt, az AUC ( $P < 0,05$ ), a DUR ( $P < 0,05$ ) és a TAUC ( $P < 0,001$ ) átlagainál az eltérés szignifikáns volt. A jól reagáló állatok „pp12” 1. órás TAUC értékei mind 2300 Hgmm\*sec alatt voltak, a nem jól reagáló állatokéi mind 2300 Hgmm\*sec felett.



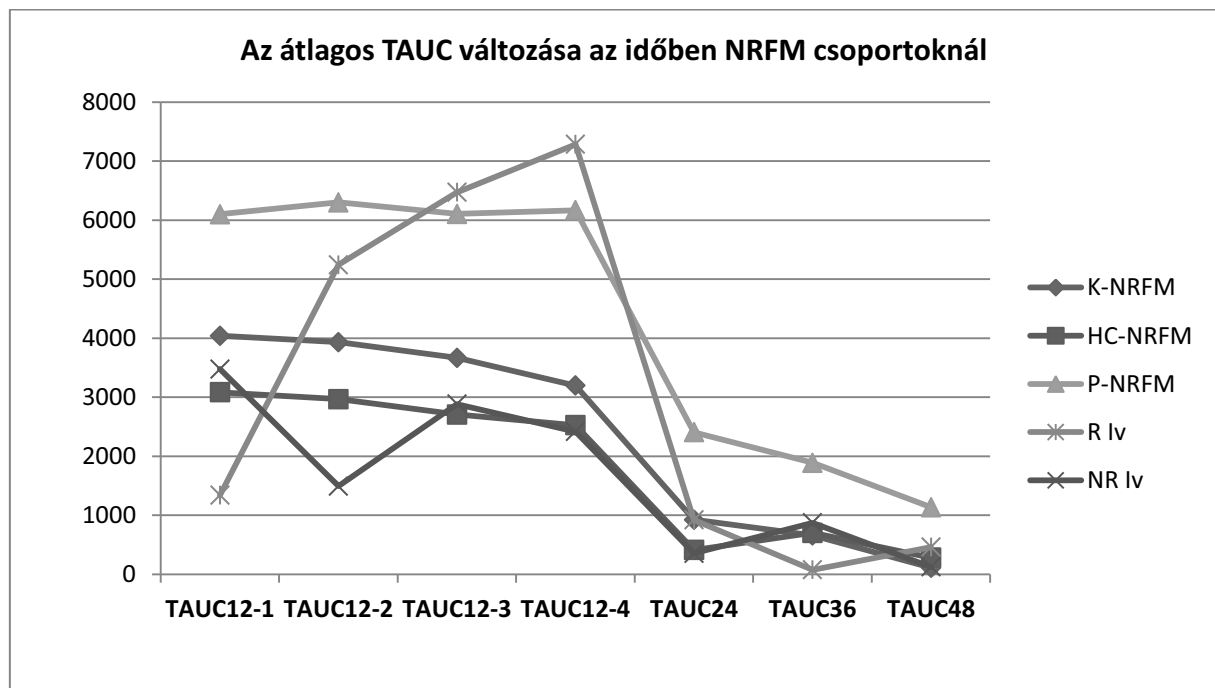
18. ábra: Az intravénás kezelés hatásának szemléltetése egy jól reagáló tehén esetén. A sötét sáv az infúzió lefolyásának idejét jelzi. A kezelés előtti órában az IUP görbék jóval ritkábban fordulnak elő, mint a kezelés utáni órában. A középső kiemelkedő platót a tehén lefekvése miatti hasúri nyomásnövekedés okozta.



19. ábra: Az intravénás kezelés hatásának szemléltetése egy rosszul reagáló tehén esetén. A sötét sáv az infúzió lefolyásának idejét jelzi. A kezelés előtti és utáni órában az IUP görbék mennyisége nem változott szembetűnően. Az összehúzódások amplitúdója sejtetően csökkent is a második órára.

A nem jól reagáló állatoknál az átlagos  $FREQ$  a kezelés utáni első órában nem növekedett, az  $AMP$ ,  $AUC$ ,  $DUR$  és  $TAUC$  értékek pedig ekkorra csökkentek. Bár a nem jól reagáló állatok kezdetben magasabb átlagokat mutattak, utóbbi paraméterek csökkenése miatt a kezelés után elmaradtak a jól reagáló tehenektől. A mérés 3. órájára az  $AMP$ ,  $AUC$ ,  $DUR$  és  $TAUC$  átlagai valamelyest nőttek, de a jól reagáló állatokénál alacsonyabbak maradtak. Ezek a kezelés utáni eltérések a két csoport átlagai közt az  $AMP$ ,  $AUC$  és  $TAUC$  esetében is szignifikánsak ( $P < 0,05$ ) voltak a „pp12” 2., 3. és 4. órájában. A  $DUR$  esetében míg a kezelés előtti órában a nem jól reagáló egyedek átlaga szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) magasabb volt, a kezelés utáni órákban ez a különbség megszűnt.

