



Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

**Egyes anyagforgalmi és szaporodásbiológiai paraméterek összefüggésé-
nek vizsgálata laboratóriumi diagnosztikai módszerekkel
tejtermelő szarvasmarhaállományokban**

Doktori értekezés

Kiss-Tóth Fruzsina

Gödöllő

2009

A doktori iskola

Megnevezése:	Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola
Tudományága:	Mezőgazdaságtudomány
Vezetője:	Dr. Mézes Miklós, tanszékvezető egyetemi tanár az MTA doktora Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék
Témavezető:	Dr. Mézes Miklós, tanszékvezető egyetemi tanár az MTA doktora Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

.....
a programvezető jóváhagyása

.....
a témavezetők jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	8
2. Irodalmi áttekintés.....	11
2.1. Az ellés utáni időszak anyagforgalmi jellemzői.....	11
2.1.1. A nagy tejtermelés biológiai alapjai, és az erre irányuló szelekció endokrinológiai következményei.....	11
2.1.2. A szervezetnek az energiahányos állapot ellensúlyozására irányuló törekvése: a lipídmobilizáció fokozódása és annak következményei.....	13
2.2. A ketonanyagképződés fokozódása és annak klinikai következményei...16	
2.2.1. A laktációhoz társuló ketózis.....	16
2.2.2. A tejhasznú tehén ketózisának kórtani és kóréletteni vonatkozásai.....	17
2.2.2.1. A ketózis szaporodásbiológiai vonatkozásai.....	19
2.3. A táplálóanyag-ellátás és az anyagforgalom zavarait jelző vérparaméterek vizsgálata.....	21
2.4. A petefészekműködés újraindulása az ellés utáni időszakban.....	24
2.4.1. A tüszőnövekedés, az ellés utáni első ovuláció és a petefészek-működés ciklikussá válása	24
2.4.1.1. Az energiahányos állapot hatása a hypothalamus - hypophysis elülső lebeny - ovárium tengely működésére.....	26
2.4.2. A negatív energiamérleg időszaka alatt képződő petesejt minősége.....	28
2.4.3. A sárgatestműködés zavarai a laktáció első hónapjaiban.....	30
2.5. Az újravemhesülést befolyásoló tényezők.....	31
2.5.1. A fogamzás zavara.....	31
2.5.2. A progeszteron ovuláció utáni szintemelkedése és a vemhesülés közötti összefüggés.....	31
2.5.3. Az embrionális- és magzati veszteségek.....	33
2.5.4. A vemhesség korai vizsgálatára és az embrióvesztés detektálására alkalmas eljárások	34
2.6. Az energiahányos állapot okozta fertilitási zavarok mérséklésének lehetőségei.....	36
2.6.1. A zsírkiegészítés alkalmazása.....	36
2.6.1.1. A zsírkiegészítés hatása a petefészek-működésre	36
2.6.1.2. A zsírkiegészítés hatása a vemhesülésre.....	38
3. Anyag és módszer.....	42
3.1. Kísérleti állatok.....	42
3.2. Takarmányvizsgálatok.....	42
3.3. Mintavétel, mintakezelés.....	43
3.4. Biokémiai módszerek.....	44
3.4.1. A táplálóanyag-ellátás zavarait és az antioxidáns kapacitást jellemző vérparaméterek vizsgálata.....	44
3.4.1.1. A kalcium koncentráció meghatározása.....	44
3.4.1.2. A foszfor koncentráció meghatározása.....	44
3.4.1.3. A β -karotin, α -tokoferol és retinol koncentráció mérése.....	44

3.4.1.4. Az összkarotin koncentráció meghatározása.....	45
3.4.1.5. A vérplazma vasredukáló képességének (FRAP) mérése.....	45
3.4.2. A szénhidrát-, fehérje-, és zsíryanycsere zavaraira utaló vérparaméterek vizsgálata.....	46
3.4.2.1. A glükóz koncentráció meghatározása.....	46
3.4.2.2. A fehérje koncentráció meghatározása.....	46
3.4.2.3. A karbamid koncentráció meghatározása.....	46
3.4.2.4. A húgysav koncentráció meghatározása.....	47
3.4.2.5. A triglicerid koncentráció meghatározása.....	47
3.4.2.6. A koleszterin koncentráció meghatározása.....	48
3.4.2.7. A nem észterifikált zsírsav koncentráció meghatározása.....	48
3.4.2.8. A β OH-vajsav koncentráció meghatározása.....	49
3.4.3. A májműködés zavarára utaló enzimek vizsgálata.....	49
3.4.3.1. Tejsav-dehidrogenáz aktivitásának meghatározása.....	49
3.4.3.2. Alanin-aminotranszferáz aktivitásának meghatározása.....	49
3.4.3.3. Aszpartát-aminotranszferáz aktivitásának meghatározása.....	50
3.5. Szerológiai és endokrinológiai vizsgálatok.....	50
3.5.1. Az embrionális és magzati veszteségek diagnosztizálása a korai vemhességvizsgálattal.....	50
3.5.2. A ciklikus petefészek működés vizsgálata.....	52
3.6. Kísérleti elrendezés.....	52
3.7. Statisztikai módszerek.....	58
4. Eredmények és megbeszélésük.....	59
4.1. Felmérő vizsgálatok tejtermelő tehenészetekben a késői embrionális és magzati mortalitás mértékéről.....	59
4.2. Vérminták előkészítésének és tárolás hatása a vérplazma egyes biokémiai paramétereire.....	62
4.2.1. A vérminták előkészítésének és tárolásának hatása egyes metabolikus és táplálóanyagforgalmat jellemző paraméterek plazmakoncentrációjára.....	62
4.2.2. A fagyasztás időtartamának hatása a táplálóanyag-ellátást és a metabolikus állapotot jellemző vérparaméterek mérhetőségére.....	68
4.3. A táplálóanyag-ellátottságra és a metabolikus zavarokra utaló vérparaméterek eltéréseinek vizsgálata vemhes és üres tejelő tehenekben.....	70
4.4. Az antioxidánsokat, élesztőt és omega-3 zsírsavat tartalmazó takarmányfejladag etetésének hatása a tejelő szarvasmarhák energia-háztartására és fertilitására.....	78
5. Következtetések és javaslatok.....	91
6. Új tudományos eredmények.....	95
7. Összefoglalás.....	97
8. Summary.....	101
9. Mellékletek.....	105
M1. Irodalomjegyzék.....	105

M3. Köszönetnyilvánítás.....140

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AcAc acetecetsav

ADF sav detergens rost

ALT alanin amino-transzferáz

AST aszpartát-aminotranszferáz

BCS testkondíció pontszám (body condition score)

BHB β OH-butirát

CK kreatin-kináz

COX ciklooxigenáz enzim

CV variációk koeficiense (coefficients of variation)

DHA dokozahexaénsav

E2 17β -ösztradiol

EDTA etilén-diamin-tetraecetsav

ELISA enzyme-linked immunosorbent assay

EPA eikozapentaénsav

FCM 4% zsírtartalomra korrigált tejtermelés (fat corrected milk)

FRAP a vérplazma vasredukáló képessége (ferric reducing ability of plasma)

FSH follikulus stimuláló hormon

GnRH gonadotropikus elválasztó faktor (gonadotropic releasing hormone)

HDL magas sűrűségű lipoprotein (high density lipoprotein)

HEL hypophysis elülső lebeny

HTH hypothalamus

IGF inzulinszerű növekedési faktor (insulinlike growth factor)

IGFbp-2 IGF-I binding protein-2

LDH laktát-dehidrogenáz

LDL alacsony sűrűségű lipoprotein (low density lipoprotein)

LH luteinizáló hormon

MFE energiafüggő metabolizálható fehérje

MFN nitrogénfüggő metabolizálható fehérje

MT mesterséges termékenyítés

NDF neutrális detergens rost

NEB negatív energia egyensúly (negative energy balance)

NEFA nem-észterifikált zsírsav (non-esterified fatty acid)

NE_l laktációs nettó energia

NRC Nemzeti Kutatási Tanács (National Research Council)

NRR vissza nem ivarzó aránya (non return rate)

OD optikai denzitás

P4 progeszteron

PGF2 α prosztaglandin F2 α

PSPB vemhesség-specifikus b fehérje (pregnancy specific protein-b)

PUFA többszörösen telítetlen zsírsav (polyunsaturated fatty acids)

RDP bendőben lebomló fehérje (rumen degradable protein)

rT3 reverz-3,3',5-trijódtironin

SD standard deviation

ST sárgatest

STH szomatotropin = növekedési hormon (somatotrophic hormone)

T₃ 3,3',5-trijódtironin

T₄ tiroxin

TMR teljes keverék (total mixed ration)

ÜC üres, ciklikus petefészek-működésű

ÜNSA üres, nincs működő sárgatest

ÜV üres, visszaivarzó

V vemhes

VLDL nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (very low density lipoprotein)

1. BEVEZETÉS

A gazdasági állatok nem fertőző eredetű betegségei az iparszerű tartásmód körülményei között világszinten óriási veszteségeket okoznak. E veszteségek közül a legjelentősebb károkat az anyagforgalmi betegségek és az azok következményeként kialakuló szaporodásbiológiai zavarok idézik elő. A gazdasági állatok termelésének növelésére, valamint az iparszerű rendszerek egyes termékeinek leghatékonyabb és nyereséges előállítására irányuló törekvés gyakran vezet a szervezet anyagforgalmának elváltozásaihoz, sőt klinikai tünetekben is megnyilvánuló zavaraihoz, így befolyásolják a termelést, a szaporodást, a termékek biológiai értékét, valamint hajlamosítanak a fertőző és parazitás megbetegedésekre.

A hazai szarvasmarha-tenyésztés az elmúlt néhány évtizedben, mind fajtaösszetételét, mind termelési színvonalát tekintve alapvetően megváltozott. Mint minden olyan országban, ahol a fogyasztói igények növekedésével elvárás volt a nagy mennyiségű tej termelése, megjelent az a fajta, a holstein-fríz, amely ma a világon a leginkább megfelel az ilyen jellegű kihívásoknak. A fajta megjelenése és a korszerűsödő tartási-takarmányozási technológia lehetővé tette, hogy az egy tehenre jutó tejtermelés hazánkban is megközelítse a fejlett szarvasmarha-tenyésztéssel rendelkező országok átlagos termelési szintjét. A termelés növekedése mellett azonban számolnunk kellett azzal, hogy a másodlagos tulajdonságokban visszaesés következik be, így nagy tejtermelésű tehenészetekben szinte állandó problémaként jelentkeznek a szaporodásbiológiai zavarok. A gyenge vemhesülési eredmények részben állat-egészségügyi, illetve takarmányozási, részben ivarzásmegfigyelési problémákra vezethetők vissza. A hazai vizsgálatok (ÓZSVÁRI és KERÉNYI, 2004) a gyenge vemhesülési arányért felelős állat-egészségügyi problémák

közül első helyen az inaktív petefészek gyakori előfordulását, valamint a petefészek nagy számban előforduló cisztás elváltozásait említik, mint a vemhesülést legnagyobb mértékben hátráltató rendellenességeket. A második illetve harmadik helyen a magzatburok-visszatartás és a különböző kóroktanú méhgyulladás szerepel. A szarvasmarha-tenyésztés gazdaságosságát a két ellés közti időtartam alapvetően meghatározza, ami a hazai szarvasmarha-tenyésztésünk egyik legsúlyosabb és hosszú idő óta megoldatlan problémája. A szaporodásbiológiai zavarok okozta éves összes veszteség 54,6%-ért a meghosszabbodott két ellés közötti idő, 31,3%-ért az idő előtti selejtezés, az optimálisnál többen tartott inszeminálás 7,7%-ért, míg a gyógyszerköltségek csupán 6,4%-ért volt felelős. A fent említett mutatók a tejtermelés jövedelmezőségét alapvetően befolyásolják, ezért a tehenészetek nyereségességének egyik fontos feltétele e tényezők optimalizálása (ÓZSVÁRI, 2004).

A szaporaság, a tejtermelés mellett nagyon jó indikátora a takarmányozással összefüggő hiányosságoknak, hiszen a nagy tejtermeléshez jó minőségű és az állat aktuális igényeit a lehető legteljesebb mértékben kielégítő táplálóanyag-tartalmú takarmányok etetésére van szükség. A tehenek nem a szükségletnek megfelelő takarmányozása olyan kóros élettani folyamatokat indíthat el, ami szaporodási zavarokhoz, a petefészek és a méh funkcionális elváltozásaihoz vezethet. A tejelő szarvasmarhák takarmányozása és szaporodásbiológiája közötti összefüggés bonyolult, sokak által vizsgált, de egyúttal vitatott terület. Az azonban egyértelműen kijelenthető, hogy a megfelelő táplálóanyagellátás a korszerű szarvasmarha tartástechnológia elválaszthatatlan része.

