

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**Az ellés körüli inzulinrezisztencia egyes anyagforgalmi és szaporodásbiológiai vonatkozásai tejhasznú tehenekben**

**Ph.D. értekezés tézisei**

**Dr. Kerestes Ágnes Mónika**

**2010**

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

Témavezető:

Dr. Huszenicza Gyula egyetemi tanár, DSc  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Témabizottsági tagok:

Prof. Dr. Gaál Tibor  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Belgyógyászati Tanszék és Klinika

† Prof. Dr. Rudas Péter  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Élettani és Biokémiai Tanszék

Az értekezés a Dr. Huszenicza Gyula témavezető elnökletével Budapesten 2009. december 17-én tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

Készült 20 példányban. Ez a \_\_\_\_ . sz. példány.

.....  
dr. Kerestes Ágnes Mónika

## BEVEZETÉS

Az inzulin a lipidmobilizáció és a ketonanyagok képződése ellen ható egyik legfontosabb anabolikus hatású hormon. Az anyagcserében betöltött funkciója mellett számos szaporodásbiológiai hatása is ismert: szérumszintje befolyásolja a hipofízis-petefészek-tengely működését, valamint a tüszők és a sárgatest szteroidgeneziséjét. A laktáció elején a perifériás szövetek inzulinérzékenysége, valamint a hasnyálmirigy inzulin-elválasztása jelentősen csökken tejhasznú szarvasmarhában. Emberben bizonyított, hogy összefüggés van az elhízás, a plazma magas szabadzsírsav koncentrációja, egyes gyulladásos mediátorok (pl. *tumor nekrosis faktor-alfa*) és az inzulinrezisztencia kialakulása között. Irodalmi adatok alapján az inzulinrezisztenciának tejhasznú szarvasmarhában is szerepe lehet egyes ellés körüli anyagforgalmi- és szaporodásbiológiai zavarok kórfejlődésében, mint az oltógyomor-helyzetváltozás (Pravettoni és mtsai., 2004), a petefészek cisztás elfajulása (Opsomer és mtsai., 1999) vagy a zsírmáj-szindróma (Ohtsuka és mtsai., 2001). A laktáció korai szakaszában szarvasmarhában gyakoriak a nagy mennyiségű endotoxin-felszabadulással járó szaporodásbiológiai zavarok, mint például a mastitis, vagy a puerperális metritis. Ugyanakkor az ellés körül kialakuló puerperális zavarok, az inzulinrezisztencia és a csökkent szaporodásbiológiai teljesítmény közötti kölcsönhatásokról szóló ismereteink ma még hiányosak.

A perifériás szövetek inzulinrezisztenciáját a glükóz-indukált inzulin, az inzulin-indukált glükóz válasz, vagy mindkettő csökkenése jellemzi (Kahn, 1978). Ugyanakkor az inzulinrezisztencia vizsgálatára alkalmas terheléses tesztek üzemi körülmények ezek a tesztek nagyon munka- és időigényesek. A humán epidemiológiai vizsgálatokban a vérplazma alap inzulin, glükóz és nem-eszterifikált szabadzsírsav szintjén alapuló inzulin-érzékenységi mutató (*Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) alkalmazása szarvasmarhában az inzulinrezisztencia nagyobb állatszámmon való tanulmányozását tenné lehetővé. Korábban az index megbízhatónak bizonyult egészséges Holstein tehenekben (Holtenius és Holtenius, 2007; Balogh és mtsai., 2009).

Az inzulin elválasztást és egyes, metabolikus hormonok szekrécióját serkentő takarmányozásnak fontos szerepe lehet az ellés utáni petefészek-működés javításában (Gong és mtsai., 2002; Butler és mtsai., 2000). Az energia-kiegészítés típusa, ideje, valamint a kezelt állatok eltérő tartási és termelési szintje befolyásolhatja a kiegészítés eredményességét.

## CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink célja volt az ellés körüli inzulin elválasztás és inzulin rezisztencia egyes metabolikus és szaporodásbiológiai zavarokkal való összefüggésének elemzése tejhasznú szarvasmarhában. Vizsgáltuk továbbá, hogy különböző tartási körülmények között az ellés körül alkalmazott energia-kiegészítés milyen hatással van az inzulin szérum szintjére, a hasnyálmirigy  $\beta$ -sejtjeinek inzulin termelésére, a teljes test inzulinérzékenységének mértékére, illetve mindezek milyen összefüggést mutatnak a petefészekműködés ellés utáni ciklikussá válásával.

Egyes kísérleteink az alábbi konkrét célok vizsgálatára irányultak:

- (i) hogyan alakul az ellés körül a hasnyálmirigy  $\beta$ -sejtjeinek inzulintermelő képessége, valamint az egész-test inzulin-érzékenysége egyes ellés körüli anyagforgalmi és szaporodásbiológiai zavarokban szenvedő tejhasznú tehenekben, valamint milyen összefüggések vannak a terheléses vizsgálatok eredményei és egyes, a humán epidemiológiai vizsgálatokban elterjedt inzulinérzékenységi index (revised quantitative insulin sensitivity check index, RQUICKI) között (*1 Kísérlet*);
- (ii) nagyüzemi körülmények között, komplett monodiétás takarmányozásban részesülő tejhasznú tehenekben az ellés körüli napokban alkalmazott, porított formájú propilén-glikol (PGL) kiegészítés hogyan befolyásolja az egyes metabolikus és szaporodásbiológiai mutatókat, a glükóz-indukált inzulin választ, valamint az inzulin-indukált vércukorszint-csökkenés mértékét, valamint a máj lipidtelítettségét (*2 Kísérlet*);
- (iii) kizárólag legelőn tartott tejhasznú tehenekben az ellés előtti, kukoricadara formájában alkalmazott energia-kiegészítés milyen hatással van egyes metabolitok és metabolikus hormonok vérplazmában mért szintjére, valamint az ellés utáni első ovuláció időpontjára (*3 Kísérlet*).