A nem jól reagáló tehenek  $AMP$ ,  $AUC$ ,  $DUR$  és  $TAUC$  átlagai a kezelés utáni órában még a kontroll és a hipokalcémiás kezeletlen tehenek értékeinél is alacsonyabbra csökkentek, bár ez csak a kontroll csoporttal összehasonlítva, az  $AUC$  esetében volt szignifikáns különbség ( $P < 0,05$ ). Ezek a paraméterek a „pp12” során végig a másik két csoport átlagai alatt maradtak, de a 3. órától már közelítettek a hipokalcémiás kezeletlen állatok átlagaihoz (20. ábra).



20. ábra: Az NRFM csoportok átlagos  $TAUC$  értékeinek összehasonlítása, ha az intravénásan kezelt csoportot kettéválasztjuk az infúzió hatásának alapján. (K=Kontroll; HC=Hipokalcémiás kezeletlen; P=Per os kezelt hipokalcémiás; Iv=Intravénásan kezelt hipokalcémiás; R= jól reagált; NR=nem jól reagált)

## **5. MEGBESZÉLÉS**

Nyílt rendszerű IUP méréssel az ellés után 14-17 órával az összes NRFM tehén méhkontrakcióinak átlagos frekvenciája 6,45 (2-11) n/h, AMP-ja 19,82 (6,9-56,1) Hgmm, AUC-je 531,46 (118,0-1458,1) Hgmm\*sec, DUR-je 64,0 (28,5-122,0) sec, TAUC-je 3631,1 (471,9-16039,0) Hgmm\*sec volt. Bajcsy és mtsai (2005a) ugyanezzel a módszerrel hasonló eredményre jutottak. Az ellés után 12-14 órával végzett vizsgálataik során 8,9 (6-11) n/h átlagos FREQ-t, 19,6 Hgmm átlagos AMP-t, 89,8 (53-169,3) sec átlagos DUR-t figyeltek meg. Venable és McDonald (1958) ezzel szemben az ellés után 10-15 órával zárt rendszerű IUP rendszerrel magasabb, 10-15 n/h frekvenciát mért, míg szintén zárt rendszerű technikával az ellés után 12 órával Jordan (1952) átlagosan 12 n/h frekvenciát figyelt meg. A frekvenciában jelentkező különbség az utóbbi két korai cikknél adódhat az eltérő IUP mérési technikából (például abból, ha a zárt rendszerekben használt zsák vagy ballon jobban irritálja a méh falát), esetleg eltérő adatelemzési módszerből, vagy az egyedek és a vizsgált telepek között fennálló eltérésekből (például takarmány, hipokalcémia elleni védekezés, tartástechnológia stb.). Jordan (1952) 12 órával az ellés után 18 Hgmm átlagos AMP-t talált, Venable és McDonald (1958) a puerperium első pár órájában 20-40 Hgmm AMP-t figyeltek meg. Ezek az értékek nagyjából megfelelnek az általunk mért amplitúdóknak.

Kísérletünkben a kezeletlen állatok méhaktivitásának időbeni csökkenését tapasztaltuk a puerperium első 48 órájában. A legjelentősebb csökkenés az NRFM állatok méhkontraktilitásában az ellés utáni 14-21. órásról („pp12”) a 26-29. („pp24”) óra között végzett mérésre következett be. Ez az esés kifejezett volt FREQ és TAUC esetében, az AMP és AUC átlagok viszont valamivel fokozatosabb csökkenést mutattak. A DUR a legkevésbé változó paraméter volt, egyes csoportoknál a későbbi mérések során jelentősen nőtt is a kontraktúrák megjelenése miatt. A DUR változása a „pp12”-es átlagokról csupán 3 esetben (hipokalcémiás kezeletlen NRFM „pp36” és „pp48”, kontroll RFM „pp36”) volt szignifikáns. Az állatok egy részénél „pp24”-től kezdődően előfordult, hogy 0 volt a FREQ érték. Venable és McDonald (1958) ehhez hasonlóan megfigyelték a méhaktivitás időbeni csökkenését, a 48. óra után már nem tudtak méhkontrakciókat azonosítani. Bajcsy és mtsai (2005a) szintén megfigyelték a paraméterek ilyen jellegű csökkenését, bár esetükben az AMP jelentősebb esést mutatott, és nem találtak sehol szignifikanciát a DUR változásában. Venable és McDonald (1958), valamint Bajcsy és mtsai (2005a) is megfigyelték kontraktúrák megjelenését a második naptól kezdődően.