A takarmányozási illetve a táplálóanyagellátási helyzet valós felmérése egy-egy telepen a mintavételezés hibái miatt csak nem teljesen korrekt módon lehetséges. Az ebből eredő hibák kiszűrésére lényegesen alkalmasabbak az ún. anyagcsere profil vizsgálatok. Ezek célja, hogy állomány- illetve termelési

csoport szinten felmérje az esetleges metabolikus eltéréseket, zavarokat a vérminták klinikai kémiai analízise alapján. E vizsgálatok során a fiziológiás értékek alapján következtetéseket lehet levonni a táplálóanyagellátás zavaraira.

A metabolikus zavarok takarmányozási háttere ma már jól ismert, ezek közvetlen illetve közvetett hatása a szaporodásbiológiai folyamatokra azonban még nem teljes mértékben feltárt. Annak jelentősége azonban a hazai tejtermelő ágazat jövedelmezőségének növelése érdekében viszont úgy ítélem meg, nem lehet kérdéses.

Kutatásaim céljaul az alábbiakat tűztem ki:

- A vemhesség későbbi szakaszában bekövetkező embrionális- és magzati veszteségek mértékének felmérése üzemi körülmények között.
- Olyan anyagforgalmi folyamatokra illetve ezek zavaraira jellemző vérszérum ill. vérplazma paraméterek kutatása, amelyek statisztikai módszerekkel összefüggésbe hozhatók a korai (30 napos) vemhesség vizsgálatok során nyert adatokkal, illetve a ciklikus petefészek működést jellemző szérum progeszteronszintekkel.
- Vizsgálataim további célja volt annak megállapítása, hogy a szaporodásbiológiai zavarok hátterében milyen kóros élettani folyamatok, illetve takarmányozási problémák állnak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A tejtermelés növekedése világszerte együtt jár a szaporodásbiológiai mutatók folyamatos romlásával (MACMILLAN és mtsai, 1996; BUTLER 1998; MEE és mtsai, 1999; ROYAL és mtsai, 2000). A szaporodási mutatók romlása azonban csak részben magyarázható önmagában a tejtermelés növekedésével (LUCY 2001). Valószínűleg fontosabb ennél a megnövekedett tejtermelés fokozott táplálóanyag-, ezen belül főként energiaszükségletének (O'CALLAGHAN és mtsai, 1999) kielégítetlenségéből származó reprodukciós és egyéb rendellenességek halmozott előfordulása. Az alacsony fertilitást az energia, a fehérje, valamint az ásványi-anyagok és vitaminok hiánya egyaránt előidézheti. A takarmányozással összefüggő okok mellett meg kell említeni a takarmányokban jelen lévő nem kívánatos anyagok (nehézfémek, mikotoxinok) a megengedett mértéknél nagyobb mennyiségét is (MÉZES 2001). Számos korábbi vizsgálat (CANFIELD és BUTLER, 1990; KOLVER és MACMILLAN, 1994) igazolta, hogy egyes metabolitok és a metabolizmust befolyásoló hormonok vizsgálata közvetett módon felhasználható a táplálóanyag-ellátottság és az energetikai egyensúly monitorozására.

2.1. Az ellés utáni időszak anyagforgalmi jellemzői

2.1.1. A nagy tejtermelés biológiai alapjai, és az erre irányuló szelekció endokrinológiai következményei

LOVENDAHL és mtsai (1991) egyértelműen bizonyították azt a már korábban is sokak által vallott feltételezést, miszerint a nagy tejtermelésű Holstein fríz fajtájú szarvasmarhában a tejtermelés növelésére történő szelekció lényegében egyet jelent a növekedési hormont (szomatotrop hormon, STH) kódoló

gén különböző variánsainak a tenyésztői célokra történő kiválogatásával. BAUMAN és munkatársai (1982) különböző genetikai képességű, a laktáció eltérő fázisában lévő és különböző táplálóanyag ellátottsági szintű tehenekben vizsgálták a növekedési hormon élettani szerepét. Többen arra a következtetésre jutottak (BAUMAN és CURRIE, 1980; HART és mtsai, 1980; HART 1983), hogy a hormon feltehetően homeorhetikus módon (órákban vagy napokban mérhető hosszabb távú reguláció) szabályozza az anyagcsere folyamatokat azáltal, hogy a felszívódott táplálóanyagok a tejtermelés érdekében értékesüljenek. Több vizsgálatban igazolták (PEEL és mtsai, 1983; RICHARD és mtsai, 1985), hogy amennyiben az egyébként is magas tejtermelésre képes állatokat szarvasmarha növekedési hormonnal kezelik, akkor az állatok termelése akár 6-35%-kal is megemelkedhet.

Az STH génváltozatok közül a tejtermelés mennyiségi mutatóiért felelős génszakaszként a hormon *AluI* polimorfizmusa - az aminosavlánc 127. pozíciójában leucint, vagy valint kódoló allél - vált ismertté (LUCY és mtsai, 1993). GROCHOWSKA és mtsai (2001) bizonyították, hogy haplo-típusonként jelentősen különbözik STH/inzulinszerű növekedési faktor-I (IGF-I) tengely működése, továbbá ennek következtében az STH:inzulin arány. Ennek alapján, pedig levonható az a következtetés, hogy az egyes genotípusok endokrinológiai, metabolikus és szaporodásbiológiai jellemzőiben számottevő, és nagy gyakorlati fontosságú különbségek tételezhetők föl. Ezáltal molekuláris genetikai és/vagy endokrin diagnosztikai módszerek alkalmazásával információ nyerhető az állat potenciális tejtermelő képességéről, és az ezzel fordított arányban álló várható reprodukciós teljesítményéről (HUSZENICZA és mtsai, 2002).

A tejtermelő képesség növelésére és így az STH/IGF-I tengely működésére irányuló szelekció a reprodukciós mutatók közül leginkább az ellés utáni acikliás periódus hosszát, más szóval befolyásolja az ellés utáni első ovuláció időpontját (DARWASH és mtsai, 1997; LUCY, 2000; WATHES és mtsai,

2001), amelynek örökölhetőségét DARWASH és mtsai (1997) $h^2=0,2$ értékűnek találták. WATHES és mtsai (2001) eredményeinek ismeretében az ellés utáni első ovuláció időpontját befolyásoló tényezők közül a korábban feltételezettnél nagyobb jelentőséget kell tulajdonítani a genetikai tényezőknek. Ez azt is jelentheti, hogy bizonyos egyedek endokrin hátterük alapján az adott takarmányfejadag táplálóanyag tartalmának jobb hasznosításával a genetikailag kódolt nagy tejtermelésük ellenére is képesek lehetnek istállórsaikéinál jobb reprodukciós teljesítmény elérésére.

2.1.2. A szervezetnek az energiahányos állapot ellensúlyozására irányuló törekvése: a lipidmobilizáció fokozódása és annak következményei

A laktáció első heteiben a tejtermelés, és ennek energiaszükséglete gyorsabban nő, mint az állat szárazanyag-felvevő képessége. Bár a tejtermelés csak az ellést követően 4-6 hét alatt eléri maximumát, a tehén energetikai egyensúlya csak később áll helyre (ROBERTS és mtsai, 1981), ezért az ellést követő 8-12 hétig tartó időszakot - részben fiziológiás - negatív energiamérleg jellemzi (negative energy balance, NEB), melynek következtében gyakoribbá válik egyes anyagcsere és reprodukciós rendellenességek előfordulása (BEAM és BUTLER, 1999; BUTLER 2000). Az energiaszükséglet fedezése céljából az állat saját testének energiataralékait mozgósítja, ami elsődlegesen a zsírraktárakat érinti. Az izomzatból energiaforrásként mobilizálható fehérje mennyisége kevés, a szénhidrátartalék - ami a máj glikogén tartalékát jelenti - pedig elhanyagolható, ezért a zsírszövetből fokozott lipidmobilizáció indul meg. Emiatt az ellés előtt a kívánatosnál jobb tápláltsági állapotba került, tehát nagyobb mennyiségű zsírdepókkal rendelkező, tehének vannak a legveszélyeztetettebb helyzetben, az ún. *kövér tehén betegség* kialakulása miatt (MORROW, 1976, 1979; ANDREWS és mtsai, 1991). A fokozott lipidmobilizáció legszembetűnőbb klinikai következménye a testtömeg-vesztés és a

tápláltsági állapot romlása (GARNSWORTHY és TOPPS, 1982), amelyeket a vérplazma jellegzetes klinikai kémiai változásai kísérnek. Ezek közül legkorábban a vércukorszint esetenkénti csökkenése (hypoglycaemia) következik be. A túlzott mértékű zsírmobilizáció következtében a zsírsavak májban zajló metabolizációja nem tökéletes (ANDERSEN és mtsai, 2002; BARB, 1999), ezért a vérben a nem észterifikált zsírsavak (NEFA) mennyiségének gyors növekedése figyelhető meg (KANEENE és mtsai, 1997), amelyet gyakran a ketonanyagok (β OH-vajsav [BHB], acetecetsav [AcAc], illetve aceton) szérumkoncentrációjának emelkedése (hiperketonémia) követ. A szárazanyagfelvevő képesség az ellés után általában nem kielégítő, különösen igaz ez a kívánatosnál jobb kondícióban (body condition score, $BCS \geq 3,75$) ellő tehenekre (RUKKWAMSUK és mtsai, 1999a), ezért ezek fokozottabban érzékenyek a hiperketonémia kialakulására (SMITH és mtsai, 1997). Hiperketonémia esetén a ketonanyagok a vizeletben, illetve a tejben is megjelennek (ketonuria, ketolakcia). Ezzel egy időben trigliceridek halmozódnak fel a májsejtekben, ami az ún. *zsírmáj szindróma* kialakulásához vezet (HIGGINS és ANDERSON, 1983; REID és ROBERTS, 1983). A májsejtek zsíros infiltrációjának mértéke az ellés utáni első 10-14 napban a legkifejezettebb, ezt követően a máj lipidtartalma folyamatos csökkenést mutat (WEST, 1990). A zsírmáj szindróma következtében a májsejt funkcióban bekövetkező legfontosabb rendellenesség az ammónia-detoxikáció – karbamid szintézis - romlása, a glükogenezis csökkenése, a koleszterin, az epesavak és a bilirubin anyagcseréjének a károsodása, továbbá egyes szteroid hormonok és az inzulin inaktiválásának a zavara (STRANG és mtsai, 1988). Ezekkel egy időben csökken az albumin, illetve bizonyos szállítófehérjék májbeli szintézise, továbbá zavart szenved a D₃ vitamin hidroxilálódása is. Jelentősen lassul a máj detoxikáló kapacitását jelző brómszulfalein kiválasztása is. A perifériás vérben egyidejűleg hipoalbuminaemiát, illetve az egyes lipoprotein frakciók

szintjének jelentős csökkenését lehetett megfigyelni. Ez a csökkenés főként a nagyon alacsony (very low density lipoprotein, VLDL) és az alacsony sűrűségű (low density lipoprotein, LDL) lipoproteinekre terjed ki, de kisebb mértékben érinti a magas sűrűségű (high density lipoprotein, HDL) tartományt is (GAÁL és mtsai, 1983). Ennek következményeként a vérplazmában csökken számos, lipoproteinek által szállított biológiailag aktív vegyület (pl. koleszterin, trigliceridek, β -karotin, α -tokoferol) koncentrációja (HARASZTI és mtsai, 1984). Bár a májsejtek zsíros infiltrációja csak súlyos esetben jár jelentősebb mértékű sejtmembrán-károsodással, ennek ellenére a szérumban többé-kevésbé fokozódhat egyes hepatocelluláris enzimek, elsősorban az aszpartát-aminotranszferáz (AST) és a laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitása (TOP és mtsai, 1996), amelyek mellett zavart szenvedhetnek egyes hepatocelluláris méregtelenítő folyamatok is (GERLOFF és mtsai, 1986). Számottevően csökkenhet a bendőből a keringésbe jutó ammónia, illetve az endotoxinok májbéli detoxifikálása. Az ellést követő napokban vagy hetekben, a szarvasmarhában jelentősebb mennyiségű endotoxin szabadulhat fel a Gram-negatív kórokozók által előidézett tőgygyulladás előfordulásakor, illetve szívódhat föl egyes esetekben a csökkent motilitású gasztrointesztinális traktusból, vagy akut putrid endometritis esetében a méhből. Az immunrendszer károsodása szintén gyakori következmény, ami hajlamossá teszi az érintett egyedeket a méh-involúció bakteriális komplikációira. A fokozott lipidmobilizáció emellett hajlamosít a magzatburok-visszatartásra, az ellési bénulás különböző kórformáira, továbbá az oltógyomor helyzetváltozására (CHILLIARD és mtsai, 1998; CURTIS és mtsai, 1985; FRONK és mtsai, 1980; MASSEY és mtsai, 1993).

