

СЕЗОННА ДИНАМИКА НА ОБЩИЯ СЕРУМЕН ПРОТЕИН, УРЕЯ И АКТИВНОСТ НА АСПАРТАТ ТРАНСФЕРАЗТА В КРЪВТА ПРИ КРАВИ С ОВАРИАЛНИ ЦИСТИ

ГЕОРГИ БОНЕВ, СТАНИМИР ДИМИТРОВ, СВЕТЛАНА ГЕОРГИЕВА,
*ПЕТКАНА БАДАРОВА, **ВЕСНА К. ХРИСТОВА, ИВАН КАБАДЖОВ
Тракийски университет, Аграрен факултет - Стара Загора

* Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт-ИРЛ,
Стара Загора

** Университет "Св. Климент Охридски"-Битоля, Македония

Овариалните цисти при високопродуктивните млечни крави са важна дисфункция на яйчниците и една от основните причини за безплодието в съвременното млечно говедовъдство (Vanholder et al., 2006). Описани са случаи на овариални цисти при 6 до 19% от изследваните крави (Nanda, 1989). В ранния следродилен период случаите на овариални цисти вероятно са по-чести, но те не се диагностицират, тъй като 60% от кравите, които развиват такива преди първата овулация, спонтанно възстановяват половия си цикъл (Monnoyer, 2003). Етиологията и патогенезата на този проблем все още не са напълно изяснени, като основно се акцентира на ендокринните нарушения в хипоталамо - хипофизната ос. Съществуват данни (Grado-Ahuir et al., 2011), показващи генетична предразположеност на животните. Факторите, провокиращи репродуктивните проблеми при кравите включват нарушение на енергийния баланс в организма, недоимък на β -каротин, високи нива на протеин в дажбата (Westwood et al., 1998, Lean et al., 2012) и влияние на сезона (Nelson, et al., 2010). Те предизвикват метаболитни промени в кръвния серум и съответно във фоликулярната течност (Leroy et al., 2004). Това оказва влияние на растежа и развитието на овариалните фоликули и съответно на появата на цистозна дегенерация в яйчниците.

Целта на изследването беше да се установят сезонните промени в серумните нива на общия протеин, уреята, аспартат трансферазната активност (ASAT) и да се анализира взаимното им действие при крави с овариални цисти.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитни животни. В изследването бяха включени 150 дойни крави от породата Холщайн, внесени от провинция Саксония, Германия на втора и трета лактация, отглеждани свободно боксово в една ферма. Фермата беше избрана за провеждане на анализа поради високото ниво на протеин в дажбата през летните месеци. Средната дневна млечност за изследвания период (между 45 и 165 дни след отелване) бе 28 kg. Всеки месец, в рамките на една календарна година, беше провеждано гинекологично изследване на кравите с репродуктивни проблеми през посочения по-горе период (Nelson, et al., 2010), като бяха регистрирани животните с предполагаема диагноза „овариални цисти”. Тя се потвърждаваше или отхвърляше след допълнително ултразвуково изследване с ултразвуков скенер *CHISON - VET 500*, с 5MHz линейен трансдюсер. В изследването се включваха само крави с потвърдена овариална дисфункция. Някои от кравите, поради продължителността на репродуктивния проблем, попадаха в групата на изследваните два или три

пъти, като при всяко диагностициране отново се получаваше кръв за анализ.

Кръвни проби. Кръвните проби (5 ml) от общо 32 крави бяха получавани във вакутейнери с хепарин (**Mindray-Biomed, Bulgaria**) чрез венепункция на югуларната вена. За определяне серумните нива на общ протеин, уреа и ASAT бяха използвани комерсиални китове на **Giese Diagnostics, Colle Prenestino, Rome, Italy** и **Chema Diagnostica, Italy**.

Статистически анализ. За статистическа обработка на резултатите беше използвана програмата Statistica 8.0, StatSoft inc.