Bár Jordan (1952) megfigyelései során a magzatburok-visszamaradásos tehenekben csökkent méhaktivitást talált az ellés utáni órákban, ebben a kísérletben a méhaktivitás mások (Venable és McDonald, 1958; Zerobin és Spörri, 1972; Taverne és mtsai, 1979; Martin és mtsai, 1981) által is leírt növekedését tapasztaltuk. Az RFM állatok átlagos  $FREQ$ -ja az ellés után 14-17 órával 9,6 (6-14) n/h volt, és szignifikánsan eltért az NRFM állatok ugyanebben az időben mért értékeitől. Venable és McDonald (1958) zárt rendszerű IUP méréssel az RFM tehenek esetében is magasabb  $FREQ$ -kat figyeltek meg, az ellés után ezeknek az átlaga tartósan 19 n/h körül volt. Az RFM állatoknál a méhaktivitás ( $FREQ$ ,  $TAUC$ ,  $AMP$ ,  $AUC$ ) átlagosan lassabb csökkenését tapasztaltuk, mint NRFM egyedekben. A magzatburok-visszamaradásos tehenek átlagos paraméterei csupán az ellés utáni 38. és 53. óra közt („pp36” és „pp48”) érték el az NRFM tehenek szintjét. Venable és McDonald (1958) még ennél is tartósabb méhműködést figyeltek meg RFM tehenek esetében, kísérletükben a sárgatest eltávolításával mesterségesen kiváltott magzatburok-visszamaradás következtében a tehenek méhkontraktilitása 3 napig magas szinten maradt. Martin és mtsai (1981) nyitott rendszerű IUP méréssel az ellés utáni 48. órában is szignifikáns különbséget találtak az RFM és NRFM tehenek méhműködése között. Kísérletünkben ezekhez hasonló, az ellés utáni 48. óra körül is a kiindulási értékkel azonos kontraktilitást csupán egy tehen esetében figyeltünk meg. A többi RFM állatnál ezzel szemben jelentősen csökkent, vagy megszűnt ( $FREQ=0$ ) a méhaktivitás a „pp48” mérésre. Ennek az egyedi változatosságnak az okát nem tudtuk megállapítani.

A vizsgált hipokalcémiás kezeletlen tehenekben a vér ionizált kalcium koncentrációjának csökkenése volt megfigyelhető az ellés utáni 18-30. óráig, majd emelkedést tapasztaltunk. Ez megfelel korábbi szakirodalmi adatoknak (Goff, 2008; Bajcsy és mtsai, 2005a), a tehenek a hipokalcémiás mélypont után vélhetően a homeosztatisz szabályozásnak köszönhetően elkezdik normalizálni vérükben a  $Ca^{2+}$  koncentrációját. Az intravénásan kezelt tehenek kalcium szintje jelentősen emelkedett az infúzió hatására, elérte a normokalcémiás szintet a „pp17” mintákban, majd ismét hipokalcémiássá vált, „pp48”-ra viszont a kontroll csoportnál is magasabb lett átlaga. A hipokalcémiába való visszaesés nem volt meglepő, Oetzel (2013) áttekintő cikkében leírja, hogy az intravénás kezelés után 12-18 órával ez megtörténhet. A pasztával kezelt NRFM állatok esetében a növekedés enyhébb volt, de mégis áthidalta a kezeletlen állatoknál megfigyelt hipokalcémiás mélypontot, nem csökkent tovább a vérben a kalcium szintje. A pasztával kezelt RFM csoportnál is növekedés volt tapasztalható, de vélhetően az alacsonyabb kiindulási érték miatt „pp25”-től már ismét a hipokalcémiás kezeletlen csoportéhoz hasonlított az kalcium átlagos koncentrációja.

Korábban már kimutatták, hogy a mesterségesen kiváltott alacsony kalcium-koncentráció hamarabb gátolja a bendő motilitását, mint hogy az ellési bénulás klinikai tünetei megjelenjenek (DeGaris és Lean, 2009). Vizsgálataink során arra számítottunk, hogy ehhez hasonlóan a méh kontraktilitása is alacsonyabb lesz a szubklinikai hipokalcémia következtében. Bár Bajcsy (2005a) korábban nem talált korrelációt a vér ionizált kalcium koncentrációja és a méhműködés paraméterei között, ennek oka sejtetően az volt, hogy a vizsgált tehenek csupán enyhe hipokalcémiát (0,94-1,05 mmol/l) mutattak. Kísérletünkben 0,57 és 1,20 mmol/l közötti kalcium-tartománnyal dolgoztunk, így súlyosabb fokú szubklinikai hipokalcémiás tehenek méhműködését is megfigyelhettük. Mivel az összes NRFM tehen még ugyanazoknak a feltételeknek felelt meg a „pp12” mérés 1. órájában, ekkor az állatok egy csoportként is vizsgálhatóak voltak a kalcium méhaktivitásra gyakorolt hatásának szempontjából. Az ellés után 14-17 órával a  $Ca^{2+}$  koncentráció és a FREQ között szignifikáns, pozitív korrelációt találtunk ( $r=0,61$ ;  $P<0,001$ ). A korreláció kimutatható volt a „pp17”, „pp24” és „pp36” mérésekkor is. A többi paraméter közül csak a TAUC korrelált szignifikánsan, és csak a „pp12” mérés során. Ezek lényeges eredmények, mert bár mások már összefüggésbe hozták az ellési bénulást és a hipokalcémiát csökkent méhműködéssel (Jordan, 1952; Pelissier, 1972; Martin és mtsai, 1981; Al-Ekna és Noakes, 1989; Bajcsy, 2001), nem volt ismert, hogy a szubklinikai hipokalcémia milyen mértékben befolyásolja a méh izomzatának működését. Az eredményekből úgy tűnik, hogy 0,8 mmol/l  $Ca^{2+}$  körül van az a határ, ami alatt a méhműködés jelentősebben gátlódik, ez alatt a koncentráció alatt nem figyeltünk meg erősebb méhaktivitást (FREQ > 6 n/h, TAUC > 2500 Hgmm\*sec) egy állatnál sem.