2.2. A ketonanyagképződés fokozódása és annak klinikai következményei

Az ellést követő energiahiányos állapot dekompenzálódásával, a ketonanyagképződés fokozódásával járó kórképek közül tejelő tehenekben a ketózisnak van a legnagyobb klinikai és gazdasági jelentősége (HUSZENICZA és mtsai, 2003d). Jelen ismereteink szerint (BRUSS, 1997) emlős gazdasági állatfajokban a hiperketonémiával járó állapotoknak etiológiai alapon az alábbi négy formáját különíthetjük el: éhezési, cukorbetegség részjelenségeként fellépő, a vemhességhez és/vagy a laktációhoz társuló, és a fokozott fizikai megterhelés nyomán jelentkező.

2.2.1. A laktációhoz társuló ketózis

A laktációhoz társuló ketózis kóroktanának és kórfejlődésének kulcseleme a tejtermelés nagyfokú glükóz szükséglete. Kérődző fajokban az anya által megtermelt tej mennyiségének egyik meghatározó és állandó mennyiségű anyaga a laktóz. A tejcukor tögybeli szintézisének szinte kizárólagos előanyaga a vérplazma glükóz tartalma (BERGMAN, 1990), ezért a nagy termelésű tehenek naponta jelentős mennyiségű glükózt használnak fel. Szarvasmarhában, egyéb szervekben bizonyos határokon belül glükózhelyettesítő anyagként szolgálhat a NEFA is (STAPLES és mtsai, 1998). Kérődzőkben a glükóz szinte kizárólagos forrása a máj, ahol a glükoneogenezis során annak előanyagaiból *de novo* szintetizálódik, illetve a glikogén bontásából, a glükogenolízis által képződik (BERGMAN, 1990; BRUSS, 1997). Amennyiben a májban képződő, illetve a tejcukor szintézisére naponként felhasznált glükóz mennyisége között jelentősebb aránytalanság lép fel, az hipoglicaemiához, a vércukorszint csökkenése pedig, a ketonanyagok fokozott képződéséhez vezethet. BAIRD (1982) ún. "hipoglicaemia elmélete" szerint, tehát a laktációs

ketózist lényegében az éhezési ketózis azon esete, amelyben a ketogenezis felgyorsulásához vezető hipoglicaemia elsődleges kiváltója nem az éhezés okozta ellátási zavar, hanem a magas tejtermelés, vagyis a megnövekedett tej-cukor-szintézis okozta fokozott glükózfelhasználás.

2.2.2. A tejhasznú tehén ketózisának kórtani és kórélettani vonatkozásai

KRONFELD (1980) máig érvényes megállapítása szerint a nagy tejhozamú tehenek ketózisa az éhezési, illetve laktációs ketózis sajátosságaival jellemezhető, ami az esetek jelentős részében spontán gyógyulással végződő anyagforgalmi megbetegedés. A kórélettanilag a NEB dekompenzált állapotának tekinthető, ami hipoglikémiával, hiperketonémiával, ketonuriával, ketolactiával, hipoinzulinémia, emelkedett NEFA és glukagon szintekkel jellemezhető. A kórképet klinikailag az étvágytalanság, bágyadtság, ritkán izgatottság megjelenése, továbbá a tejtermelés csökkenése kíséri. A máj zsírral infiltrálódik, ami az esetek egy részében patológias mértékű is lehet. Az állapotot súlyos metabolikus acidózis rendszerint nem kíséri (BERGMAN, 1990; BRUSS, 1997).

Másik fontos tényező lehet, hogy a bendő-mikroorganizmusok a szárazonállás idején alkalmazott rostban dús takarmányozás után – amennyiben az ellést megelőzően nem megfelelő hosszúságú előkészítő szakaszt (minimálisan két hét) iktatnak be - a laktáció kezdetén nem képes feldolgozni a hirtelen megnövekvő mennyiségű, abraktakarmányokkal bevitt keményítőből keletkező tejsavat és emiatt enyhébb vagy súlyosabb bendőacidózis alakul ki, ami csökkenti a szárazanyagfelvételt (GOFF és HORST, 1997). Tovább csökkenthetik a szárazanyagfelvételt az ellés körüli napokban gyakran előforduló - az etetett takarmányadag nem megfelelő kalcium/foszfor arányából következő - hipocalcaemiás kórképek is (GOFF és HORST, 1997). Amennyiben a fejadagban túlzottan nagy a bendőben könnyen lebomló fehérjék (RDP) mennyisége, a

keletkező többlet ammónia májbeli detoxikálása további jelentős energiaigényt jelent (BUTLER, 1998; BUTLER és mtsai, 1996), fokozva ezzel a hiperketonémia, illetve a szubklinikai, klinikai ketózis kialakulásának a valószínűségét (HIBBIT és mtsai, 1969). A folyamatot súlyosbíthatja, ha egyéb megbetegedés, mastitis és/vagy metritis miatt csökken a napi szárazanyagfelvétel mértéke, ami ún. másodlagos ketózis kialakulásához vezet. Hasonlóan kedvezőtlen hatású lehet a takarmányozási ketózis, ami nagyobb mennyiségű romlott, vajsavas erjedésű szilázs etetése esetén alakulhat ki (ADLER és mtsai, 1958). Ennek hátterében a bendőfal hámsejtjeinek azon képessége áll, hogy a felvett vajsavat keton-anyagokká alakítják, ezzel növelve a szervezet ketonanyag terhelését.

A ketózis kiváltásában nehezen megítélhető tényező a jelentősebb mennyiségű endotoxin fölszabadulásával járó megbetegedések – akut putrid endometritis, mastitis – szerepe. Az endotoxin-mediált kórképek jellemző endokrinológiai kísérőjelenségei ugyanis önmagukban is katabolikus irányba fordítják az anyagcserét (JÁNOSI és mtsai, 1998), amivel egyébként is elősegítik a ketogenezist. Ugyanakkor, ha átmenetileg is, de jelentős mértékben csökkentik a napi tejtermelést (HUSZENICZA és mtsai, 1998), és ezzel együtt a tőgy glükózfelvételét. Napjainkban a hiperketonaemiát a puerperium idején előforduló mastitis és endometritis egyik legfontosabb hajlamosító tényezőjeként tartják számon (GOFF és HORST, 1997; SORDILLO és mtsai, 1997; SURIASATHAPORN és mtsai, 2000): ugyanis a ketózisra utaló biokémiai elváltozások (hiperketonémia, ketonuria) sokszor előbb észlelhetők, mint a mastitis, endometritis első klinikai tünetei (KÉGL, 1990; KÉGL és GAÁL, 1992; MARKUSFELD, 1985). A NEB dekompenzálttá válásának következményeként tehát megnő a vér, a vizelet és a tej BHB, AcAc és aceton koncentrációja, kifejlődik a ketózis szubklinikai, majd klinikai formája.

2.2.2.1. *A ketózis szaporodásbiológiai vonatkozásai*

Számos közlemény született a hiperketonaemiás tehenekben halmozottan előforduló újravemhesülés zavarairól (ANDERSSON és mtsai, 1991; CURTIS és mtsai, 1985; FOURICHON és mtsai, 2000; HARASZTI és mtsai, 1985; KÉGL, 1990; KÉGL és GAÁL, 1992; MARKUSFELD, 1985).

A méh involúciójának a bakteriális eredetű szövődményei, illetve a mastitis ketózis esetén megfigyelt halmozódásában meghatározó jelentőséggel bír a két szerv saját antimikrobiális védekező rendszereinek (a macrophag, neutrophil granulocyta és lymphocyta populációk) funkcionális károsodása (BURVENICH és mtsai, 1994; CAI és mtsai, 1994; GOFF és HORST, 1997; KEHRLI és mtsai, 1989; PAAPE és mtsai, 1995; SORDILLO és mtsai, 1997). Számos vizsgálatban bizonyítást nyert, hogy a lymphocyta (NONNECK és mtsai, 1992) és a neutrophil granulocyta funkciók hiperketonémia (KLUCINSKI és mtsai, 1988a,b; SARTORELLI és mtsai, 1999; 2000) és/vagy a máj jelentősebb fokú elzsírosodása (ZERBE és mtsai, 2000) esetén súlyosabban károsodnak.

Amennyiben a hiperketonémia, mint hajlamosító tényező hatására kialakulnak az involúció bakteriális eredetű szövődményei az állat a méhelváltozások gyógyultáig, nem kerül termékenyítésre, vagy esetleg meddőség miatt idő előtt selejtezik. A lefolyásra jellemző, hogy általában az első 10-14 napon akut putrid endometritis, majd a későbbiekben, az előbbiek következményeként félheveny vagy idült, hurutos-gennyes, vagy gennyes endometritis alakul ki. Amennyiben egyidejűleg hiperketonémia, illetve ketonuria fordul elő, akkor az involúciós szövődmények gyógykezelésének hatékonysága elmarad az egyébként szokásostól (KÉGL, 1990; KÉGL és GAÁL, 1992; MARKUSFELD, 1985). Többen igazolták az elléstől az első tüszőrepedésig eltelt idő meghosszabbodását (HUSZENICZA és mtsai, 1988; REIST és mtsai, 2000;

RUKKWAMSUK és mtsai, 1999) és anovulációs ciszták halmozott előfordulását (ANDERSSON és mtsai, 1991).

HARASZTI és mtsai. (1985) már a korábban megkísérelték elkülönítetten vizsgálni a NEB kompenzált - azaz csak NEFA szintemelkedéssel és a máj mérsékelt fokú elzsírosodásával járó - és dekompenzált - azaz az előbbieken kívül hiperketonémia jeleit is mutató - formáinak ovariális következményeit. Vizsgálataik során azonban a rendelkezésre álló alacsony állatlétszám és az akkori módszertani nehézségek miatt nem sikerült megnyugtatóan tisztázniuk, hogy van-e különbség e két csoport között az első ovuláció időpontjában és az egyes ovariális rendellenességek előfordulásának a gyakoriságában, valamint a már ciklikussá vált petefészek-működés esetén, pedig az ivarzási tünetek manifesztációjában. Feltételezhetően a petefészek-működés gyógyszeres befolyásolására használt kezelési módszerek hatékonyságát is kedvezőtlenül befolyásolhatja az egyidejűleg fennálló hiperketonémia.

A NEB endokrinológiai és metabolikus következményeinek a tüssző, valamint az abból nyert oocyta minőségére gyakorolt hatását ismerve (KRUIP és mtsai, 1999; WENSING és mtsai, 1997) meglepő, hogy néhány vizsgálatban (GOMEZ, 1997; GOMEZ és DIAZ, 1998) az *in vitro* fertilizációval nyert, és 10 napon keresztül mesterséges körülmények között tenyésztett embriók ketonanyagokat tartalmazó tápfolyadékban az AcAc-t és a BHB-t, mint energiaforrást, hasznosítva zavartalan fejlődésre voltak képesek.

A vizsgálatokból származó gyakorta ellentétes eredmények is alátámasztják, hogy a tejtermelés, az energiaellátottság és szaporodóképesség bonyolult, sokszoros összefüggésrendszert alkotnak és a jövőben is számos nagy kihívással fog még szolgálni a kérdéskörrel foglalkozó kutatók számára (HUSZENICZA és mtsai, 2003c).