# SAJÁT VIZSGÁLATOK

## 1 kísérlet

### Kísérleti körülmények és elrendezés

Vizsgálatunkba 31, nagyüzemi körülmények között tartott, többször ellett Holstein tehenet vontunk be, a vemhesség 259-265 napján. Az állatok átlagos 305-napra korigált előző laktációs tejtermelése  $8331 \pm 193$  kg volt. Az ellés utáni 1. és 7. napok között végzett involúciós vizsgálat során *puerperalis metritis* (PM) állapítottunk meg azoknál az állatoknál, melyeknél putrid, bűzös hüvelyváladék volt tapasztalható, valamint a rektális hőmérséklet  $\geq 39.5^\circ\text{C}$ . Vérmintákat gyűjtöttünk az ellés előtti 18-22. naptól az ellés utáni 60-70. napig a plazma glükóz, nem-eszterifikált zsírsav (NEFA),  $\beta$ -hidroxi-butirát (BHB), inzulin, inzulin-szerű növekedési faktor-I (IGF-I) és leptin tartalmának a mérésére. Az ellés után mértük a tejtermelést a 7. napon, valamint a 28.-36. napok és a 60.-70. napok között. Az állatok tápláltsági állapotát (body condition score, BCS) a vizsgálatba történő bevonáskor, valamint az ellés utáni 7. és 28.-35. napok között bíráltuk el.

Az ellés előtt 18-22. nappal, ill. az ellés után 7. napon és a 60-70. napok között az állatokat szimultán *intravénás glükóz-* (GTT) és *inzulinterheléses tesztnek* (ITT) vetettünk alá. A terhelés megkezdése előtt 10 perc különbséggel két alap vérmintát ( $t_{-10}$  és  $t_0$ ) vettünk. Ezt követően glükóz-oldatot<sup>1</sup> infundáltunk a *v. epigastrica cranialis superficialis*-ba. A glükóz infundálása utáni 5., 15., 30., 45., 60., 75., 90., 120., 150., 180. és 210. percekben vérmintát gyűjtöttünk az állatoktól, melyekből az inzulin és glükóz szintjeit határoztuk meg. A glükóz beadását követő 210. percben gyors hatású humán inzulin készítményt adagoltunk<sup>2</sup> a *v. jugularis*-ba. Az inzulin beadását követő 240., 270., 300., 330., 360., 390., 420., 450. és 480. percekben ismét vért vettünk az állatokból, melyekből szintén az inzulin és glükóz szinteket határoztuk meg.

A sorozatosan gyűjtött vérmintákból kiszámítottuk a humán epidemiológiai vizsgálatokban a perifériás inzulinérzékenység becslésére alkalmazott inzulinérzékenységi indexet<sup>3</sup> (Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, RQUICKI).

---

<sup>1</sup> 0.5 g/ttkg (Glucose 40%, Human Ltd., Gödöllő)

<sup>2</sup> 0.1 NE/ttkg (Humulin<sup>TM</sup>, Lilly Pharm, Indianapolis)

<sup>3</sup> RQUICKI =  $1 / [\log(\text{alap glükóz}) + \log(\text{alap inzulin}) + \log(\text{alap NEFA})]$

## Eredmények és megbeszélés

Az ellés után mastitis klinikai tüneteit mutató állatok (n=3) kizárását követően összesen 28 tehén adatai bizonyultak kiértékelhetőnek. A plazma BHB profilja és a klinikai vizsgálatok eredményei alapján az állatok az alábbi négy csoport valamelyikében voltak besorolhatóak. A *normoketonaemiás* (NK, n=9) csoportba azokat az állatokat soroltuk, amelyekben a plazma BHB szintje nem haladta meg az 1,20 mmol/l-t. Az *átmenetileg hyperketonaemiás* (HK, n=7) csoportba tartozó tehenekben a plazma BHB szintje az ellés napján és/vagy az ellés utáni napon elérte vagy meghaladta az 1,20 mmol/l-t. A *tartósan hyperketonaemiás* (tHK, n=7) állatok vérében a plazma BHB szintje tartósan meghaladta az 1.20 mmol/l határértéket. A negyedik a csoportba a *tartós hyperketonaemia* mellett a *puerperális metritis* klinikai tüneteit is mutató tehenek kerültek (tHK+PM, n=6).