Nem találtunk korrelációt az RFM tehenek esetében a méhműködés paraméterei és a vér ionizált kalcium koncentrációja között. Ennek oka lehetett az, hogy ebben a csoportban nem voltak kifejezettebb hipokalcémián áteső állatok (0,78-1,15 mmol/l  $Ca^{2+}$ , csak 2 állatnál volt 0,8 mmol/l alatt a koncentráció). Feltételezzük, hogy alacsonyabb ionizált kalcium-koncentrációk esetén az RFM tehenek méhműködése ugyanúgy gátlódik, mint NRFM állatoknál.

Korábban már megfigyelték, hogy a szubklinikai hipokalcémiának jelentős szerepe lehet a puerperális méhbetegségek kialakulásában (Martinez és mtsai, 2012). Kimutatták azt is, hogy a hipokalcémia gátolja az immunsejtek aktiválódását (Kimura és mtsai, 2006). A vér alacsony  $Ca^{2+}$  szintje hozzájárulhat a méhgyulladások kialakulásához egyrészt a már leírt immunszuppresszív hatás révén, másrészt az általunk talált méhaktivitás-csökkenés miatt is.

Vélhetően amennyiben a méh összehúzódása gátolt, romlik a méhtartalom eltávolításának hatékonysága, ez pedig segítheti a kórokozók elszaporodását.

Az intravénás kalcium-kezelésnek mind a vér kalcium-koncentrációjára, mind a méh működésére kifejezett hatása volt. Egyedül a kalcium infúzióval kezelt csoport mutatott szignifikáns méhaktivitás növekedést a kezelés utáni órára. Érdekes módon a legalacsonyabb átlagos kalcium-koncentrációról és méhaktivitásról induló intravénás csoport a kezelés hatására nem csupán a kontroll állatok paramétereinek a szintjét érte el, hanem azt meg is haladva az RFM egyedekre jellemző átlagos *FREQ* értékeket mutatta. Az intravénás kezelésnél hosszútávú pozitív hatást nem tudtunk azonosítani, a „pp24” méréstől a méhaktivitás mutatói a kezeletlen tehének szintjére csökkentek vissza. Az intravénás kezelés pozitív hatását egy ellési bénult tehén méhműködésére Jordan (1952) már több mint 60 éve leírta, megfigyelése alapján a méhkontrakciók az infúzió beadása után 30 percen belül megjelentek. Ez megfelel saját eredményünknek, kísérletünkben 6 állatnál 25-30 perccel a kezelés után a méhműködés jelentős növekedését tapasztaltuk.

Az intravénásan kezelt csoportból 4 állat nem reagált a fent leírt módon az infúzióra. Ezek az egyedek átlagosan magasabb kiindulási kalcium-koncentrációval (egy kivételével a „pp12”-es  $Ca^{2+}$  koncentráció  $>0,8$  mmol/l volt) és méhaktivitási paraméterekkel rendelkeztek jól reagáló társaiknál. Ennek ellenére a kezelés hatására a „pp12” második órájában az AMP, AUC, DUR és TAUC értékek csökkentek. A csökkenés olyan szintű volt, hogy ezeknek a paramétereknek az átlagai a kontroll és hipokalcémiás kezeletlen tehénekénél is alacsonyabbak lettek, bár ez csak AUC esetében volt szignifikáns, a kontroll csoporttal összehasonlítva. Ez annak ellenére történt, hogy a rosszul reagáló intravénás tehének kezelés utáni „pp17”-es kalcium-koncentrációinak az átlaga még a kontroll csoportét is meghaladta (intravénásan kezelt nem jól reagáló tehének: 1,16 mmol/l; kontroll tehének: 1,09 mmol/l). A későbbiekben a nem jól reagáló állatok méhműködése a hipokalcémiás kezeletlen állatokéhoz hasonlított, bár a vér ionizált kalcium szintje „pp25”-öt leszámítva a kontroll csoporté fölé maradt. A kezelés után közvetlenül nem mértünk kalcium-koncentrációt a vérből, de szakirodalmi adatok alapján (Oetzel, 2013) valószínűsíthető, hogy egy hiperkalcémiás csúcs után csökkent az intravénásan kezelt állatok mért  $Ca^{2+}$  szintje a „pp17” mintákban megfigyelt értékre. Feltételezhetően a nem jól reagáló tehének esetében a magasabb kiindulási értékek miatt a hiperkalcémiás hullám kifejezettebb volt. Egy ilyen állatnál az infúzió után aritmiát is észleltünk. Ismert, hogy a hiperkalcémia a szívre gyakorolt negatív hatásán kívül többek között izomgyengeséghez is vezet (Rosol és mtsai, 1995). Ezek alapján lehetséges, hogy a nem jól reagáló tehénekénél a magas kalcium szintek ellenére a kontroll csoporténál is

alacsonyabb méhaktivitás a kiváltott hiperkalcémia következménye volt. Amennyiben ez igaz, az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a korábbi súlyos hiperkalcémiának a negatív hatása a méhkontraktilitásra az után is megmarad, hogy a vérben az ionizált kalcium szintje már normalizálódott. Oetzel (2013) ajánlása szerint nem érdemes azokat az állatokat intravénásan kalciummal kezelni, melyek még nincsenek elfekvő állapotban. A kísérletünkben megfigyelt nem jól reagáló tehenek csökkent méhaktivitása további érvként szolgálhat emellett az ajánlás mellett.