2.3. A táplálóanyag-ellátás és az anyagforgalom zavarait jelző vérparaméterek vizsgálata

Számos korábbi vizsgálat (CANFIELD és BUTLER, 1990; KOLVER és MACMILLAN, 1994) igazolta, hogy egyes metabolitok és a metabolizmust befolyásoló hormonok vizsgálata közvetett módon felhasználható a táplálóanyag-ellátottság és az energetikai egyensúly monitorozására. A vérszérum és plazma klinikai kémiai vizsgálata során a fiziológiás értékek alapján (Gaál, 1999) következtetéseket tudunk levonni a táplálóanyag-ellátás zavaraira. Az ásványi anyagok közül a vemhesség, a szaporodásbiológiai folyamatok, illetve tejtermelés szempontjából kiemelten fontos a kalcium és foszfor szint illetve ezek arányainak mérése (KANEKO, 1997). A kalcium fontos szerepet játszik a méh ellés utáni involúciójában és a petefészkek ellés utáni működésében. Az alacsony foszforfelvétel (<0,2% a takarmány szá.) kapcsolatban lehet a gyenge vemhesülési aránnyal és a petefészkek diszfunkciójával. (ATHERTON, 1994). A vérplazmában a szervetlen foszfort határozzuk meg, ami az ellést követően fiziológiásan lecsökken. Alacsony a foszforkoncentráció hemoglobinuria, csontlágylás esetén. Megnövekszik a vérplazma szervetlen foszforszintje növekvő foszforbevitel, metabolikus acidózis, csontszövet demineralizáció és D-vitamin hiányakor is. Foszforhiányos takarmányozás esetén azonban, ha azzal egyidejűleg metabolikus acidózis is fennáll, a vérplazma foszforszintje nem csökken, hanem éppen ellenkezőleg megnövekszik. A foszfor, főképpen pedig annak a kalciumhoz viszonyított aránya, szoros összefüggésben van a termékenységgel. Tejtermelő tehenek vérplazmájának Ca-szintje fiziológiásan csökken az ellést követő első napokban. A vérplazma alacsony Ca-koncentrációja utalhat többek közt, ellési bénulásra, angolkórra, metabolikus acidózisra, alkalózisra és ketózisra is. A normálér-

téknél magasabb (2,25-3 mmol/l) koncentráció mellékpajzsmirigy fokozottabb működésekor fordulhat elő (DOUBEK és mtsai, 1985).

A szervezetben lejátszódó anyagcserefolyamatok a metabolikus paraméterek meghatározásával nyomon követhetők. Ezen belül egyes paraméterek, így pl. az összfehérje és a karbamid, a fehérjeellátás zavarára (O'DOHERTY és CROSBY, 1998), az albumin a májműködés zavarára, a globulin a szervezetben zajló gyulladásos folyamatokra, a glükóz illetve a karbamid a bendő energia- (ANDERSON és LUNDSTROM, 1985) illetve a szervezet szénhidrát ellátásának (ROSENBERGER, 1977) zavarára utal. Közismert jelenség az ellést követő időszakban a tejtermelés növekvő energiaigénye miatt kialakuló energiahiányos állapot, melynek ellensúlyozására a teheneekben fokozott zsírmobilizáció indul meg. A zsírmobilizáció hatására legkorábban a nem észterifikált zsírsavak mennyiségének gyors növekedése figyelhető meg, amelyeket a ketonanyagok (β OH-vajsav-BHB, acetecetsav-AcAC, és aceton) szérumkoncentrációjának emelkedése követ. Az állatok energiaellátottságának és metabolikus státuszának vizsgálatára ezért a vérplazma nem észterifikált zsírsavainak és ketonanyagainak meghatározása a legalkalmasabb. A kialakuló anyagcserezavarok úgy, mint a zsírmáj szindróma vizsgálatára alkalmas a vérplazma karbamid, glükóz, koleszterin, triglicerid, bilirubin koncentrációjának meghatározása, hiszen a májsejt funkcióban bekövetkező legfontosabb rendellenesség a karbamid szintézis romlása, a glükogenezis csökkenése, a koleszterin, az epesavak és a bilirubin anyagcseréjének a károsodása (STRANG és mtsai, 1988). A máj fehérjeszintézisének károsodása az albumin és más májban szintetizálódó szállítófehérjék csökkenését eredményezi, aminek következményeként a vérplazmában csökken a koleszterin, trigliceridek, β -karotin és α -tokoferol koncentrációja (HARASZTI és mtsai, 1984).

A nitrogénanyagcsere zavarainak kórjelzésére legértékesebb adatot a vérplazma összfehérje-, albumin- és karbamidszintjének meghatározása nyújt. A vér-

plazma összfehérje-tartalma csökken a takarmány emészthető nitrogéntartalmú anyagainak hiánya, az előgyomrokban nem kielégítő mikrobiális fehérjeszintézis, a gyomoremésztés zavara vagy májparenchyma károsodás esetén. A vérplazma karbamid szintje a nitrogén felvételének és anyagcseréjének igen jó mutatója. Kitűnően tájékoztat a vesék kiválasztó- és a máj szintetizáló képességéről. Értéke kisebb a takarmány nitrogéntartalmú anyagainak elégtelensége és a máj parenchyma súlyos sérülése esetén. Értéke magas nitrogéntületetés, intenzív lesoványodás, vesék gyulladása, valamint nem kielégítő vérellátottsága és dehidratáció során (JAGOŠ ÉS ILLEK, 1985).

A kérődzők vérplazmájának glükózsintje szembetűnően alacsonyabb (3-3,9 mmol/l), mint a monogasztrikus állatoknak. Hyperglycaemia esetén, ha a plazma glükózsintje meghaladja a veseküszöböt (4,9-6,1 mmol/l), a glükóz a vizeletbe jut. A hypoglycaemiára a kérődzők hajlamosak az előgyomor-emésztés és az intenzív tejtermelés magas energiáiéne miatt. A kórkép fokozatosan alakul ki, a szervezet előbb a szénhidrátartalékokat éli fel, ami a máj (ketózis), izomzat és a myometrium működését gátolja. Egyidejűleg zavart szenved a zsírok és fehérjék átalakulása (SCHÄFER, 1985).

Egyes enzimek aktivitása a vérplazmában, illetve a vérszérumban szintén jelentős diagnosztikai értékkel bír (KANEKO, 1997). Fiziológias viszonyok között bizonyos enzimek aktivitása kicsi, egyes szervek – kiemelten a máj működésének - zavaraiakor a sejtmembrán permeabilitásának megváltozása vagy az érintett szerv sejteinek nekrozisa után az intracelluláris enzimek a véráramba jutnak, és aktivitásuk a vérplazmában a többszörösére nő. Az AST-aktivitás csak a máj megbetegedésére specifikus, de aktivitása myopathiák esetén is megnő. Az enzimek aktivitása azonban csak 1-2 napig tart, utána az aktivitás gyorsan csökken.

Az A- és E-vitamin fertilitásra, az általános egészségi állapotra és a szervezet antioxidáns rendszerére gyakorolt pozitív hatását számos vizsgálatban igazolták (MICHAL és mtsai, 1994; RAJIV és HARJIT, 2004; WEISS és mtsai,

1990). A β -karotin szarvasmarhában, az A provitaminhatás mellett önállóan is segíti a tejelő szarvasmarha egyes szaporodásbiológiai funkcióit, elsősorban a sárgatest kialakulását és fennmaradását (LOTTHAMMER, 1981) a vemhesség kezdeti szakaszában (ARÉCHIGA és mtsai, 1998). A vérplazma karotin tartalmának szintje szaporodásbiológiai zavarok esetleges oki tényezője lehet, illetve abból A-vitamin hiányra lehet következtetni (KRINSKY, 1993).

2.4. A petefészekműködés újraindulása az ellés utáni időszakban

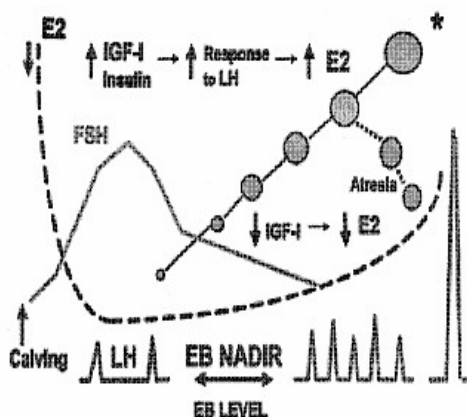
2.4.1. A tüszőnövekedés, az ellés utáni első ovuláció és a petefészekműködés ciklikussá válása

Fajtától és hasznosítási iránytól függetlenül szinte minden tehénben a follikulus stimuláló hormon (FSH) elválasztás már 4-6 nappal az ellés után normalizálódik (CROWE és mtsai, 1998; MURPHY és mtsai 1990). Ekkorra tehető az ellés utáni első FSH-hullám megjelenése, amelyet az első tüszőnövekedési hullám megindulása követ. Eddigi vizsgálatok alapján (BEAM és BUTLER, 1997; 1999) úgy tűnik, hogy a frissen ellett tehenekben az első FSH hullám megjelenését, illetve a hullámszerű tüszőnövekedés kezdetét általában nem elsősorban takarmányozási tényezők befolyásolják. Az első FSH hullám bekövetkezésének időpontját a vemhesség vége és az ellés körüli napokra - órákra jellemző β -endorphin szintemelkedés megszűnte váltja ki (OSAWA és mtsai, 1998). Ezt követően az egyes FSH hullámok periodikusan, körülbelül 7-10 napos időközökkel követik egymást (LAMMING és mtsai, 1981), melyeket egy-egy tüszőnövekedési hullám követ, így az újabb domináns follikulusok kiválasztódására is 7-10 naponként kerül sor (RAJAMAHENDRAN és TAYLOR, 1990; ROCHE és mtsai, 1992; WILTBANK és mtsai, 2002; SAVIO és mtsai, 1990). Mai ismereteink szerint csak kivételesen súlyos fokú energiahányos takarmányozás esetén fordulhat elő, hogy az ellés utáni hetek-

ben a tüszőnövekedési hullámok kialakulásának mechanizmusa zavart szenved (RUIZ-CORTES és OLIVERA-ANGEL, 1999). A domináns follikulusok kiválasztódása, és a végső tüszőérés viszont már sokkal inkább érzékeny az akár mérsékelten energiahányos állapotra is. LUCY és mtsai (1991) vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy azokban az állatokban, amelyeknek az energetikai státusza csaknem egyensúlyi helyzetet tükrözött, az ellést követő 25 napon belül a harmadlagos tüszők közül a legnagyobb méretűek (10-15 mm) száma megnövekedett, nem változott azonban a kis (3-5mm) és a közepes (6-9 mm) nagyságúaké. Ezt a megfigyelést támasztják alá GWAZDAUSKAS és mtsai (2000) tapasztalatai, miszerint az energetikai egyensúly helyreállása után megnőtt a domináns follikulusok kiválasztódásának és végső érésének a valószínűsége és javult a belőlük nyert oocyták minősége. A domináns follikulusok végső tüszőérésre való esélye tejhasznú tehenekben tehát elsősorban energetikai egyensúlyuktól függ.

A tüszőfejlődés végső szakasza három formában mehet végbe (BEAM és BUTLER, 1997; 1998; 1999; RAJAMAHENDRAN és TAYLOR, 1990; SAVIO és mtsai, 1990; WILTBANK és mtsai, 2002): 1. *ovulációban végződő tüszőérés*, 2. *atrézia*, amelyet a következő tüszőnövekedési hullámból újabb domináns follikulus kialakulása követ (1. ábra) vagy 3. *anovulációs ciszta* kialakulása. Ovulációval záródó esetben az első hullámból származó domináns follikulus ovulációja után kialakul az első, progeszteron (P4) termelésére képes sárgatest (ST) és a petefészek működése ciklikussá válik. Az ellést követő (postpartum) időszakban a domináns follikulusok atréziája, illetve az anovulációs ciszták kialakulása számos egymást követő tüszőnövekedési hullám során sokszor ismétlődhet. A postpartum aciklia jelentősen meghosszabbíthatja az elléstől az első ovulációig terjedő intervallumot. Ideális esetben, ha az első tüszőnövekedési hullámot követően az ovuláció bekövetkezik, akkor ennek ideje a 14-18. napra tehető. Ha az első tüszőnövekedési hullámból

származó domináns follikulus atretizálódik, a következő hullámból származó tüsző csak 6-7 nap múlva válik potenciálisan alkalmassá az ovulációra.



1. **ábra:** Az ellés utáni negatív energiamérleg alatti első tüszőnövekedési hullám sematikus modellje. A domináns follikulus fejlődése és az endokrin, valamint a metabolikus hormonok koncentrációjának változása.

Forrás: BEAM és BUTLER, 1999.