Az ellés körüli plazma NEFA szintje hasonló változásokat követett, mint a plazma BHB koncentrációja, azonban korábban emelkedett a tartósan HK (egyres állatokban már az ellés előtti 4.-10. napok között) csoportban. A késői vemhesség idején nem volt változás a plazma *glükóz* koncentrációjában. Az ellés előtti 3. naptól kezdődően a plazma *glükóz* koncentrációja kismértékű csökkenést mutatott minden csoportban, és ellés utáni 28-35. napra helyreállt az ellés előtti szintre. A mintavétel kezdetén a plazma *inzulin* koncentrációja magas volt, viszonylag nagy egyedi különbségekkel (7,0 és 25,0 pmol/L között). Az ellés előtt napokban az *inzulin* koncentráció minden csoportban csökkenni kezdett. A később PM tüneteit mutató állatokban az *inzulin* koncentráció az ellés utáni 2-3. napok között kezdett csökkenni, és az ellés utáni 3-4. napon, a *puerperális metritis* klinikai manifesztációjának az idejében érte el a legalacsonyabb koncentrációt. Az ellés utáni 28-35. napra a plazma *inzulin* koncentrációja megegyezett az ellés előtti koncentrációval. A plazma IGF-I és leptin szintje minden csoportban az ellés előtt csökkenni kezdett, de a hyperketonaemiás állatok vérében az ellés után alacsonyabb leptin és IGF-I szinteket mértünk, függetlenül attól, hogy a hyperketonaemia tartós vagy csak átmeneti volt-e.

A GTT során az *inzulin görbe alatti területe* (AUC) és a *glükóz indukálta maximális inzulin válasz* alacsonyabb volt a korai laktáció idején, mint a szárazon állókban, ill. a laktáció középső szakaszában (P<0,001), csökkent *inzulin válaszkészéget* mutatva. A GTT során mért *inzulin-válasz* alacsonyabb volt a tartósan HK állatokban, mint a csak átmenetileg HK csoportban. A tartósan HK állatokban az *inzulin* AUC és a maximális

inzulin válasz az ellés utáni 60-70. napok között még mindig alacsonyabb volt, mint a normoketonaemiás, illetve csak átmenetileg HK állatokban. Az ITT során az inzulinmediált glükóz csökkenés mértéke (*inzulinérzékenység*) kisebb volt a korai laktáció idején, mint a késői vemhesség során. Ugyanakkor a tartósan HK állatokban szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a normoketonaemiás vagy átmenetileg hyperketonaemiás állatokban. A plazma NEFA koncentrációjának változása – függetlenül a puerperalis metritis esetleges fölléptétől – minden tartósan hyperketonaemiás tehénben hasonlóan alakult. Várhatóan a puerperalis metritisben szenvedő állatokban súlyosabb inzulinrezisztencia várható, a gyulladás során felszabaduló mediátorok további károsító hatása miatt. A puerperalis metritis tüneteit mutató állatokban – feltételezhetően a gyulladásos reakció részjelenségeként felszabaduló citokinek és egyéb mediátor-anyagok hatására – az inzulin AUC és a maximális inzulin-válasz alacsonyabbnak, az inzulinrezisztencia mértéke pedig kifejezettebbnek bizonyult.

Vizsgálatunk során a humán epidemiológiai vizsgálatokban alkalmazott RQUICKI inzulinérzékenységi indexre jelentős hatása volt az időnek ( $P < 0,001$ ), azonban az egyes csoportok közötti különbségek nem bizonyultak szignifikánsnak ( $P = 0,41$ ). Az eddigiekben az RQUICKI indexet csak egészséges Holstein fríz tehenekben vizsgálták (*Butler és mtsai., 2004; Balogh és mtsai., 2008*). Jelen vizsgálatunkban a terheléses tesztek során a tartósan HK állatokban csökkent inzulin-válaszkésztséget és inzulinérzékenységet mérünk, azonban az RQUICKI index nem mutatott különbséget a csoportok között. Ugyanakkor nem mutattunk ki összefüggést az index és az ellés utáni tápláltsági állapottal, illetve a tápláltsági állapot csökkenésének mértékével. Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy az inzulinérzékenységi indexet tejhasznú tehenekben jelentősen befolyásolják az ellés körüli nagymértékű metabolikus és hormonális változások, és így e számított paraméter ebben az időszakban valószínűleg nem alkalmas az eltérő eredetű és mértékű inzulinrezisztens állapotok megkülönböztetésére.

A normoketonaemiás állatokban a petefészek-működés korábban vált ciklikussá, mint a tartósan hyperketonaemiás csoportban ( $26,2 \pm 3$ ,  $34,7 \pm 4$ ,  $44,0 \pm 4$ ,  $50,1 \pm 5$  nap az NK, tHK, cHK, valamint a cHK+PM csoportban;  $P = 0,002$ ). A petefészek ciklusba lendülése negatív korrelációban állt az inzulin AUC-vel, a maximális inzulin-válasszal és az inzulin-indukált glükóz-válasz csökkenésével, vagyis a későbbben ciklusba lendülő állatokban csökkent inzulin-válaszkésztséget és egész-test inzulinérzékenységet mutatunk ki.