A szájon át történő kezelés hatása a méhaktivitásra nem volt egyértelmű. A pasztával kezelt állatoknál a „pp12” során enyhe emelkedést figyeltünk meg a vér ionizált kalcium szintjében, de nem találtunk kifejezett változást a méhaktivitásban. Utóbbi oka lehet az, hogy a paszta által kiváltott enyhe kalcium-emelkedés nem elég ahhoz, hogy a méhaktivitást jelentősen befolyásolja. Az eredmények adódhatnak abból is, hogy a *per os* csoport egyedei viszonylag magas kiindulási kalcium-koncentrációval rendelkeztek (0,78-1,02 mmol/l, csupán 1 egyednél volt 0,8 mmol/l alatt a  $Ca^{2+}$  koncentrációja. A „pp24” mérés során a pasztával kezelt NRFM tehenek nem mutattak olyan jelentős csökkenést a méhaktivitásban, mint a kezeletlen társaik, bár ez a különbség csak a hipokalcémiás kezeletlen csoporttal összehasonlítva volt szignifikáns. Ezeknek az állatoknak a *FREQ* és *TAUC* átlagai később is magasabbak maradtak a kezeletlen csoportoknál, de ez csak egyes esetekben volt szignifikáns. Lehetséges, hogy a későbbi méréseknél mutatott magasabb aktivitás oka az, hogy a pasztával kezelt tehenek vérében a kalcium koncentrációja nem csökkent a többi csoporthoz hasonlóan. Ez viszont nem ad magyarázatot arra, hogy a *per os* módon kezelt tehenek méhaktivitása miért volt magasabb a kontroll csoportnál is a „pp12” utáni mérések során, mikor a kontroll tehenek átlagos ionizált kalcium koncentrációja még ekkor is meghaladta a pasztás csoportét.

Az RFM tehenekből csupán 3 részesült *per os* paszta kezelésben, ezért az igen alacsony mintaszám miatt csupán korlátozottan értelmezhetőek ezen eredményeink. Ezeknek az állatoknak a méhműködése (az alacsony AMP értéket leszámítva) a többi RFM csoportéhoz hasonlított. A „pp12” során a kezelés hatásának hiánya valószínűleg hasonló okokra vezethető vissza, mint az NRFM tehenek esetében, de hozzájárulhat még az is, hogy a magzatburok-visszamaradás miatt már eleve magasabb volt ezeknek az állatoknak a méhaktivitása. A *per os* kezelt RFM egyedek nem mutattak eltérést a későbbi mérések során sem. Ennek oka lehet az, hogy az NRFM tehenekhez képest ennek a csoportnak alacsonyabbak voltak a kalcium-koncentrációi a „pp12” utáni vizsgálatok során, így jobban megközelítették a hipokalcémiás kezeletlen tehenek szintjét.



## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az ellés körüli időszakban több élettanilag hátrányos hatás éri a tejelő teheneket. Az ekkor jelentkező hipokalcémia számos negatív következménye közül az egyik jelentős, hogy csökkenti a váz-, és simaizom működést, így befolyásolja a méhizomzat tevékenységét is. Ez a renyhe, vagy hiányzó méhösszehúzódnások révén kihathat az involúcióra is. A gyakorlatban számos, a kalcium pótlására szolgáló készítményt alkalmaznak, melyek méhizomzat tevékenységre gyakorolt hatásának részletei nem ismertek.

Kísérletünkben hipokalcémiás (vér  $\text{Ca}^{2+} < 1.06 \text{ mmol/l}$ ) tehenek méhaktivitását vizsgáltuk egy belső méhnyomás (IUP) mérésére alkalmas nyitott végű katéter-rendszerrel. Az egyes állatokat a mérés alatt intravénás (Cofacalcium inj. A.U.V., Coophavet), vagy szájon át alkalmazott kalcium-készítménnyel (ReCovin Calcium paszta, Kruuse) kezeltük egyszeri alkalommal az ellést követő 15-17 óra között. A tehenek belső méhnyomás adatait a korábban vemhes méhszarvból gyűjtöttük, majd erősítés után digitalizáltuk, és az eredményeket Labview 5.0 (National Instruments) software segítségével elemeztük.

Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy a puerperium első két napjában a vér ionizált kalcium-koncentrációja meghatározó tényezője a megfelelő méhkontraktilitásnak. A méhműködést a közepes szubklinikai hipokalcémia (vér  $\text{Ca}^{2+} < 0,8 \text{ mmol/l}$ ) már kimutathatóan gátolja.