Проведените изследвания отговарят на изискванията на Европейската конвенция за защита на гръбначните животни от 16.05.1986 г. от Страсбург.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

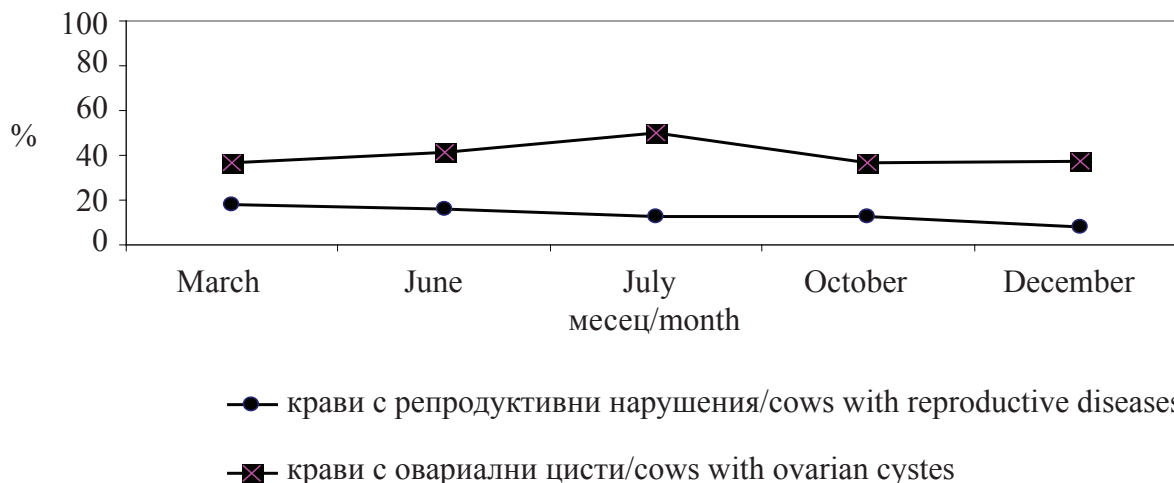
Сезонната проява на всички репродуктивни нарушения при дойните крави в изследваната ферма е отразена на фиг.1. Най-висок дял проблемни животни по месеци (18.3%), бяха регистрирани през месец март, а най-нисък (8.33%) - през декември. Подобни резултати (6-19%) са публикувани от **Nanda** (1989). Беше установен низходящ тренд на общия процент репродуктивна заболяемост от месец март към декември. По отношение само на животните с

овариални цисти от 150 крави във фермата, за изследвания период от една година, беше поставена диагнозата при 32 (21%). На фиг. 1 е представена динамиката на диагностицираните овариални цисти. Математическата крива на случаите с цисти се различава от тази на общата заболяемост. Докато през повечето изследвани месеци делът на цистозната дисфункция се запазва от 35 до 37% от репродуктивните нарушения (разликите са статистически недостоверни), то през месеците юни и юли след повишаване нивото на протеин в дажбата беше установено значително увеличение от 41.57 до 50.0%.

Средните стойности на общия серумен протеин, уреа и активността на ASAT са представени в табл. 1.

Серумни нива на общ протеин (фиг.2). Установените нива варират от 71.8 до 83.87 g/l. Независимо, че са в рамките на референтните стойности (от 65 до 85 g/l) се наблюдават статистически достоверни разлики през различните месеци. Най-значително повишаване беше установено през юни и юли. Подобни стойности са регистрирали при проблемни в репродуктивно отношение крави **Herak et al.**,(2000).

Серумна нива на урея (фиг.3). Нашите изследвания показват значителни колебания в



Фиг. 1. Репродуктивните заболявания при крави
Fig. 1. Reproductive disease in cows

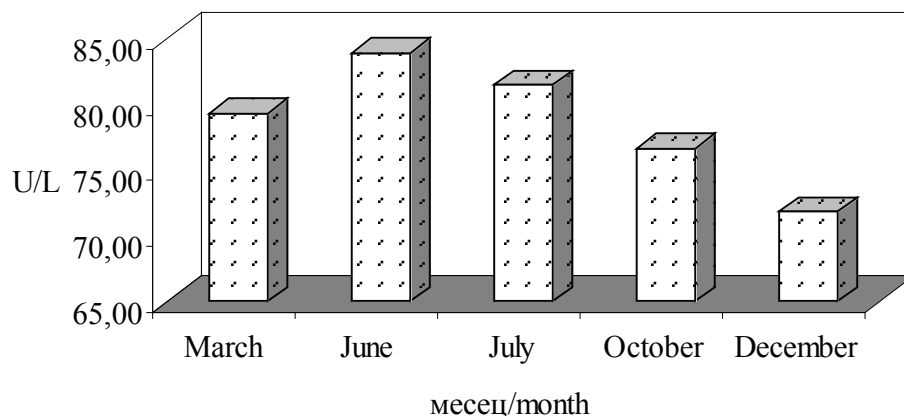
Таблица 1. Сезонна динамика на общ серумен протеин, серумна урея и активност на аспарат аминокотрансфераза в кръвта на крави с овариални цисти (Mean \pm SD).