## **Következtetések**

Az ellés körüli fokozott lipidmobilizáció, a tartós hyperketonaemia, valamint egyes endotoxaemiával járó betegségek tovább ronthatják az inzulin elválasztását és biológiai hatását tehenekben, amely hozzájárulhat az ellés utáni szaporodásbiológiai teljesítmény romlásához. Korábban csak egészséges tehenekben vizsgált inzulin-érzékenységi index (RQUICKI) eredményeink szerint csak körültekintően alkalmazható az inzulin-érzékenységben bekövetkező változások mérésére eltérő élettani állapotú, illetve különböző puerperalis kórképben (szubklinikai ketosis, puerperalis metritis) szenvedő állatokban.

## **2 kísérlet**

### **Kísérleti körülmények és elrendezés**

Vizsgálatunkba 51 többször ellett, nagyüzemi telepen tartott Holstein-fríz szarvasmarhát vontunk be. Az állatokat (előző laktációs tej:  $8042 \pm 214$  kg; ellésszám:  $2,43 \pm 0,21$ ) a várható ellés előtti 14-10. napon, az elletőbe helyezéskor *kezelt* (PGL,  $n=20$ ) és *kontroll* (Kontroll,  $n=31$ ) csoportokba soroltuk. A telepen komplett monodiétás keveréket (total mixed ration, TMR) etettek. A kezelt állatok az elletőben való tartózkodás alatt (az ellés előtti 14-10. naptól, az ellés utáni 7-10. napig) a kontroll csoport fejadagjához képest naponta 350 g propilén-glikol-kiegészítést kaptak, porított formában (VMD Ltd, Budapest; összetétel: 75% propilén-glikol, 25% fumed silica) a monodiétás takarmányra szórva. Az alkalmazott PGL kiegészítés kb. 5.05 MJ NE<sub>1</sub> felel meg.

Vérmintákat gyűjtöttünk az ellés előtti 1. és 2. héten, ill. az ellés utáni 1., 2., 5. és 7. héten. Meghatároztuk a plazma  $\beta$ OH vajsav (BHB), nem eszterifikált zsírsavak (NEFA), glükóz, inzulin, inzulinszerű-növekedési faktor-I (IGF-I), tiroxin (T<sub>4</sub>) és 3,3',5, trijód-tironin (T<sub>3</sub>) szinteket. Az ellés utáni 7-10. napon a vizsgálatba bevont állatok egy részét szimultán GTT és ITT vizsgálatnak vetettük alá, (Kontroll= 10 állat; PGL= 6 állat) valamint májszövet mintavétel történt, melyből meghatároztuk a máj összlipid tartalmát. Az állatok napi tejtermelését az ellés utáni 10. naptól az ellés utáni 90 napig követtük nyomon.

A petefészkek-működés ciklikussá válásának monitorozása céljából tejmintákat gyűjtöttünk az ellés után, 7 héten keresztül, hetenként háromszor, melyből meghatároztuk a progeszteron (P4) szinteket. Az állatok ciklusát Pre-Ovsynch protokoll alapján szinkronizáltuk, melyet fix idejű termékenyítés követett, körülbelül az ellés utáni 10. héten. Az első



fix idejű termékenyítést követően a vemhességet a 35. és 40. napok között végzett ultrahang-echográfias vizsgálat, illetve a termékenyítés után 45-60 nappal végzett rektális vizsgálat segítségével vizsgáltuk. Az állatok szaporodásbiológiai mutatóit az ellés utáni 150. napig követtük nyomon.

## **Eredmények és megbeszélés**

### ***A propilénlikol kiegészítés metabolikus és hormonális hatásai***

Kísérletünk során a kezelt csoportban a napi 350 g PGL-kiegészítés az ellés előtt a napi energia-szükséglet kb. 14%-át, a korai laktáció napjaiban mintegy 5%-át teszi ki. Üzemi vizsgálatunk során az állatok egyedi szárazanyag felvételét nem mértük, ezért csak becsülni tudjuk, hogy az egyes állatok mennyi PGL-t vettek fel. Az ellés körüli propilénlikol kiegészítés nem befolyásolta a tejtermelést ( $P < 0,05$ ): az átlagos napi tejtermelés a Kontroll csoportban  $33,1 \pm 1,19$  liter, a PGL csoportban  $33,8 \pm 1,32$  liter volt ( $P = 0,48$ ). Az ellés utáni 7-10. napok között nem volt különbség a Kontroll és PGL csoport tápláltsági állapotában (Kontroll<sub>BCS</sub>:  $2,9 \pm 0,07$  és PGL<sub>BCS</sub>:  $3,0 \pm 0,01$ ;  $P = 0,51$ ).