A '80-as évek eleje óta elfogadott tény, hogy a laktáció korai heteiben az energiaellátás egyensúlya az egyik legfontosabb tényező az acikliás periódus hosszának kialakításában. A tejhasznú tehenekben az első postpartum ovuláció időpontja a NEB mélypontját követő 10. napra tehető (BUTLER és SMITH, 1989; BUTLER és mtsai, 1981; ZUREK és mtsai, 1995; HUSZENICZA és mtsai, 1988). A viszonylag nagy számban elvégzett vizsgálat és az azok eredményei alapján megjelent szakirodalom ellenére a kérdéskör számos vonatkozása máig is tisztázatlan.

2.4.1.1. Az energiahányos állapot hatása a hypothalamus - hypophysis elülső lebeny - ovárium tengely működésére

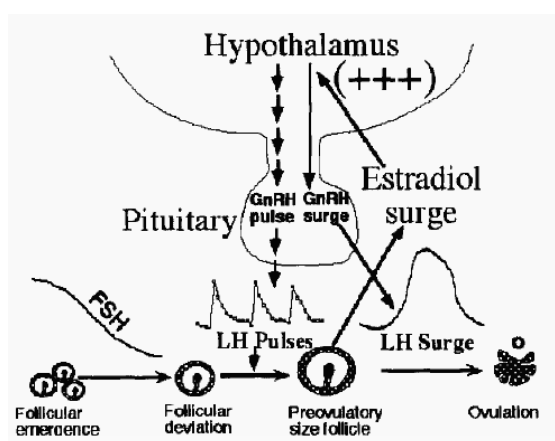
MOSS és mtsai vizsgálatai szerint (1985) a postpartum időszakban a korlátozott energiabevitel nem módosította a hypophysis elülső lebenyében (HEL) a gonadotrop releasing hormon (GnRH) receptorok sűrűségét. Az energiafelvé-

tel korlátozást pedig egyaránt követheti az exogén GnRH-val szembeni érzékenység csökkenése (RUTTER és RANDEL, 1984) vagy növekedése (WHISNANT és mtsai, 1985) is. Az ismert összefüggés szerint, a hosszabb időn keresztül tartó elégtelen energiaellátás – így az ellés után 8-12 héten át főnnálló NEB is – a pulzáló jellegű LH-alapszekréciónak elégtelenségét eredményezi, ami az LH-impulzusoknak az időegység alatti hullámszám-csökkenésében nyilvánul meg (CANFIELD és BUTLER, 1991; LAMMING és mtsai, 1981; PERRY és mtsai, 1991; SAVIO és mtsai, 1990). Napjainkban már széles körben elfogadott, hogy a pulzáló jellegű LH alapszekréciónak felfüggesztésévé válása a legfontosabb szabályozó mechanizmus, amely a domináns folliculust képessé teszi a preovulációs tüszővé alakulást jelentő végső tüszőérésre, majd az ovulációra (BEAM és BUTLER, 1999). Az életkori LH alapszekréciónal szemben - amikor két LH hullám között csak kb. 45-65 perc telik el - a NEB mélypontja előtt a két LH hullám között akár 120-240 perc is eltelhet. A kívánatosnál alacsonyabb szintű energiaellátás, illetve a még fokozatosan mélyülő NEB elsősorban a hypothalamusra (HTH) fejt ki a hatását, megakadályozva, hogy az időegység alatti GnRH-, illetve az ezeket követő LH-impulzusok száma az ellés után rövid időn belül elérje a végső tüszőérést kiváltó szintet. Az ilyen esetben jellemző 2-4 óránkénti LH impulzusok nem elegendőek a domináns folliculus megfelelő szintű szteroid termeléséhez, illetve a végső tüszőérésnek a kiváltására, vagyis a tüsző atretizálódik, miközben FSH hatására újabb tüszőnövekedési hullám veszi kezdetét (BEAM és BUTLER, 1997; 1998; 1999; ROCHE és mtsai, 1992, SCHILLO, 1992).

Az intenzív E2-termelésre képes preovulációs tüsző kialakulása csupán az egyik előfeltétele az első ovulációnak, illetve a petefészkek-működés ezt követő ciklikussá válásának. A második előfeltétel, hogy a HTH, illetve a HEL alkalmassá váljon az E2-re az ún. preovulációs jellegű – 6-8 órás tartamú, az alapszekréciónak impulzuszerű hullámainak amplitúdójában 10-100 x meghaladó

Irodalmi áttekintés

– GnRH/LH válasz adására (WILTBANK és mtsai, 2002). Ahogy az a 2. ábrán látható, amennyiben a preovulációs tüsző által termelt E2 a HTH-nak a harmadik agykamra oldalsó falát alkotó magvak neuronjaiban (a HTH ún. surge centerében) nagy mennyiségű GnRH lökészerű leadását indukálja, kialakul az első preovulációs jellegű LH csúcs, amelynek nyomán megtörténik az első ovuláció. Úgy tűnik, hogy a HEL LH tartalma és GnRH érzékenysége már az ellés utáni kb. 10. napra rendeződik (MALVEN, 1984). A HTH GnRH-termelő neuronjainak az E2-érzékenysége azonban az első tüszőnövekedési hullámból származó domináns folliculus kialakulásakor általában még nem megfelelő (WILTBANK és mtsai, 2002).



2. **ábra:** A hypothalamus-hypophysis-ovárium tengely működésének egyszerűsített modellje.

Forrás: WILTBANK és mtsai, 2002.

2.4.2. A negatív energiamérleg időszaka alatt képződő petesejt minősége

Szarvasmarhában hozzávetőleg 80-100 napot vesz igénybe, amíg az elsődleges tüszőből tüszőrepedésre alkalmas, preovulációs folliculus alakul ki (ADAMS, 1999; MONNIAUX és mtsai, 1997). Ebből következik, hogy an-

nak a tüszőnek a fejlődése, amelytől az ellés után 50-60 nappal az első ivarzást előidéző E2, illetve az első termékenyülésre alkalmas petesejt produkcióját, azaz a majdani újravemhesülést reméljük, nagy valószínűséggel még valamikor a vemhesség utolsó heteiben megindul, és a folliculus érése hosszú időn keresztül – ha nem éppen teljes egészében – a NEB kritikus időszakában zajlik le. Az erre az időszakra jellemző anyagforgalmi helyzet kedvezőtlen belső környezetet jelent a tüsző és az abban rejlő petesejt fejlődése számára. BRITT (1991) vizsgálata során merült fel először annak a gondolata, hogy a negatív energia egyensúly és a fokozott lipidmobilizáció, illetve a máj zsíros infiltrációja idején károsodhat a csak hetekkel később ovuláló folliculus által produkált oocyta minősége, amit holland kutatók később (KRUIP és mtsai, 1999; WENSING és mtsai, 1997) igazoltak is. Vizsgálatukban az ellés utáni napokban takarmányozási módszerekkel a máj fokozott elzsírosodását idézték elő. Az ellés utáni első tüszőrepedést követően a 60-140. napon különböző időpontokban eltávolították az egyik oldali petefészket, majd a ≥ 2 mm nagyságú tüszőkből kinyerték a cumulus oophorus-oocyta komplexet. Az oocytákat *in vitro* érlelték, termékenyítették, majd az embriók *in vitro* fejlődését 9 napon át nyomon követték. Összehasonlítva a kísérleti és a kontroll állatok adatait a korábban elzsírosodott májű, de a hemi-ovariectomia idejére már teljesen egészséges tehenektől az ellés utáni 60-80., illetve a 80-100. napon nyert oocyták szignifikánsan gyengébb minőségűeknek bizonyultak, illetve a belőlük származó embriókat a standard *in vitro* körülmények ellenére gyengébb fejlődési erély jellemezte. A 100-120. nap között a kezelt és a kontroll csoportok oocytáinak és embrióinak minősége között kiegyenlítődést tapasztaltak, de a különbségek csak a 120. nap után szűntek meg teljes mértékben. Folliculus-aspirációval nyert oocyták vizsgálata alapján később más kutatócsoportok is hasonló következtetésre jutottak (GWAZDAUSKAS és mtsai, 2000, WALTERS és mtsai, 2002).

2.4.3. A sárgatestműködés zavarai a laktáció első hónapjaiban

Hosszabb idő óta ismert jelenség, hogy tehenekben az ellés utáni első tüszőrepedést követően kialakuló ST élettartama az esetek jelentős részében 10 naposnál rövidebb (HUSZENICZA és mtsai, 1987). Egyéb megbetegedésekhez társulva bizonyos gyulladáshoz vezető mediátoranyagok a későbbi ciklusok során is előidéznek a luteolízis idő előtti kiváltásához elegendő mértékű prosztaglandin F₂α (PGF₂α) felszabadulást, és ennek révén a normál 14-17 naposnál rövidebb tartamú ST fázist (HUSZENICZA és mtsai, 1987; JÁNOSI és mtsai, 1998). Amennyiben a rövid ST fázis egy előzetesen inszeminált állatban fordul elő, akkor a P4 termelődésének túl korai befejeződése az embrió biztos pusztulását okozza, de ennek kialakulásával szinte csak krónikus endometritisek esetében számolhatunk.

A ciklus luteális fázisának másik, a laktáció első 2-3 hónapjában gyakori zavara a ST szekréciós tevékenységének a csökkenése, aminek hatására a progeszteron szint ovuláció utáni napokban a kívánatosnál lassúbb ütemű növekedése tapasztalható. Előfordulása elsősorban a NEB metabolikus és endokrinológiai következményeivel hozható összefüggésbe, de okozója lehet számos egyéb, az energiahányos állapottal legfeljebb csak közvetve kapcsolatba hozható takarmányozási faktor, mint például a bendőacidózis és/vagy egyes *Fusarium* mikotoxinok (pl. a zearalenon vagy T-2 toxin) szerepe is. A sárgatest működésének elégtelenségét megfigyelték ezen kívül β-karotin/A-vitamin hiány (ARIKAN és RODWAY, 2000; DEMBINSKI és BRONICKI, 1994; PETHES és mtsai, 1985), és mangánhiány esetén (HURLEY és DOANE, 1989) egyaránt.

A NEB idején bekövetkező metabolikus és hormonális változások az első ovuláció időpontján kívül a már ciklikussá vált petefészek működésű egyedekben a luteális aktivitást is befolyásolhatják (KENDRICK és mtsai, 1999;

RHODES és mtsai, 1996; SPICER és mtsai, 1990; SPICER és mtsai, 1996; VILLA-GODOY és mtsai, 1988).

Tejelő tehenekben számos kutató (BUTLER, 1998; JORDAN és SWANSON, 1979; LARSON és mtsai, 1997; SPICER és mtsai, 1990; STAPLES és mtsai, 1993) tapasztalt alacsony luteális P4 szintet az aktuális szükségletet meghaladó mennyiségű nyersfehérje bevitel, elsősorban nagy mennyiségű bendőben gyorsan lebomló (RDP) fehérjét tartalmazó takarmányfejadag etetése esetén. BUTLER (1998) szerint ennek hátterében – különösen a laktáció korai szakaszában – a bendőből felszívódó nagy mennyiségű ammónia detoxikációja által kiváltott, vagy súlyosbított NEB és/vagy a máj működésének a következményes zavara állhat.

2.5. Az újravemhesülést befolyásoló tényezők

2.5.1. A fogamzás zavara

Egy adott termékenyítést követően a vemhesülés elmaradását egyaránt okozhatja az ovuláció, illetve a fertilizáció zavara, a késői ovuláció, a nem megfelelő időpontban vagy hibás technikával végzett mesterséges termékenyítés vagy az ondósejtek csökkent termékenyítő képessége (KÁTAI és mtsai, 2003). Amennyiben megtörténik a termékenyülés, a zigóta, illetve az embrió 1-2 napon belül beszünteti életműködését. Hazai szerzők (HUSZENICZA és mtsai, 1995) felmérő vizsgálatai során a helytelenül időzített MT, illetve a korai termékenyítés és/vagy késedelmes ovuláció előfordulási arányát az ellés utáni első inszeminálás alkalmával 4,7%, illetve 4,7%-nak; visszaivarzó (repeat breeder) tehenek harmadik termékenyítése alkalmával, pedig 5,5%, illetve 8,6%-nak találták.