Table 1. Seasonal dynamics of total serum protein, serum urea and activity of aspartate aminotransferase in blood of cows with ovarian cysts (Mean \pm SD).

Месец Month	Серумен протеин Total serum protein, g/l	Серумна урея Serum urea, Mmol/l	AST, U/l
Март /March	79.26 \pm 5.64 ^a	3.63 \pm 0.75 ^a	92.9 \pm 11.8 ^a
Юни/June	83.87 \pm 2.95 ^{ab}	6.87 \pm 0.84 ^{ab}	135.33 \pm 37.38 ^{ab}
Юли/July	81.46 \pm 6.48 ^c	8.21 \pm 2.0 ^{abc}	125.13 \pm 19.5 ^{ac}
Октомври/October	76.66 \pm 5.48 ^{bc}	4.50 \pm 1.106 ^{abcd}	90.8 \pm 27.72 ^{bcd}
Декември/December	71.8 \pm 10.71 ^{abc}	2.41 \pm 1.02 ^{abcd}	69.5 \pm 16.85 ^{abcd}
Нормални стойности Normal values	65-85	2.0-6.6	50-100

*a, b, c, d, e - еднаквите букви маркират статистически значимите разлики по колони.

*a, b, c, d, e - the same letters marks statistically significant differences between the groups in columns.

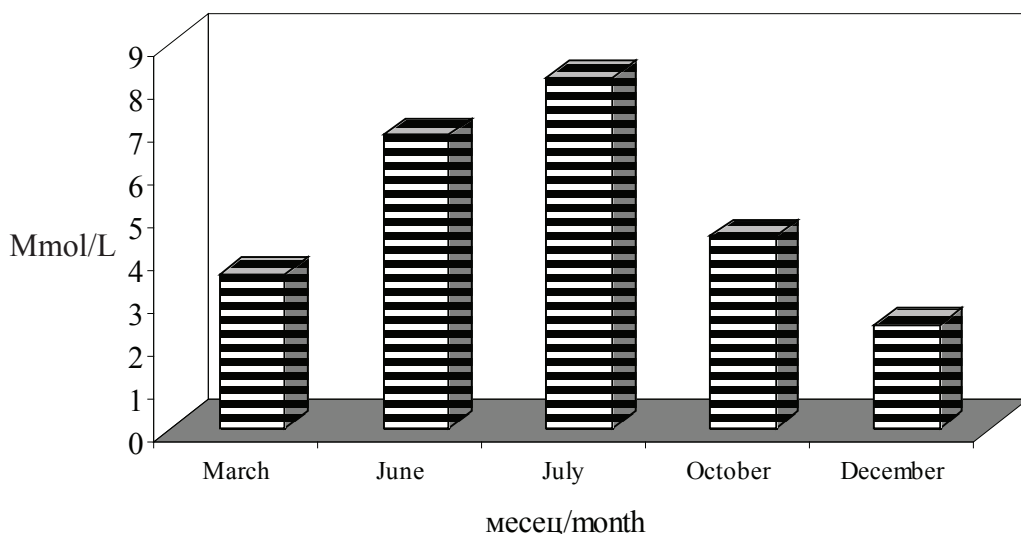


Фиг. 2. Серумни нива на общ протеин
Fig. 2. Serum level of total protein

нивата на серумната урея през изследваните месеци, които закономерно следват нивото на общия серумен протеин. През месеците юни и юли по този показател бяха установени стойности (табл.1), надвишаващи нормата 6.87 и 8.21mmol/l. Разликите с другите изследвани периоди са статистически доказани. Такова уве-