Az intravénás kalcium-kezelésben részesített állatokat egyes esetekben a méhkontraktilitás jelentősebb emelkedése jellemezte. Ez az emelkedés csupán a kezelés utáni órákban volt megfigyelhető, hosszútávú hatást nem tudtunk megállapítani. Az intravénás csoport pár egyede ezzel szemben csökkent méhaktivitást mutatott az infúzió után. Ennek oka feltételezhetően a kiváltott hiperkalcémia volt.

A szájon át adott készítménnyel kezelt enyhe szubklinikai hipokalcémiás (vér  $\text{Ca}^{2+} 0,8-1,05 \text{ mmol/l}$ ) egyedek méhaktivitásának időbeni változásában nem figyeltünk meg szignifikáns különbséget a kezeletlen állatokban mért értékekhez képest a beadás utáni órákban. A *per os* kezelt állatok méhkontraktilitása valamivel lassabban csökkent a kezeletlen egyedekéhez képest a későbbi mérések során.

Megállapítható tehát, hogy az egyszeri szájon át történő Ca-kezelésnek a hatása nem kifejezett enyhe hipokalcémia esetén. Ezzel szemben ha a Ca-kezelést intravénásan alkalmazzuk, a hatás gyors és jelentős. Közepes hipokalcémia esetén ez a méhkontraktilitásra gyakorolt hatás pozitív, enyhe hipokalcémia esetén viszont akár negatív is lehet.

## **The effect of hypocalcaemia and calcium supplementation on the uterine contractility in postpartum cows**

### **6. Summary**

The lactating cow is exposed to various negative effects in the periparturient period. One of the consequences of hypocalcemia that can occur during this time is the diminished activity of skeletal and smooth muscles, including the myometrium of the uterus. This reduced contractility might influence the process of involution. Many kinds of calcium supplementations are used in everyday practice, but the effects of these products on the uterine activity are less known.

In this study the myometrial contractions of hypocalcemic cows (blood  $\text{Ca}^{2+} < 1.06 \text{ mmol/l}$ ) were examined with an open tip catheter system appropriate for measuring intrauterine pressure (IUP). Some of the animals received one intravenous (Cofacalcium inj. A.U.V., Coophavet), or one oral (ReCovin Calcium pasta, Kruuse) calcium supplementation between 15 and 18 hours postpartum. Data of the intrauterine pressure was collected from the previously gravid uterine horn, and after amplification and digitalisation it was analyzed with a software (LabVIEW 5.0, National Instruments).

There was a positive correlation between blood calcium concentration and the activity of the myometrium on the first two days postpartum. When compared to the untreated group, cows treated with oral calcium products did not show significant differences in the change of uterine activity over time, except for a slightly slower decrease during the later measurements. In some cases, animals which received intravenous calcium treatment showed an increase in contractility, in other cases the motility of the myometrium diminished. The latter was probably caused by the induced acute hypercalcaemia after the treatment.

## **7. IRODALOMJEGYZÉK**

AL-EKNAH M. M., NOAKES D. E., 1989: A preliminary study on the effect of induced hypocalcaemia and nifedipine on uterine activity in the parturient cow. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 12. p. 237-239.

ALLEN W. M., SANSOM B. F., 1985: Milk fever and calcium metabolism. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 8. p. 19-29.

BAJCSY Á. CS., 2001: Uterine contractility in a cow suffering from milk fever. Nem publikált adat

BAJCSY Á. CS., 2005: Physiological and clinical aspects of uterine contractility during the postpartum period in cows. PhD értekezés, Utrechti Egyetem, Hollandia

BAJCSY Á. CS., SZENCI O., DOORNENBAL A., VAN DER WEIJDEN G. C., CSORBA CS, KOCSIS L., SZÚCS I., OSTGARD S., TAVERNE M. A. M., 2005a: Characteristics of bovine early puerpeal uterine contractility recorded under farm conditions. *Theriogenology*, 64. p. 99-111.

BAJCSY Á. CS., VAN DER WEIJDEN G. C., DOORNENBAL A., BREEVELD-DWARKASING V. N., DE JONG R. C., SZENCI O., TAVERNE M.A.M., 2005b: Validation of pressure measurements and electromyographic results for the uterus of cattle during the early postpartum period. *Am. J. Vet. Res.*, 66. p. 1605-1615.

BENGTSSON L. P., 1968: The sponge-tipped catheter - A modification of the open end catheter for recording of myometrial activity in vivo. *J. Reprod. Fertil.*, 16. p. 115-118.

BJORKMAN N., SOLLEN P., 1960: Morphology of the bovine placenta at normal delivery. *Acta. Vet. Scand.*, 1. p. 347-362.

BRONNER F., 1987: Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J. Nutr.*, 117. p. 1347-1352.

BRONNER F., 2003: Mechanisms of intestinal calcium absorption. *J. Cell. Biochem.*, 88. p. 387-393.

BURTON M. J., DZIUK H. E., FAHNING M. L., ZEMJANIS R., 1987: Myometrial activity during natural and dexamethasone-induced parturition in the cow. *Am. J. Vet. Res.*, 48. p. 37-44.

DEGARIS P. J., LEAN I. J., 2009: Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *J. Vet.*, 176. p. 58-69.