2.5.2. A progeszteron ovuláció utáni szintemelkedése és a vemhesülés közötti összefüggés

A P4 szintjének a luteális fázis korai és középső szakaszában mutatott alakulása és a vemhesség fennmaradása közötti kapcsolatot már számos szerző vizsgálta (GARRETT és mtsai, 1998; LUKASZEWSKA és HANSEL, 1980; MANN és mtsai, 1995; SHELTON és mtsai, 1990; WIEBOLD, 1988; DARWASH és LAMMING, 1998; KIMURA és mtsai, 1987; LAMMING és mtsai, 1989). Egyes kutatók már néhány nappal a termékenyítést követően szignifikáns különbségekről számolnak be a vemhesült, illetve a nem vemhesült tehencsoportok között, azonban a két állatsoportra jellemző értéktartományok részben átfedőnek bizonyultak (MANN és mtsai, 1995). Mindezekből arra következtettek, hogy a luteális P4 szintek közötti nagy egyedi eltérések miatt valószínűleg nem állíthatók fel olyan abszolút küszöbértékek, amelyekkel biztonsággal előre jelezhetnénk a sikeres vemhesülést. Meddőség miatt selejtezésre kerülő, visszaivarzó tehének vizsgálatakor SHELTON és mtsai (1990) a vemhesülés elmaradásának okaként luteális funkciózavart jelöltek meg. Meddő tehenekben a vérplazma P4 szintjének az ovulációt követő emelkedése szignifikánsan később következett be, és hosszabb időt vett igénybe, mint a kontrollként vizsgált vemhesült üszőkben. Hasonló eredménnyel zárult DARWASH és LAMMING (1997) vizsgálata is, a vemhesült tehenekben a P4-szintemelkedés az MT-t követő 4. napra elérte a 3 ng/ml értéket, ezzel szemben a nem vemhesült állatokban erre csak kb. 24 órával később került sor. Kérődzőkben a posztovulációs P4-szintemelkedés pozitív hatását az embrió korai fejlődésére számos tanulmány igazolta (DARWASH és LAMMING, 1998; NEPHEW és mtsai, 1991). Jól ismert tény, hogy P4 az endometriumban olyan tápláló és stimuláló anyagok (bizonyos polipeptidek, mitogén faktorok, az IGF-I kötőfehérjéinek egyike, az IGFbp-2) szekrécióját indítja el, melyek létfontosságúak az embrió fejlődéséhez (GEISERT és mtsai, 1992). Ezt a megfigyelést támasztják alá GARRETT és mtsai (1998)

vizsgálatának eredményei, amikor a vemhesség 2.-5. napján adott P4 kezelés hatására a 14. napon a kezelt tehenekből fejlettebb embriókat nyertek ki.

A P4 elválasztás intenzitásának nemcsak az embrió fejlődésére, de közvetve a luteolízis kialakulására is hatása van. A P4 a luteolízist közvetlenül megelőző időszakig gátolja a mechanizmus irányításában fontos szerepet betöltő endometriális oxitocin receptorok kialakulását (WATHES és LAMMING, 1995). Azokban a tehenekben, amelyekben a luteális fázis kezdetén alacsony P4 szinteket mértek, a luteolízis idején intenzívebb PGF2 α felszabadulás volt megfigyelhető (MANN és LAMMING, 1995). Az elhúzódó posztovulációs P4 szintemelkedés (LAMMING és DARWASH, 1995) vagy éppen a luteális fázis korai szakaszában mért, túlzottan magas P4 szint (BURKE és mtsai, 1994; MANN és mtsai, 1998) egyaránt előbbre hozta a luteolízis időpontját.

2.5.3. Az embrionális- és magzati veszteségek

Az embrionális egyedfejlődés első, preimplantációs szakasza a petesejt megtermékenyítésével kezdődik és az embrió méhbe való beágyazódásáig tart. A beágyazódás viszonylag lassú folyamat, szarvasmarhában 17-34 vesz igénybe, amit a magzatfejlődés követ (KO, 2004). SREENAN és mtsai (2001) az üszőkre és az alacsony termelésű tehenekre vonatkozó becslése szerint, amennyiben a fertilizációt 90%-nak és az ellési arányt 55%-nak fogadjuk el, akkor a fogamzástól az ellésig bekövetkező embrionális és magzati veszteség együttes mértéke eléri a 40%-ot. Az embrionális veszteségek döntő hányada (70-80%) a vemhesség első 15. napjáig következik be. A későbbi, 16.-42. nap közötti veszteség további 10%, majd az ezt követő időszakban az ellésig a magzati veszteség mintegy 5-8% (SREENAN és mtsai, 2001).

Az embrionális veszteségeket kiváltó tényezők BOYD (1965) még ma is helytálló megállapítása szerint két csoportba sorolhatók: genetikai (származás, beltenyésztettség, vércsoport, kromoszóma rendellenességek) és környe-

zeti faktorok (takarmányozás, életkor, kondíció, tejtermelés, uterinális környezet, kórokozók). Különösen nagy tejtermelésű tehenekben az állatok takarmányozása (energia-, fehérje-, vitamin- és mikroelem-ellátása) is komplex módon befolyásolja az embrió életben maradásának a valószínűségét. Az elmúlt évtized kutatási eredményei bizonyították, hogy az ellés után kialakuló NEB tartama és mértéke összefüggésbe hozható az ovulációt követő ciklus során tapasztalt gyenge fertilitással (SPICER és mtsai, 1990; VILLA-GODOY és mtsai, 1988). A gyengébb vemhesülési eredmények magyarázata valószínűleg az embrióelhalások arányának a növekedése, amely a NEB idején fejlődő tüszőkből származó oocyták, illetve embriók gyengébb minőségének (KRUIP és mtsai, 1999; WENSING és mtsai, 1997), továbbá a luteális aktivitás zavarainak (KENDRICK és mtsai, 1999; RHODES és mtsai, 1996; SPICER és mtsai, 1993a; VILLA-GODOY és mtsai, 1988) egyaránt lehet a következménye. Tejelő teheneknél, amennyiben fehérje-túletetés következményeként a vérplazma, illetve a tej karbamid-nitrogén szintje 13,6-14,3 mmol/l fölé emelkedik, a túlzott fehérjebevitel együtt jár az uterinális környezet megváltozásával, a luteális aktivitás csökkenésével, és így a fogamzási zavarok és/vagy az embrióelhalás valószínűségének fokozódásával (BUTLER, 1998; JORDAN és SWANSON, 1979; LARSON és mtsai, 1997; SPICER és mtsai, 1990; STAPLES és mtsai, 1993).

2.5.4. A vemhesség korai vizsgálatára és az embrióvesztés detektálására alkalmas eljárások

A vemhesség korai felismerésére több eljárás áll rendelkezésünkre. B módú diagnosztikai ultrahang készülékek már a vemhesség 18. (üszőkben) illetve 25. (tehenekben) napján is alkalmasak a vemhesség felismerésére. A szérum-, ill. tej progeszteron vagy a különböző vemhességet jelző faktorok (pl. vemhességi fehérjék) kimutatása hasonló eredményességű a termékenyítést köve-

tő 28-30. naptól kezdődően. A gyakorlatban ma két, egymástól csak molekulásúlyukban különböző, vemhességi fehérje kimutatási módszer is alkalmas (PAG kimutatása RIA módszerrel és a PSPB kimutatása RIA és ELISA eljárással) a vemhesség korai vizsgálatára. A két eljárás eredményességének összehasonlítása során hazai szerzők (SZENCI és mtsai, 1998) szignifikáns eltérést nem tapasztaltak. A vemhesség specifikus protein B (PSPB) a vemhes kóródzó állatok vérérumában található fehérje, melyet a trofoblaszt kétmagvú óriás sejtjei termelnek. Tenyészet szinten a vemhesség kimutatására a vemhesülés utáni 28-30. napon használható (SASSER és mtsai, 1986). A vemhesség megállapításán kívül a vemhességi fehérjék alkalmasak lehetnek a placenta állapotának vizsgálatára (SZENCI és mtsai, 2003), valamint alkalmasnak látszanak a 25. és 35. nap közötti embrió-és magzatvesztések vizsgálatára is (GÁBOR és mtsai, 2007). Az elmúlt években fejlesztették ki (SASSER, 2003) a vemhesség specifikus protein B kimutatására alkalmas BioPryn[®] ELISA (BioTracking LLC, Moscow, Idaho, USA) módszert, amelynek elvégezték hazai tesztelését is (GÁBOR és mtsai, 2004; SASSER és mtsai, 2004). A BioPryn[®] tesztet a vemhesség korai vizsgálatára, valamint a késői embrionális és magzati veszteségek kimutatására azóta is rutinszerűen alkalmazzák (GÁBOR és mtsai, 2007; GÁBOR és mtsai, 2008; TÓTH és mtsai, 2005).

2.6. Az energiahányos állapot okozta fertilitási zavarok mérséklésének lehetőségei

2.6.1. A zsírkiegészítés alkalmazása

A tejhasznú tehenek takarmányadagjának zsírokkal történő kiegészítését a gyakorlatban már évtizedek óta alkalmazzák, hiszen egyike azoknak a lehetőségeknek, amely révén a tejtermelés növelése mellett a szaporodási mutatók

is javíthatók. A takarmány kiegészítése különböző zsiradékokkal növeli a takarmányfejadag energiakonzentrációját, és ennek révén – ha egyidejűleg nem csökken a tehén szárazanyag-fellevő képessége – a laktáció korai heteiben potenciálisan enyhítheti a fennálló energiahiányos állapotot. A zsírkiegészítés növeli a takarmányfejadag energiatartalmát, ezáltal növeli a tejtermelést, valamint részben módosítja a tej- és hústermék zsírsav összetételét (KERESZTES és mtsai, 2007a). A kérődzők takarmányához kevert zsírok és olajok azonban – a bendőbeli rostbontást csökkentő hatásuk révén - gyakran csökkentik a takarmányfelvételt és tej zsírtartalmát (KEADY és mtsai, 2000; ONETTI és mtsai, 2002). A zsírok e negatív hatásait a bendőn változatlan formában áthaladó by-pass zsírok alkalmazásával lehet mérsékelni.

2.6.1.1. A zsírkiegészítés hatása a petefészek-működésre

Tejtermelő tehenek esetében az ellés utáni hetekben végzett ciklusindukciós kezelések sikeressége - vagyis, az acikliás petefészekműködés ciklikussá válása - nagyban függ az állatok energiaellátottságától (HUSZENICZA és mtsai, 2003c; 2005). A takarmányok többszörösen telítetlen zsírsav tartalmának megválasztásával tudatosan befolyásolhatjuk az involúció lefolyását és a vemhesség anyai szervezet részéről történő felismerését, a progeszteron termelést, vagyis csökkenthetjük a korai embrionális veszteségeket (BILBY és mtsai, 2006b; THATCHER és mtsai, 2006). A többszörösen telítetlen zsírsavak részben energiaforrásként hasznosulnak, részben, pedig prekursorokat szolgáltatnak az ovariális szteroid hormonok, valamint prosztaglandin származékok szintéziséhez. Ezáltal javíthatják az állatok energiaháztartását és befolyásolhatják a petefészek és a méh működését, vagyis a vemhesülés valószínűségét is (STAPLES és mtsai, 1998). Zsírkiegészítés hatására nem csak a P4, hanem annak produkciójához szükséges előanyagok szintje is megnövekszik a vérben (HAWKINS és mtsai, 1995). *In vivo* és *in vitro* módszerekkel egyaránt bizonyították, hogy a luteális sejtek szteroid forrásként a HDL és a

LDL egyaránt képesek hasznosítani (CARROLL és mtsai, 1992; HUSZENICZA és mtsai, 1994). A luteális sejtek *in vitro* P4 produkciója alacsony HDL szintek mellett is lehet maximális, így valószínű, hogy a vérben lévő koleszterin mennyisége nem korlátozó tényezője a sárgatest progeszteron termelő képességének (CARROLL és mtsai, 1992). HAWKINS és munkatársai (1995) véleménye szerint azonban a plazma P4 koncentráció emelkedése nem a fokozott szintézisnek, hanem a szervezetből történő lassabb kiürülésnek köszönhető.