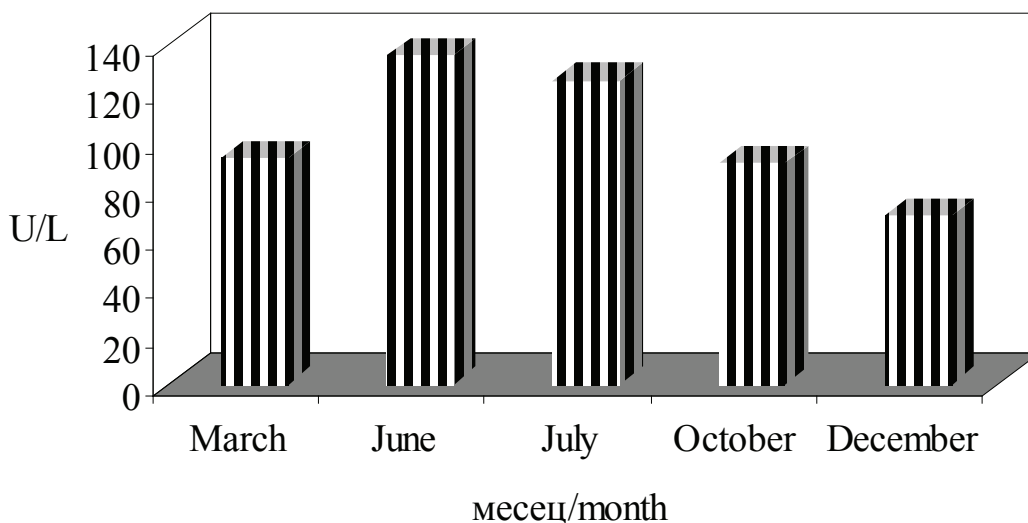
личение над нормалното установяват Herak et al. (2000). Други автори (Westwood et al., 1998) приемат, че увеличаването на уреята не може да се приложи като индикатор за наличие на репродуктивен проблем при кравите.

Активност на ASAT (фиг.4). Аспарат аминокотрансферазата е показател за състоянието на



Фиг. 3. Серумни нива на урея

Fig. 3. Serum levels of urea



Фиг. 4. Серумни нива на ASAT

Fig. 3. Serum levels of ASAT

черния дроб. През месеците юни и юли (табл.1) бяха установени стойности, надвишаващи нормата 135.33 и 125.13u/l. Тези високи нива на активност на ензима са показател за отрицателен енергиен баланс при лактиращите крави (Sangsrivavong et al., 2002). Според същия автор активирането на чернодробното кръвообращение повлиява метаболизма на прогестерона и естрадиола.

След анализ на получените в период от една

година резултати бяха установени значителни промени в метаболитните серумен протеин, урея и ASAT при дойните крави. С повишаване нивото на протеина в дажбата (месец юни и юли) се увеличават кръвносерумните му нива и тези на уреята и ASAT, за които регистрирахме стойности над нормалните. Независимо от това процентът на репродуктивни нарушения не се увеличава, а само този на кравите с цистозна дисфункция. Подобни са резултатите

на **Lean et al.** (2012), които след мета анализ на 21 научни изследвания заключават, че увеличаването на протеина в дажбата не повлиява заплодяемостта при кравите. Сходни са анализите на **Westwood et al.** (1998), доказващи само 25% влияние върху заплодяемостта на по-високите концентрации на урея в млякото. Тези автори обаче не диференцират как влияе високо ниво на протеина върху отделните репродуктивни нарушения. Ние обясняваме повишаването на процента на кравите с цисти на яйчниците, базирайки се на изследванията на **Sangsritavong et al.** (2002) и **Leroy et al.** (2004). Тези автори установяват, че високите стойности на протеин и оттам на урея в серума влияят негативно върху последните етапи в развитието на предовулаторните фоликули като възпрепятстват овулацията. Същевременно се увеличава кръвообръщението и ензимната активност на ASAT в черния дроб и настъпва бързо разграждане на периовулаторния прогестерон и естрадиол, което нарушава секрецията на стероидните хормони. Горното заключение е в съгласие с установените от нас наднормени стойности на урея и ASAT. При повишаване на протеина в серума се включва повече глюкоза в процеса на детоксикация на метаболитните продукти и от това се получава енергиен дефицит, друга причина за липса на овулация и образуване на яйчникови цисти. **Vanholder et al.** (2006) разглеждат няколко нива на влияние върху процеса, формиращ овариалните цисти - първото е нарушението на секрецията GnRH/LH от хипоталамо-хипофизната система поради променени нива на естрогените и прогестерона и второто от негативен енергиен баланс вследствие високите протеинови нива в дажбата, като двете причини са в синергизъм при проява на овариална дисфункция.

ИЗВОДИ

Високите нива на протеин в дажбата на дойни крави са свързани с увеличение на серумните нива на общия протеин, уреята и повишената активност на ASAT. Независимо, че

серумният протеин е в норма, когато е в пикови стойности, серумната урея и ASAT надвишават референтните показатели.