Vizsgálataink nem mutattak különbséget az állatok *NEFA*-szintjét illetően. Ugyanez igaz a *BHB*-ra is, azzal a különbséggel, hogy az ellés előtti napokban a PGL-csoportban a Kontroll csoporthoz viszonyítva kisebb mértékben növekedett a *BHB*-szint. Azonban elmondhatjuk, hogy egyik csoportban sem mértünk nagyon magas értékeket. Vizsgálatok jelentős része a plazma *NEFA* szintjének csökkenését mutatta ki PGL drench alkalmazása nyomán, amely általában együtt járt a plazma *BHB* szintjének csökkenésével is (Nielsen és Ingvarstsen, 2004). A PGL kiegészítés nyomán magasabb *inzulin* koncentrációt mértünk az ellés előtt ( $P < 0,01$ ), azonban nem az ellés után ( $P > 0,05$ ). A vérplazma glükóz koncentrációjában nem mutatkozott különbséget a két csoport között. Az *inzulin*-szint növekedésének magasabb mértéke több tényezővel magyarázható. Ennek oka lehet a mintavételezés időpontja, másrészt az *inzulin*-szint nagyfokú emelkedése gátolja a glükóz koncentrációjának túlzott fokú növekedését (Grummer és mtsai, 1998). Christensen és mtsai. (1997) arról is beszámolnak, hogy a kiegészítés módja (drench, abrakhoz keverve, TMR-re szórva) jelentősen befolyásolja a glükóz és az *inzulin* szintjét. A PGL kiegészítés nem befolyásolta a plazma  $T_3$ ,  $T_4$  és *IGF-I* koncentrációit.

A PGL nem befolyásolta jelentősen a máj elzsírosodásának mértékét az ellés utáni 7.-10. nap között vizsgált májbiopátumokban (összlipid: Kontroll csoport  $105,9 \pm 48,9$  g/kg; PGL csoport  $76,7 \pm 28,02$  g/kg;  $P = 0,18$ ). Kezeléstől függetlenül magasabb máj

összlipid tartalmat találtunk azokban az állatokban, amelyekben utólag magasabb NEFA és ketonanyag-szinteket mértünk.

A PGL kiegészítés nem befolyásolta a glükóz terhelésre adott *inzulin görbe alatti területét* (AUC) valamint a *maximális inzulín-választ*. A terhelést követően a *glükóz kiürülési sebessége* lassabb volt a PGL csoportban, mint Kontroll csoportban. A glükóz eltűnését a vérből óvatosan kell értékelni, különösen a laktációs csúcs idején, mikor a tőgy glükóz-igénye igen magas. Ugyanakkor az inzulín terhelés során a PGL csoport *glükóz-válasz csökkenése* kisebb mértékű volt, amely szintén a perifériás szövetek (főleg zsír- és izomszövet) inzulínrezisztens állapotára utalhat. A plazma BHB és NEFA koncentráció és az inzulínrezisztencia között szoros összefüggés van, ahogyan ezt 1. *kísérletünk* során igazoltuk. Vizsgálatunkban a PGL kiegészítés nem befolyásolta a vizsgált plazma metabolitok koncentrációját, sem a terheléses tesztek eredményeit. A kiegészítésben részesülő csoport kismértékű inzulínrezisztens állapotának igazolására további, nagyobb állatszámra való vizsgálatokra van szükség.

A tej progeszteron profilja alapján az ellés utáni 70. napig mindkét csoportban bekövetkezett az ovuláció. A Kontroll csoportban az első ovuláció átlagosan a 34,17 ±2,9 napon, a PGL-csoportban az első ovuláció átlaga a 34,06±4,5 napon következett be (p= 0,98). Az első termékenyítés illetve a 150. napig bekövetkezett vemhesülés (10,7% vs. 17%, illetve 16% vs. 35%) arányában nem találtunk különbséget a kontroll és PGL csoportban, azonban a vemhesülési arány mindkét csoportban alacsony volt. A rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján a PGL kiegészítés petefészek-működésre való hatásról egymásnak ellentmondó eredmények vannak. Egyes vizsgálatokban a PGL kiegészítés jelentősen csökkentette a postpartum anovuláció időtartamát (*Miyoshi és mtsai., 2001*), azonban másoknak ezt nem sikerült reprodukálni (*Butler és mtsai., 2006*).

## **Következtetések**

Kísérletünk során nem tudtuk bizonyítani a porított formában, monodiétás takarmányozás részeként alkalmazott propilénglikol hatását nagy tejtermelésű, üzemi körülmények között tartott szarvasmarhák ellés utáni energiaháztartására, a petefészek ciklusba lendülésére, valamint egyes szaporodásbiológiai mutatókra. Hasonlóan az újabb irodalmi adatokhoz, valószínűsíthető hogy megfelelően takarmányozott állományokban a takarmány glükoneogenetikus anyaggal való kiegészítése nem tudja kimutatható mértékben befolyásolni az állatok metabolikus állapotát. Ugyanakkor a PGL cél-

zott alkalmazásakor figyelembe kell venni a kiegészítés módját is, és ennek a leghatékonyabb, drench formában való alkalmazását előnyben részesíteni.

### **3. kísérlet**

#### **Kísérleti körülmények és elrendezés**

A vizsgálatba 20 többször ellett, legelőn tartott Holstein tehenet vontunk be (BCS: 2, 5±0,1) az INIA La Estanzuela kísérleti tehenészeti telepen (Colonia, Uruguay). Az állatokat a várható ellés előtti 28. napon természetes legelő kifutóba helyeztük el. Az ellés előtti 21. napon az állatokat *Kontroll* (n=10) és *Energia* (n=10) csoportba soroltuk. Az ellés előtti 21 naptól az ellés napjáig az *Energia* csoport naponta 3.5 kg kukoricadara alapú kiegészítést kapott, amely 13.5 MJ energia-kiegészítést jelentett. Mindkét csoport feljavított szénát kapott (hüvelyesek és *Gramineae*). Ellés után mindkét csoport a legelő hozzáférés mellett ugyanazt a takarmányt kapta: napi 4 kg/nap/állat koncentrátum és 12 kg/nap/állat kukorica szilázs.