Több vizsgálatban is (LUCY és mtsai, 1991; HIGHTSHOE és mtsai, 1991; RYAN és mtsai, 1995; WEHRMAN és mtsai, 1991) megerősítették, hogy a zsírkiegészítés hatására, annak energiatartalmától függetlenül, tüszőnövekedés indult meg. A tüszőnövekedés mértékére és az alkalmazott zsírforrás zsírsavösszetételének kapcsolatáról számos esetben ellentétes eredmények jelentek meg. A vizsgálatok egy részében nem (LUCY és mtsai, 1991; WEHRMAN és mtsai, 1991), míg más szerzők szerint (ROBINSON és mtsai, 2002; THOMAS és mtsai, 1997; WILLIAMS és STANKO, 1999) a zsírsavösszetétel befolyással volt a tüszőnövekedés mértékére. A linolsavban (C18:2) gazdag növényi olajok (szója, gyapot) jelentősebb mértékben serkentik a tüszőnövekedést, mint a főleg telített zsírsavakban gazdag állati eredetű zsírok. Néhány vizsgálatban azonban a zsírkiegészítésben részesült tehenekben az acikliás periódus meghosszabbodásáról (SCOTT és mtsai, 1995), az anovulációs ciszták gyakoriságának növekedéséről (SALFER és mtsai, 1995) és az első 100 napban ivarzási tüneteket nem mutató egyedek számának növekedéséről számoltak be (CARROLL és mtsai, 1990). A zsírkiegészítés nyomán megnövekvő folliculáris aktivitás jelentős részben az LH alapszekréció időegység alatti pulzusfrekvenciájával függ össze. A zsírkiegészítéssel bevitt energiatöbblet révén a javuló energiamérlegnek köszönhetően fokozza az LH alapszekréció időegység alatti pulzusfrekvenciáját, valamint a tüszőnövekedést (HIGHTSHOE és mtsai, 1991). SKLAN és mtsai (1994) vizsgálataiban

az alkalmazott zsírkiegészítés hatására az először ellett tehenekben növekedett, míg a többször ellettekben csökkent a tüszőfázisban az LH-koncentrációja. Normalizálódott az energiamérleg, növekedett az LH pulzusamplitúdója továbbá a follikulusok átmérője, valamint gyorsabban nőtt a posztovulációs progeszteron szint.

A domináns follikulusok ösztrogéntermelése a theca interna sejtek által felvett koleszterinnek androgén prekursorokká történő átalakulásán alapul, amelyek a granulózasejtekben alakulnak át ösztrogénné (HUSZENICZA és mtsai, 1994). Zsírkiegészítés hatására tejhasznú tehenekben alacsonyabb ösztrogén szinteket mértek a vérben (HIGHTSHOE és mtsai, 1991) és a tüszőfolyadékban (WEHRMAN és mtsai, 1991).

2.6.1.2. A zsírkiegészítés hatása a vemhesülésre

Számos vizsgálatban a zsírkiegészítés egyik legfontosabb pozitív hatása a vemhesülési eredmények javulása volt az első termékenyítésre (CARROLL és mtsai, 1994; FERGUSON és mtsai, 1990; SCHNEIDER és mtsai, 1988) az azt követő termékenyítésekre vemhesülő tehenekben (ARMSTRONG és mtsai, 1990; BURKE és mtsai, 1996; CARROLL és mtsai, 1994; FRAJBLAT és BUTLER, 2003; PETIT és mtsai, 2001; SCOTT és mtsai, 1995; SKLAN és mtsai, 1991; SON és mtsai, 1996). Ennek következményeképpen csökkent a két ellés között eltelt idő hossza (SKLAN és mtsai, 1991).

A sejtmembránokban lévő többszörösen telítetlen zsírsavak közül az arachidonsav számos fontos élettanilag aktív hormonszerű vegyületté, eikozanoidokká alakulhat. Ebbe a csoportba tartoznak a prosztaglandinok és származékaik, valamint a leukotriének (MATTOS és mtsai, 2000). A prosztaglandinok két legismertebb képviselője az elsősorban a luteolízis kiváltásáért felelős PGF₂ α és az ezzel jórészt ellentétes hatású PGE₂ (OKUDA és mtsai, 2002; SENGER, 2003). E két prosztaglandinnak, illetve arányuk változásának fontos szerepe van a vemhességi sárgatest regressziójában, az ellés megindulásá-

ban (SENGER, 2003), majd az ellést követő involúció lefolyásában és az ismét ciklusos működésüvé váló petefészkek szabályozásában (FÖLDI és mtsai, 2006; PÉCSI és mtsai, 2006). A $\text{PGF2}\alpha$ előanyagaként ismert arachidonsav jelentős mennyiségben tárolódik az endometriumban a sejtmembránok foszfolipid frakciójában (HOWIE és mtsai, 1992). Az arachidonsav származhat a takarmányból vagy *de novo* szintetizálódhat az n-6 zsírsav családba tartozó linolsavból. Ezzel szemben az n-3 csoportba tartozó α -linolénsavból eikozapentaénsav, majd dokozahexaénsav képződik. A linolénsav $\text{PGF2}\alpha$ szintézisét gátló hatását több kísérletben *in vivo* és *in vitro* körülmények között is bizonyították (OLDICK és mtsai, 1997; THATCHER és mtsai, 1994). A gátló hatás lényege tulajdonképpen a linolsav és linolénsav, illetve a belőlük képződő arachidonsav és eikozapentaénsav versengését jelenti a $\text{PGF2}\alpha$ szintézisében kulcsszerepet betöltő ciklooxygenáz enzim (COX) kötőhelyeiért. Az egyik leggazdagabb növényi eredetű linolénsav forrást a lenmag jelenti (zsírsavtartalmának több mint 50%-a). A lenmagnak a tej zsírsavösszetételére gyakorolt hatását már számos korábbi vizsgálatban kimutatták (FOCANT és mtsai, 1998; DHIMAN és mtsai, 2000; PETIT és mtsai, 2001, 2004; WARD és mtsai, 2002) a szaporaságra gyakorolt hatásával kapcsolatosan azonban kevés információ áll rendelkezésünkre. (FUENTES és mtsai, 2008). PETIT és munkatársai (2001) vizsgálatukban kedvezőbb vemhesülési eredményeket tapasztaltak (87,5% vs. 50%), linolénsavban (C18:3, n-3) gazdag lenmag etetésekor, mint a palmitinsavban (C16:0) és olajsavban (C18:1, n-9) gazdag pálmaolaj Ca-sóinak etetésekor. AMBROSE és munkatársai (2006) a tapasztalt jobb vemhesülési eredmények mellett, alacsonyabb embrionális veszteségről is beszámoltak.

A telítetlen zsírsavak komponensei mellett fontos jelentősége van a telítetlen zsírsavakon belül az n-3:n-6 aránynak. Ezt igazolták CALDARI-TORRES és mtsai (2006) eredményei, miszerint a szarvasmarha eredetű endometriális

szövetkultúrában az n-3 zsírsavak PGF2 α -t gátló hatása főképp az n-3:n-6 zsírsavak arányától függ. A vizsgálatokban az n-6 zsírsavak jelenléte gátolta az n-3 zsírsavak hatását, ezért nem csökkent a PGF2 α szintézise. A fent ismertetett eredmények alapján a takarmányok többszörösen telítetlen zsírsavainak megválasztásával tudatosan befolyásolhatjuk az involúció lefolyását és a vemhesség anyai szervezet részéről történő felismerését, vagyis csökkenthetjük a korai embrionális veszteségeket (BILBY és mtsai, 2006b; THATCHER és mtsai, 2006).

Kutatásom során az alábbi vizsgálatokat végeztem el:

- Felmérő vizsgálatokat végeztem a késői (MT utáni 25. és 60. nap között bekövetkező) embrionális és magzati mortalitás mértékéről üzemi körülmények között. (*1. vizsgálat*).
- A tejtermelést és a szaporodást a szervezetben lejátszódó anyagforgalmi folyamatok alapvetően befolyásolják. Az anyagforgalmi vizsgálatok során a fiziológiás értékek alapján következtetéseket tudunk levonni a szénhidrát-, zsír-, és a fehérjeforgalom zavaraira. A további vizsgálatokat megelőzően kérdés volt, hogy a korai vemhességvizsgálat során felhasznált vérminták alkalmasak-e további vizsgálatokra. A kérdés megválaszolására az anyagforgalmi folyamatokra és a táplálóanyag-ellátási zavarokat jellemző vérplazma paraméterek mintakezelésének és laboratóriumi meghatározásának metodikai kérdését tekintetem át (*2. vizsgálat*).
- Az ellés utáni időszakban (90-120 nappal az ellés után) jelentkező anyagforgalmi zavarok a vemhesülésre és az üresen maradt állatok petefészek-működésére gyakorolt hatását a korai vemhességvizsgálat-

tal egy időben történő metabolikus vérparaméterek analízise alapján vizsgáltam (3. *vizsgálat*).

- Munkám során végül az antioxidánst, élesztőt és omega-3 zsírsavat tartalmazó takarmánykiegészítés tejtermelésre, petefészek működésére és vemhesülésre gyakorolt hatását vizsgáltam (4. *vizsgálat*).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Kísérleti állatok

Vizsgálatainkat hazai, tejtermelésre szakosodott, szarvasmarhatelepeken végeztük. A vizsgálatba bevont állatok mindegyike magas vérhányadú holsteinfρίζ keresztezett tehén volt. Az állatokat a telepeken zárt kötetlen módon, tejtermelésük szerint csoportosítva tartották és takarmányozták. Szaporodásbiológiai státuszuk illetve tejtermelésük szerint az állatokat az alábbiak szerint csoportosították: szárazonálló, előkészítő, ellető, fogadó, termelő (kistejű és nagytejű) csoport. Az üszöket és teheneket lehetőség szerint külön fogadó csoportokban helyezték el. Az egyes kísérletekben alkalmazott állatlétszámot, kezeléseket és az azokra vonatkozó eltéréseket a *Kísérleti elrendezés* című fejezetben írtam le.

3.2. Takarmányvizsgálatok

Az állatok takarmányfejadagja (total mixed ration, TMR) tömegtakarmányokból és abrakból állt. A takarmányfejadagokat az állatok mindenkori szükséglete szerint állították össze, összhangban az NRC (2001) ajánlásokkal.

A 3. és 4. vizsgálatban az alaptakarmányok és a vályúminták táplálóanyag tartalmának vizsgálatát végeztük el. Az alaptakarmányok vizsgálata egyszeri mintavétellel történt (2 kg/minta). A vályúmintákat az etetővályú több pontjáról vették és megfelelő homogenizálás után ez az elegyminta került laboratóriumi vizsgálatra. Az etetett napi takarmányadag táplálóanyag tartalmának és ennek alapján táplálóértékének pontosabb nyomon követésének érdekében két, a reggeli és az esti etetésből származó takarmányminta került analízisre. Az így begyűjtött minták szárazanyag, nyersfehérje és nyerszsír tartalmának

meghatározása a Magyar Takarmánykódex (2004) szerint, a sav- (ADF) és neutrális detergens rost (NDF) tartalom meghatározása VAN SOEST és ROBERTSON (1985) módszerével történt.

3.3. Mintavétel, mintakezelés

A vérvételek az állatok farokvénájából (v. coccygealis) történtek, natív, illetve véralvadás-gátlót (EDTA), illetve a glükózkoncentráció meghatározásához fluoridot tartalmazó vérvételi csőben (S-Monovette®, Sarstedt AG & Co., Germany).

A biokémiai vizsgálatokhoz a vérvételt követően a vérplazmát illetve vérszérumot az alakos elemektől centrifugálással választottuk el (2000 rpm, 15 perc). A vérplazma mintákból a *2. vizsgálatban* a glükóz, összfehérje, összkarotin, kalcium, foszfor, karbamid, koleszterin, triglicerid koncentrációt valamint az AST, ALT és LDH aktivitást határoztuk meg. A *3. vizsgálat* során a β -karotin, α -tokoferol és retinol koncentrációját a vérszérumból, míg a karbamid, glükóz, húgysav, NEFA, és BHB koncentrációt a vérplazma mintákból határoztuk meg, csakúgy, mint a *4. vizsgálatban* végzett meghatározásokat (NEFA, BHB, FRAP, karbamid).

A szerológiai és endokrinológiai vizsgálatok során a korai vemhesség vizsgálat (*1., 3. és 4. vizsgálat*) és a progeszteronkoncentráció meghatározása vérszérum mintákból történt (*1. és 3. vizsgálat*). A *4. vizsgálatban* a P4 koncentrációját az egészséges tőgynegyedekből származó, kálium-dikromátot, mint alvadásgátlószert, tartalmazó csőbe vett mintákból határoztuk meg. A zsírtalanított tejmintákat a meghatározásig +4°C-on tároltuk.