EILER H., HOPKINS F. M., 1992: Bovine retained placenta: effects of collagenase and hyaluronidase on detachment of placenta. *Biol. Reprod.*, 46. p. 580-585.

EILER H., 1997: Chapter 44. Retained Placenta. In: YOUNGQUIST R. S. (ed): *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Philadelphia, WB Saunders. p. 340-348.

ESSLEMONT R. J., PEELER E. J., 1993: The scope for raising margins in dairy herds by improving fertility and health. *Br. Vet. J.*, 149. p. 537-547.

FINN C. A., PORTER D. G., 1975: Part 3: The Myometrium. In: FINN C. A., PORTER D. G. (eds): *Reproductive Biology Handbooks. The Uterus*. London, Elek Science. p. 133-274.

GIAMA I., 1975: Erfassung der postpartalen Uterusmotilität des Rindes und der motilitätssteigernden Wirkung eines Oxytozinpräparates. 1. Mitt.: Spontane Uterusmotilität im Frühpuerperium des Rindes nach normalen und gestörten Geburten. *Mh. Vet.-Med.*, 30. p. 850-852.

GILLETTE D. D., HOLM L., 1963: Prepartum to postpartum uterine and abdominal contractions in cows. *Am. J. Physiol.*, 204. p. 1115-1121.

GOFF J. P., MARCUS E., KEHRLI J. R., HORST R. L., 1989: Periparturient Hypocalcemia in Cows: Prevention Using Intramuscular Parathyroid Hormone. *J. Dairy Sci.*, 72. p. 1182-1187.

GOFF J. P., HORST R. L., MUELLER F. J., MILLER J. K., KIESS G. A., DOWLEN H. H., 1991: Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *J. Dairy Sci.*, 74. p. 3863-3871.

GOFF J. P., HORST R. L., 1993: Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *J. Dairy Sci.*, 76. p. 101-108.

GOFF J. P., HORST R. L., JARDON P. W., BORELLI C., WEDAM J., 1996: Field Trials of an Oral Calcium Propionate Paste as an Aid to Prevent Milk Fever in Periparturient Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 79. p. 378-383.

GOFF J. P., HORST R. L., 1997: Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.*, 80 p. 1260-1268.

GOFF J. P., 1999: Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 15. p. 619-639., viii.

GOFF, J. P., 2008: The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.*, 176. p. 50–57.

GOFF J. P., 2014: Calcium and magnesium disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 30. p. 359-381.

GROSS T. S., WILLIAMS W. F., MANSPEAKER J. E., RUSSEK E., 1985: In vitro proteolytic activity of the late pregnant and peripartum bovine placenta. *J. Anim. Sci.*, 61. p. 391-392.

HEPPELMANN M., KRACH K., KRUEGER L., BENZ P., HERZOG K., PIECHOTTA M., HOEDEMAKER M., BOLLWEIN H., 2015: The effect of metritis and subclinical hypocalcemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry. [EPUB.] URL: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/advpub/0/advpub\\_2015-015/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/advpub/0/advpub_2015-015/_pdf) Letöltve: 2015.11.05.

HORST R. L., GOFF J. P., REINHARDT T. A., 1994: Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 77. p. 1936-1951.

HORST R. L., GOFF J. P., REINHARDT T. A., BUXTON D. R., 1997: Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 80. p. 1269-1280.

HÖLLER H., BREVES G., KOCABATMAZ M., GERDES H., 1988: Flux of calcium across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. *Q. J. Exp. Physiol.*, 73. p. 609-618.

JANSEN C. A. M., KRANE E. J., THOMAS A. L., BECK N. F. G., LOWE K. C., JOYCE P., PARR M., NATHANIELSZ P. W., 1979: Continuous variability of fetal pO<sub>2</sub> in the chronically catheterized fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 134. p. 776-783.

JORDAN W. J., 1952: The puerperium of the cow: a study of uterine motility. *J. Comp. Pathol. Ther.*, 62. p. 54-68.

KAMGARPOUR R., DANIEL R. C., FENWICK D. C., MCGUIGAN K., MURPHY G., 1999: Post partum subclinical hypocalcaemia and effects on ovarian function and uterine involution in a dairy herd. *J. Vet.*, 158 p. 59-67.

KHORASANI G. R., JANZEN R. A., MCGILL W. B., KENNELLY J. J., 1997: Site and extent of mineral absorption in lactating cows fed whole-crop cereal grain silage or alfalfa silage. *J. Anim. Sci.*, 75. p. 239-248.

KIMURA K., REINHARDT T. A., GOFF J. P., 2006: Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 89. p. 2588–2595.

KÜNDIG H., THUN R., ZEROBIN K., BACHMANN B., 1990: Die Uterusmotorik des Rindes während Spätgravidität, Geburt und Puerperium. I. Die Spontanmotorik. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 132. p. 77-84.