Hetente egy alkalommal pontosztuk a tehenek tápláltsági állapotát az ellés utáni 5. hétig, valamint megmértük az állatok napi tejtermelését. A tejszír- és fehérje tartalmának mérése minden héten négy, egymást követő fejés mintáiból került meghatározásra, az ellés utáni 5. hétig.

Vérmintákat gyűjtöttünk a várható ellés előtti 28 és 35. napoktól kezdve hetente egy alkalommal, egyes plazma metabolitok és hormonok meghatározására (karbamid, BHB, NEFA, koleszterol, inzulin, IGF-I és leptin). A petefészkek-működés ciklusba lendülésére és az ovuláció időpontjának meghatározására vérmintát gyűjtöttünk az ellést követően hetente két alkalommal a plazma progeszteron meghatározásra, valamint rektális ultrahangvizsgálatot végeztünk. Az ovuláció időpontját a legnagyobb tüsző eltűnése alapján állapítottuk meg. A petefészkek-működés ciklusba lendülését akkor állapítottuk meg, ha a plazma progeszteron koncentrációja két egymást követő mintában meghaladta a >1,6 nmol/L-t, vagy egy alkalommal a >3,2 nmol/L-t.

#### **Eredmények és megbeszélés**

A csoportok tápláltsági állapota azonos volt a vizsgálatba bekerülés idején, azonban az ellés előtti 7. napon, valamint az ellés utáni 2. és 4. héten az *Energia* csoportba tartozó tehenek kedvezőbb kondícióban voltak, mint a *Kontroll* csoportba tartozó állatok (P<0,01). A tejtermelés magasabb volt az *Energia* csoportban (P<0,05). Az

energia-kiegészítésnek nem volt hatása a tejszír és -fehérje tartalmára. Egymásnak ellentmondó irodalmi adatok vannak az ellés előtti energia-kiegészítés hatásáról a tejtermelésre; egyes szerzők szerint az energia-kiegészítés növeli (*Overton és Waldron, 2004*), ezzel ellentétben mások nem találtak hatást a tejtermelésre (*Holtenius és mtsai., 2003; Roche és mtsai., 2005*). A különbségek a kiegészítés típusának, az alkalmazás módjának és adagjának, valamint az állatok termelési tulajdonságainak köszönhető. Kísérletünkben az Energia csoport magasabb kondíciója, amely nagyobb mértékű zsírmobilizációhoz vezetett, szintén hozzájárulhatott a magasabb tejtermeléshez (*Kokkonen és mtsai., 2005*).

Az ellés előtt plazma *NEFA* koncentrációja hasonlóan alakult mindkét csoportban; azonban az ellés után szignifikánsan növekedett az *Energia* csoportban. Ez utóbbi csoportban a plazma *NEFA* koncentrációja jelentősen emelkedett az ellés idején, majd az ellés utáni héten csökkenni kezdett. A *NEFA* koncentráció emelkedésének idején csökkent az állatok kondíciója is. Az *Energia* csoportban a plazma *BHB* koncentrációja is szignifikánsan növekedett az ellés után, és magasabb maradt a vizsgálat idején.

A plazma *karbamid* koncentrációja jelentősen emelkedett a *Kontroll* csoportban az ellés után, az *Energia* csoportban ezzel szemben csak az ellés utáni héten volt növekedés tapasztalható ( $P < 0,05$ ), ezt követően csökkenni kezdett. Az ellés utáni 3. hétre mindkét csoportban visszatért az eredeti koncentrációkra.

Az energia-kiegészítés hatására szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a plazma *inzulin* koncentrációjában. Ez annak tudható be, hogy ameddig a *Kontroll* csoportban az *inzulin* koncentráció jelentősen csökkent az ellés körül, ezzel szemben az *Energia* csoportban az *inzulin* koncentráció nem csökkent az ellés körül, és szignifikánsan magasabb maradt az egész vizsgálati időszak alatt. Az ellés előtt etetett könnyen fermentálódó szénhidrátok nagyobb mennyiségű glükoneogenetikus anyagot szállít a májnak, ami stimulálja az *inzulin* elválasztást. Másfelől a magasabb ellés utáni *NEFA* és *inzulin* szint magasabb fokú *inzulinrezisztenciára* is utalhat (*Chilliard, 1999*).

Az ellés előtti héten az energia-kiegészítés hatására magasabb volt a plazma *IGF-I* szintje ( $P < 0,01$ ). Azonban ellés után mindkét csoportban csökkent plazma *IGF-I* szintje, és alacsonyabb maradt a vizsgálat idején. A plazma *leptin* koncentrációja az ellés előtti héten magasabb volt az *Energia* csoportban, szemben a *Kontroll* csoporthoz képest ( $P < 0,05$ ), de nem volt különbség az ellés után. Az energia-kiegészítés nem volt hatással a plazma  $T_3$  és  $T_4$  koncentrációkra.