В проведеното изследване не установихме влияние на протеина в дажбата за увеличаване честотата на репродуктивните заболявания, но се наблюдава тенденция с повишаването му да се увеличава процентът на цистите в яйчниците.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Grado-Ahuir, J. A., Aad, P. Y., Spicer, L. J.,** 2011. New insights into the pathogenesis of cystic follicles in cattle: Microarray analysis of gene expression in granulosa cells. *Journal of Animal Science*. Vol. 89, 6: 1769-1786
- 2. Herak, M., Dobranić, T., Herak, M., Stojević, Z., Dureković, I.,** 2000. Changes in concentration of glucose, protein, bilirubin and urea, and activities of aspartate transferase in blood of cows with ovarian cysts. *Veterinarski Arhiv*. Vol. 70. Suppl. 1:101-104
- 3. Lean, I. J., Celi, P., Raadsmaa, H., John McNamara, Rabiee, A. R.,** 2012. Effects of dietary crude protein on fertility: Meta-analysis and meta-regression. *Animal Feed Science and Technology*. 171, pp 31– 42
- 4. Leroy, J. L. M. R., Vanholder, T., Delanghe, J. R., Opsomer, G., Soom, A. Van, Bols, P. E. J A de Kruif,** 2004. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Animal Reproduction Science*. Vol. 80, 3-4:201-211
- 5. Monnoyer, S., Guyonnet J., Can Epa S., Caraty A. and Toutain P. L.,** 2003. Pharmacokinetic/pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen of GnRH for treatment of ovarian follicular cyst and repeat breeding cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapy*, 22(suppl), p147-148.
- 6. Nanda, A. S., Ward W. R. and Dobson,** 1989. Treatment of cystic ovarian disease in cattle- an update, *Veterinary Bulletin*. 59: 537-556
- 7. Nelson, S. T., Martin, A. D., Østerås, O.,** 2010. Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*. Vol. 52, 1, Article number 60.

8. Sangsritavong, S., Combs, D. K., Sartori, R., Armentano, L. E., Wiltbank, M. C., 2002. High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. Vol. 85,11: 2831–2842
9. Vanholder, T., Opsomer, G., De Kruif, A., 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: A review. *Reproduction Nutrition Development*. Vol. 46, 2:105-119
10. Westwood, C. T., Lean I. J., Kellaway, R. C., 1998. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 2. Effect of dietary protein on reproductive performance. *New Zealand Veterinary Journal*. Vol. 46, 4: 123-130

SEASONAL DYNAMICS IN CONCENTRATION OF TOTAL PROTEIN, UREA, AND
ACTIVITIES OF ASPARTATE TRANSFERASE
IN BLOOD OF COWS WITH OVARIAN CYSTS

G. Bonev, S. Dimitrov, S. Georgieva, *P. Badarova, **V. K. Hristova, I. Kabadjov
Thrakia University, Faculty of Agriculture-Stara Zagora

* *National Diagnostic and Research Veterinary Institute, R. T. L-Stara Zagora*

** *University "ST. Kliment Ohridski"- Bitola, Macedonia*

SUMMARY

Higher intake of dietary protein has been negatively associated with metabolic changes in blood serum and reproductive performance in dairy cows. The aims of this study were to establish the incidence of cystic ovarian disease (COD), its seasonal variation and to examine the serum protein (SP), urea (U) and aspartate aminotransferase (AST) in blood serum in cows with (COD). Having spent the last one year monitoring we identified 32 (21%) cases of follicular cysts in one farm. We found higher percentage (COD) (41% and 50%) from all reproductive disorders (RD) during months June and July, although the average RD was with out changes. Average concentration of total proteins during June-July was 83.87 ± 2.95 : 81.46 ± 6.48 g/l, which is within the normal values ranging from 65 to 85 g/l. Serum urea level (6.87 ± 0.84 ; 8.21 ± 2.0 Mmol/l) was increased (normal to 6.6). AST showed an increase (135.33 ± 37.38 : 125.13 ± 19.5 u/l) too. Higher rates of SP, U and AST in lactating cows with (COD) may indicate chronic effects of higher protein intakes as well.

Key words: cow, ovarian cyst, serum total protein, serum urea, aspartate aminotransferase

E-mail: gbonev@uni-sz.bg