- KVART C., BJORSELL K. A., LARSSON L., 1982: Parturient paresis in the cow. Serum ionized calcium concentrations before and after treatment with different calcium solutions-classification of different degrees of hypo- and hypercalcemia. *Acta. Vet. Scand.*, 23. p. 184-196.
- LAVEN R. A., PETERS A. R., 1996: Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. *Vet. Rec.* 139. p. 465-471.
- LEONHARD-MAREK S., BECKER G., BREVES G., SCHRODER B., 2007: Chloride, gluconate, sulfate, and short-chain fatty acids affect calcium flux rates across the sheep forestomach epithelium. *J. Dairy Sci.*, 90. p. 1516-1526.
- MARTIN L. R., WILLIAMS W. F., RUSSEK E., GROSS T. S., 1981: Postpartum uterine motility measurements in dairy cows retaining their fetal membranes. *Theriogenology*, 15. p. 513-524.
- MARTINEZ N., RISCO C. A., LIMA F. S., BISINOTTO R. S., GRECO L. F., RIBEIRO E. S., MAUNSELL F., GALVÃO K., SANTOS J. E. P., 2012: Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.*, 95. p. 7158-7172.
- MULLER L. D., OWENS M. J., 1974: Factors associated with the incidence of retained placentas. *J. Dairy Sci.*, 57. p. 725-728.
- NAITO Y., GOFF J. P., HORST R. L., REINHARDT T. A., 1989: Effects of continuous administration of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on plasma minerals and unoccupied colon mucosal 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor concentrations. *J. Dairy Sci.*, 72. p. 2936.
- NOAKES D. E., 2001: Part Two: Pregnancy and Parturition; Chapter 2. Development of the Conceptus. In: NOAKES D. E, PARKINSON T. J., ENGLAND G. C. W. (eds): *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8th ed.* London, WB Saunders. p. 57-68.
- OETZEL G. R., 2013: Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows. *Vet. Clin. Food Anim.*, 29. p. 447-455.
- PELISSIER C. L., 1972: Herd breeding problems and their consequences. *J. Dairy Sci.*, 55. p. 385-391.
- ROSOL T. J., CHEW D. J., NAGODE L. A., CAPEN C. C., 1995: Pathophysiology of calcium metabolism. *Vet. Clin. Pathol.*, 24. p. 49-63.
- SCHRÖDER B., GOEBEL W., HUBER K., BREVES G., 2001: No effect of vitamin D3 treatment on active calcium absorption across ruminal epithelium of sheep. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 48. p. 353-363.
- TANCIN V., KRAETZL W. D., SCHAMS D., BRUCKMAIER R.M., 2001: The effects of conditioning to suckling, milking and of calf presence on the release of oxytocin in dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 72. p. 235-246.
- TAVERNE M. A. M., VAN DER WEYDEN G. C., FONTIJNE P., 1979: Preliminary observations on myometrial electrical activity before, during and after parturition in the cow. In: HOFFMANN B., MASON I. L., SCHMIDT J. (eds): *Calving Problems and Early Viability of the Calf. Volume 4.* The Hague, Martinus Nijhoff. p. 297-311.
- TENHAGEN B. A., HEUWIESER W., 1999: Comparison of a conventional reproductive management programme based on rectal palpation and uterine treatment of endometritis with a strategic prostaglandin F2 $\alpha$  programme. *J. Vet. Med. A.*, 46. p. 167-176.
- VAGG M. J., PAYNE J. M., 1970: The effect of ammonium chloride induced acidosis on calcium metabolism in ruminants. *Br. Vet. J.*, 126. p. 531-537.
- VANDEMARK N. L., HAYS R. L., 1951: The effect of oxytocin, adrenalin, breeding techniques and milking on uterine motility in the cow. *J. Anim. Sci.*, 10. p. 1083.
- VAN WERVEN T., SCHUKKEN Y. H., LLOYD J., BRAND A., HEERINGA H. T., SHEA M., 1992: The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, 37. p. 1191-1203.

VENABLE J. H., MCDONALD L. E., 1958: Postparturient bovine uterine motility - normal and after experimentally produced retention of the fetal membranes. *Am. J. Vet. Res.*, 19. p. 308-313.

WETHERILL G. D., 1965: Retained placenta in the bovine. A brief review. *Can. Vet. Jour.*, 6. p. 290-294.

WOODING F. B. P., 1992: Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*, 13. p. 101-113.

ZEROBIN K., 1970: Die Uterusbewegungen bei Kühen während der Geburt und der Nachgeburtsphase. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 112. p. 544-560.

ZEROBIN K., SPÖRRI H., 1972: Motility of the bovine and porcine uterus and fallopian tube. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 16. p. 303-354.

## **8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Bajcsy Árpád Csabának türelmét, felügyeletét és hasznos szakmai tanácsait, melyek a megfigyelések és elemzések végzése, szakdolgozatom megírása során nagy segítségemre voltak. Köszönöm továbbá az Agroprodukt ZRt. vezetőinek, a zsigaházi tehenészet összes dolgozójának munkájukat és támogatásukat. Hozzájárulásuk és aktív részvételük nélkül ez a vizsgálat nem mehetett volna végbe. Köszönettel tartozom a marcaltői Gólyafészek Vendégház tulajdonosainak, hogy a 2014-es és 2015-ös vizsgálatok idején kényelmes szállást biztosítottak számunkra.