Az *Energia* csoportba tartozó állatok 12 nappal korábban ovuláltak, mint a *Kontroll* csoportban ( $P < 0,05$ ). Az ellés utáni első ovuláció az *Energia* csoportban a  $25,0 \pm 3,7$  napon, a *Kontroll* csoportban a  $37,4 \pm 3,7$  napon következett be ( $P < 0,05$ ). Az előbbi csoportban az összes állat ciklusba lendült pp 35. napig, ezzel szemben a *Kontroll* csoportban csak az állatok 60%-a ovulált ( $P < 0,05$ ). Gong és mtsai. (2002) vizsgálatában az ellés körül inzulin-elválasztást stimuláló takarmányban részesülő tehenek korábban ovuláltak, mint kontroll társaik. A kukoricadara formájában alkalmazott kiegészítés le rövidítette az ellés utáni aciklia hosszát. Ennek hátterében az ellés előtti magasabb inzulin, leptin, valamint IGF-I, valamint az ellés utáni magasabb inzulin szintekkel.

### **Következtetések**

Legelőn tartott szarvasmarhában az ellés előtti energia-kiegészítésnek köszönhetően az ellés után magasabb volt a tehenek tejtermelése és korábban ovuláltak, ami megegyezett a kedvezőbb tápláltsági állapotával, valamint a petefészkek-működés szempontjából jelentős metabolikus hormonok kedvező profiljával az ellés körül.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A következő új tudományos eredményeket állapítottuk meg:

1. Tejhasznú (Holstein fríz) tehenekben az ellés körül kialakuló átmeneti hyperketonaemia nem befolyásolja a glükóz-indukált inzulinválaszt az ellés körül kialakuló perifériás szövetek inzulinérzékenységét. Ezzel szemben a tartós hyperketonaemia csökkenti az inzulin-elválasztást, valamint az egész-test inzulinérzékenységét (*1. Kísérlet*).
2. Egyes puerperális kórképek, amelyek intenzív gyulladáscsökkentő citokin felszabadulással járnak, tovább csökkentik az inzulin-elválasztást és a perifériás szövetek inzulinérzékenységét, ezáltal tartósan befolyásolják az állatok anyagforgalmát és szaporodását (*1. Kísérlet*).
3. Az inzulin-érzékenység mérésére alkalmasnak tűnő, a korábban csak egészséges szarvasmarhában vizsgált mutató (Revised Quantitative Sensitivity Check Index, RQUICKI) csak körültekintően alkalmazható tejhasznú tehenekben, mivel alakulását jelentősen befolyásolják az ellés körüli anyagforgalmi és metabolikus változások: különböző anyagforgalmi és puerperális zavarokban szenvedő tehenekben az index nem korrelál a standard terheléses tesztek során mért inzulinérzékenységi mutatókkal (*1. Kísérlet*).
4. Komplet monodiétás takarmányozásban részesülő tejhasznú tehenekben az adott üzemi körülményeink között a porított formájú propilén-glikol kiegészítés (az ellés előtti 14. naptól az ellés utáni 10. napig a monodiétára szórva) jelentősebben nem befolyásolta a vizsgált anyagforgalmi és hormonális mutatókat, a petefészek-működést, és némileg csökkentette az egész-test inzulinérzékenységét monodiéta alapon takarmányozott Holstein szarvasmarhában (*2. Kísérlet*).
5. Legelőn tartott, alacsony kondíciójú szarvasmarhában az ellés előtt alkalmazott kukoricadara alapú energia-kiegészítés csökkentette a postpartum aciklia hosszát, ami összhangban állt az állatok kedvezőbb tápláltsági állapotával, az ellés előtti magasabb inzulin, IGF-I és leptin szintekkel, továbbá az ellés utáni magasabb inzulin koncentrációval (*3. Kísérlet*).

## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

### Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények, angol nyelven

- **Keresztes M.**, V. Faigl, M. Kulcsár, O. Balogh, J. Földi, H. Fébel, Y. Chilliard, G. Huszenicza. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Dom. Anim. Endocrin.*, 2009. 37. (4). 250-261  
(utolsó ismert IF: 2,165)
- Cavestany D, M Kulcsár, D Crespi, Y Chilliard, A La Manna, O Balogh, **M Keresztes**, C Delavaud, G Huszenicza, A Meikle. Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive characteristics, and metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions. *Reprod Dom. Anim.* 2009. 44. (4). 663 – 671.  
(utolsó ismert IF: 1,526)
- Huszenicza Gy., **Keresztes M.**, Balogh O., Faigl Vera, Kátai L., Földi J., Lemonyati, K., Kulcsár M. Periparturient changes of metabolic hormones and their clinical and reproductive relevance in dairy cows. Proc. XXV Jubilee World Buiatrics Congr., Budapest, *Magy. Áo. Lapja*, 2008. 130. (Suppl.) 1. 45-51.  
(utolsó ismert IF: 0,089)
- **Keresztes M.**, Faigl V, Kulcsár M, Fébel H., Györffy A, Gaál T., Husvéth F, Bartha T, Mézes M, Tamási G., Gábor G., Szenci O, Huszenicza G. Effect of pulverized propylene glycol supplementation on periparturient metabolic profile and reproductive performance in Holstein-Friesian cows. *Vet. Med. Cz.*, közlésre benyújtva  
(utolsó ismert IF: 0,659)

### Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények, magyar nyelven

- **Keresztes M.**, Faigl V, Mézes M, Kulcsár M, Huszenicza Gy. Glükoneogenetikus takarmány-kiegészítők metabolikus és szaporodásbiológiai hatásai tejhasznú szarvasmarhában. Irodalmi áttekintés. *Magy. Áo. Lapja*, közlésre elfogadva  
(utolsó ismert IF: 0,089)

### Tudományos konferenciákon bemutatott poszter vagy szóbeli közlés:

- **Keresztes M.**, Crespi D., Kulcsár M., Meikle A., La Manna A., Faigl V., Balogh O., Delavaud C., Chilliard Y., Huszenicza Gy., Cavestany D.: Effect of prepartum energetic supplementation on milk yield, metabolism and reproduction in dairy cows under grazing conditions. *Proc. of 24th World Buiatrics Congress, Nice (France), 15-19 Oct., 2006*, előadás

- **Kerestes M.**, Faigl V., Győrffy A., Langer D., Kulcsár M., Márton A., Gaál T., Fébel H., Bartha T., Tamás G., Szenci O., Huszenicza Gy. The effect of peripartum propylene glycol administration on metabolic and hormonal profile and on reproductive performances in Holstein-Friesian cows. *Magyar Buiatrikus Társaság XVIII. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok, 2007. okt. 10-13, előadás*
- **Kerestes M.**, Faigl V., Győrffy A., Márton A., Langer D., Kulcsár M., Gaál T., Fébel H., Húsvéth F., Gábor G., Bartha T., Szenci O., Huszenicza G. The effect of periparturient propylene glycol administration on metabolism and on reproductive performance in Holstein-Friesian cows. 11<sup>th</sup> Annual conference of the European Society of Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Celle, Germany. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2007. 42. Suppl. 2. p. 47, poszter
- **Kerestes M.**, Faigl V., Kulcsár M., Huszenicza Gy. Insulin secretion in normal, ketonemic and in cows affected by puerperal metritis. 12<sup>th</sup> Annual conference of the European Society of Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Utrecht, Netherland. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2008. 43. Suppl. 5. p103, poszter



## KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, *Prof. Huszenicza Gyulának*, akinek folyamatos munkája, lelkesítő és motiváló törődése nélkül ez az értekezés nem készülhetett volna el.

Köszönettel tartozom *Dr. Kulcsár Margitnak*, a laboratóriumi munkában való szakmai segítségért, és nem utolsósorban családi légkört nyújtó gondoskodásáért.

Külön köszönöm *Dr. Faigl Verának* folyamatos baráti segítségét, szakmai tanácsait, valamint a telepi és laboratóriumi munka során eltöltött vidám, felejthetetlen perceket.

Szeretném megköszönni a Szülészeti Tanszék és Klinika munkatársainak a támogatást és együttműködést: *Prof. Solti László* tanszékvezető úrnak, *Prof. Szenci Ottónak* és *Prof. Cseh Sándornak*. Köszönöm *Vonáné Nagy Alíz* kiemelkedő laboratóriumi munkáját, valamint *Bakosné Batta Arankának* laboratóriumi segítségét.

Külön köszönettel tartozom *Prof. Mézes Miklósnak* a kísérletekben nyújtott szakmai segítségéért és értékes tanácsaiért a kéziratok és az értekezés végleges formájába való elkészítésében. Köszönettel tartozom *Dr. Fébel Hedvignek* és *Prof. Húsvéth Ferencnek* szakmai támogatásukért. Köszönettel tartozom *Prof. Daniel Cavestany* és munkacsoportjának közreműködését az Uruguayban végzett kísérlet lebonyolításában. Köszönöm *Prof. Gaál Tibornak* lelkesítő szakmai támogatását, *Ribiczeyné Szabó Piroskának* a pontos laboratóriumi munkát, valamint *Prof. Vörös Károly* tanszékvezető úrnak a dolgozat megírásához biztosított időt és hogy szűkös idejéből áldozott az értekezés elolvasására.

Köszönöm *Dr. Balogh Orsolyának*, *Márton Alíz* és *Dr. Györffy Andreának* barátságukat és szakmai segítségüket, *Dr. Reiczigel Jenőnek* és *Abonyi Tóth Zsoltnak* a statisztikai értékelésekhez nyújtott segítségét.

Köszönettel tartozom minden telepi állatorvosnak, üzemvezetőnek, a telepek összes dolgozójának, hogy lehetővé tették a vizsgálataimat, hiszen az ő munkájuk és hozzáértésük nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Köszönettel tartozom a kísérletek, valamint a laboratóriumi munkában résztvevő diákoknak.

Köszönettel tartozom opponenseimnek, *Prof. Brydl Endrének* és *Prof. Bárdos Lászlónak* hogy idejüket áldozták dolgozatom alapos elolvasására és értékes javaslataikkal, tanácsaikkal segítették az értekezés végső formába való öntését.

Köszönöm *Prof. Marina Spanunak* a képzés elnyeréséhez szükséges ösztöndíj elnyerését támogatta.

Hálás köszönettel tartozom *családomnak* folyamatos, szerető segítségét és támogatását, akik nélkül sohase tudtam volna elérni céljaimat.

Budapest, 2009. november 30.

Kerestes Ágnes Mónika