Az elválasztott szérum és plazmamintákat a meghatározásig +4°C-on tároltuk, amennyiben a meghatározás 24 órán belül, illetve -18°C (*1. és 2. vizsgálat*) vagy -70°C-on tároltuk (*3. és 4. vizsgálat*), ha a meghatározás később, maximálisan 1 hónapon belül történt meg.

3.4. Biokémiai módszerek

3.4.1. A táplálóanyag-ellátás zavarait és az antioxidáns kapacitást jellemző vérparaméterek vizsgálata

3.4.1.1. A kalcium koncentráció meghatározása

A vérplazma kalciumkoncentrációját spektrofotometriásan, reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest) határozta meg, BAVER által leírt arsenazo módszer alapján (1981). A meghatározás elve, hogy semleges pH-n Ca^{++} jelenlétében az arsenazo III komplexet képez. A szín intenzitása a kalcium koncentrációjával arányos és a kialakult szín 650 nm-en mérhető. A mérés érzékenysége 0,013 mmol/l, intra-és interassay CV: $\leq 1,9\%$ és $\leq 2,4\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 2,2-3 mmol/l.

3.4.1.2. A foszfor koncentráció meghatározása

A vérplazma szerves foszforkoncentrációját spektrofotometriásan, reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest) határozta meg. Savas közegben a foszfor az ammónium molibdáttal többlépéses reakció során foszomolibén-sav komplexet ad. A pszeudokinetikus reakció 340 nm-en nyomon követhető, az abszorbancianövekedés arányos a minta szerves foszforkoncentrációjával (DALY és ERTHINGSHAUSEN, 1972). A mérés érzékenysége 0,006 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 0,9\%$ és $\leq 1,62\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 1,6-2,2 mmol/l.

3.4.1.3. A β -karotin, α -tokoferol és retinol koncentráció mérése

A meghatározáshoz a vérsérumot hexán/aceton/abszolút etanol/toluol 10:7:6:7 arányú keverékével extraháltuk. Centrifugálás után a felső oldószeres rétegből végeztük a paraméterek mérését HPLC készülékkel. (Analitikai oszlop: Platinum CN 100 Å 3 μm 53 mm x 7 mm, átfolyó küvétával ellátott

UV-VIS fotométer, diódasoros detektor állítható hullámhosszúsággal, eluáló folyadék: n-hexán és metanol 98:2 keveréke, áramlási sebesség: 1 ml/perc, nyomás: 50 bar). A β -karotin, α -tokoferol és retinol koncentrációkat standardok mérésével kapott csúcsterületek nagyságából számítottuk ki. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: β -karotin $>3000 \mu\text{g/l}$.

3.4.1.4. Az összkarotin koncentráció meghatározása

A vérplazma összkarotin koncentrációjának meghatározása a plazmafehérjék etanolos kicsapását követő petroléteres extrakcióból és az extraktum 450 nm-en végzett fotometriás méréséből állt. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 3-6 $\mu\text{mol/l}$.

3.4.1.5. A vérplazma vasredukáló képességének (FRAP) mérése

Az antioxidánsok egy részének működési elve, hogy redox reakció révén redukálják az oxidáns anyagokat, és így egy kevésbé káros molekulát képeznek. Ennek megfelelően egy rendszer antioxidáns kapacitása tulajdonképpen annak redukálóképességével is jellemezhető. A vérplazma FRAP meghatározás során spektrofotometriás méréssel határozzuk meg a rendszerbe juttatott Fe^{2+} és Fe^{3+} komplexek arányát, és redukáló képességüket. A FRAP érték meghatározása BENZIE és STRAIN módszerével (1996) történt. A meghatározás elve, hogy ha a Fe^{3+} - TPTZ (vas(III)-tripiridiltriazin) komplexhez alacsony pH-jú közegben redukálóanyagot (azaz antioxidánst) adunk, akkor végtermékként Fe^{2+} - TPTZ (vas(II)-tripiridiltriazin) kapunk. A kialakult liláskék szín 539 nm-en jól mérhető, az abszorbancianövekedés a minta redukálóképességével egyenesen arányos. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: $>150 \text{ mmol/l}$.

3.4.2. A szénhidrát-, fehérje-, és zsíryanycsere zavaraira utaló vérparaméterek vizsgálata

3.4.2.1. *A glükóz koncentráció meghatározása*

A vérplazma glükózkoncentrációját spektrofotometriásan, reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest) határoztam meg. A mérés TRINDER (1969) módszerén alapul. A glükóz-oxidáz (GOD) a glükózt glükonsavvá és hidrogén-peroxiddá alakítja. A reakcióban keletkező hidrogén-peroxid (H_2O_2) 4-amino-antipirinnel és hidroxibenzén-szulfonáttal peroxidáz (POD) jelenlétében quinoneimint képez, amely egy színeképző oxidációs termék (Trinder-féle indikátor reakció). A színes komplexnek 505 nm-en adszorpciós maximuma van, amely spektrofotometriásan mérhető. Az abszorbancia növekedés arányos a minta glükóz koncentrációjával. A mérés érzékenysége 0,022 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 1,5\%$ és $\leq 4,3\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 2-4 mmol/l.

3.4.2.2. *A fehérje koncentráció meghatározása*

A vérplazma összfehérje koncentrációját reagenskészlettel (Diagnosticum Zrt, Budapest) WEICHSELBAUM módszere alapján (1948) biuret-reakcióval határoztam meg. A kimutatás alapja, hogy a vérplazmában lévő fehérjék lúgos közegben rézsókkal színes komplexeket képeznek. A kialakult szín 546 nm-en mérhető, arányos a fehérje koncentrációval. A mérés érzékenysége 0,18 g/l, intra- és interassay CV: $\leq 1,5\%$ és $\leq 2,3\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 65-80 g/l.

3.4.2.3. *A karbamid koncentráció meghatározása*

A vérplazma karbamidkoncentrációját enzimátikus-kolorimetriás módszerrel, reagenskészlettel határoztam meg (Diagnosticum Zrt., Budapest). A kimutatás alapja, hogy a karbamidot vizes közegben az ureáz enzim ammóniává és

szén-dioxiddá bontja. Lúgos közegben az ammóniumionok szalicilát és Na-hipoklorit jelenlétében zöld színű vegyületet képeznek. A kialakult szín 600 nm-en mérhető, abszorbancianövekedés arányos a minta karbamid koncentrációjával (CHANEY és MARBACH, 1962). A mérés érzékenysége 0,03 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 2,73\%$ és $\leq 4,5\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 3-7 mmol/l.

3.4.2.4. A húgysav koncentráció meghatározása

A húgysav vérplazma koncentrációját enzimatikus-kolorimetriás módszerrel (FOSSATI és mtsai, 1980), reagenskészlettel határoztam meg (Diagnosticum Zrt., Budapest). Az urikáz a mintában lévő húgysavat allantoinná alakítja, miközben szén-dioxid és hidrogén-peroxid keletkezik. A hidrogén-peroxid a peroxidáz segédenzim segítségével fenolszármazék és 4-aminoantipirin jelenlétében színes indikátor reakciót ad, amely 520 nm-en fotométeren mérhető. Az abszorbancianövekedés arányos a minta húgysav koncentrációjával.). A mérés érzékenysége 2,3 $\mu\text{mol/l}$, intra- és interassay CV: $\leq 1,19\%$ és $\leq 2,4\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: $<60 \mu\text{mol/l}$.

3.4.2.5. A triglicerid koncentráció meghatározása

A triglicerid koncentrációt a vérplazmában enzimatikus, kolorimetriás módszeren alapuló reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest) mértem. A trigliceridet a lipoprotein-lipáz glicerinre és zsírsavakra bontja. A glicerint a glicerin-kináz foszforilálja ATP és Mg^{++} ionok jelenlétében. A keletkezett glicerín-3-foszfátot a glicerín-3-foszfát-oxidáz molekuláris oxigén jelenlétében oxidálja. A felszabaduló hidrogén-peroxid peroxidáz enzim jelenlétében, fenol származék és 4-aminoantipirin indikátor reakcióval színes terméket ad, amely 505 nm-en mérhető (FOSSATI és PRENCIPE, 1982). A mérés érzé-

kenysége 0,011 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 0,73\%$ és $\leq 1,5\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 0,1-0,3 mmol/l.

3.4.2.6. A koleszterin koncentráció meghatározása

A vérplazma összkoleszterin koncentrációjának meghatározását enzimatis-kolorimetriás módszerrel, reagenskészlettel végeztem (Diagnosticum Zrt., Budapest). A koleszterin észtereket a koleszterin észter-hidroláz hidrolizálja. Az így keletkezett szabad koleszterint a koleszterinoxidáz kolesztenonná alakítja át, miközben hidrogén-peroxid keletkezik. A hidrogén-peroxid a peroxidáz, fenol és 4-aminoantipirin indikátorreakció segítségével 505 nm-en jól mérhető vörös kinon származékká alakul. Az abszorbancianövekedés a minta összkoleszterin koncentrációjával azonos (RICHMOND, 1973). A mérés érzékenysége 0,016 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 0,7\%$ és $\leq 1,46\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 1,5-5 mmol/l.

3.4.2.7. A nem észterifikált zsírsav koncentráció meghatározása

A vérplazma NEFA koncentrációját enzimatis, kolorimetrikus módszeren alapuló reagens készlettel (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK) , hogy a mértem. A meghatározás elve, hogy a coenzim A-ból acetil-coA szintáz hatására zsírsav jelenlétében acetil-coA képződik. Az acetil-coA oxidáz hatására hidrogén-peroxid képződés mellett oxidálódik. A kialakult 3-metil-N-etil-N-(b-hidroxiethyl)-anilinból és a 4-amino-antipirinből peroxidáz hatására lila kondenzációs termék képződik, ami 545 nm-en mérhető. Az abszorbancianövekedés arányos a minta NEFA koncentrációjával (MATSUBARA és mtsai, 1983). Intra- és interassay CV: $\leq 4,1\%$ és $\leq 9,2\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: $<0,4$ mmol/l.

3.4.2.8. *A β OH-vajsav koncentráció meghatározása*

A vérplazma β OH-vajsav koncentrációját enzimatikus kinetikus módszeren alapuló reagens készlettel (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK) mértem. A meghatározás elve, hogy a β OH-vajsavat a β OH-vajsav dehidrogenáz red-ox-koenzim-függő acetecetsavvá oxidálja, miközben a NAD^+ NADH formára alakul át. Az átalakulást 340 nm-en mérhető abszorbanciaváltozás kíséri, ami arányos a minta β OH-vajsav koncentrációjával (LI és mtsai, 1980). A mérés érzékenysége 0,01 mmol/l, intra- és interassay CV: $\leq 5,7\%$ és $\leq 7,5\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: $<0,8$ mmol/l.

3.4.3. A májműködés zavarára utaló enzimek vizsgálata

3.4.3.1. *Tejsav-dehidrogenáz aktivitásának meghatározása*

Az LDH aktivitást a vérplazmában spektrofotometriásan mértem reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest). A mérés elve, hogy az LDH enzim pH=7,5 pufferben NaCl és NADH jelenlétében katalizálja a piruvát átalakulását laktáttá. A NADH átalakulását NAD^+ formára 340 nm-en mérhető abszorbancia csökkenés kíséri. Az abszorbancia változás arányos a szérum tejsav-dehidrogenáz aktivitásával (HOWELL és mtsai, 1979). A mérés érzékenysége 8,1 U/l, intra- és interassay CV: $\leq 1,43\%$ és $\leq 2,19\%$. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: 600-1500 U/l.

3.4.3.2. *Alanin-aminotranszferáz aktivitásának meghatározása*

Az ALT aktivitást a vérplazmában spektrofotometriásan mértem reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest). A mérés elve, hogy optimális kémhatás mellett az ALT katalizálja a reakcióelegyben lévő két szubsztrát, az L-alanin és a 2-oxoglutarát átalakulását. A reakcióban keletkező piruvátot a laktát-dehidrogenáz (LDH) segédenzim NADH koenzim jelenlétében L-laktáttá

alakítja, miközben a NADH-NAD⁺ oxidációs-redukciós folyamatot 340 nm-en abszorbancia csökkenés kíséri (BERGMEYER és mtsai, 1978). Az abszorbanciaváltozás arányos a szérum ALT aktivitásával. A mérés érzékenysége 1,95 U/l, intra- és interassay CV: ≤ 0,7% és ≤ 1,6%. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha: <30 U/l.

3.4.3.3. Aszpartát-aminotranszferáz aktivitásának meghatározása

Az AST aktivitást a vérplazmában spektrofotometriásan mértem reagens készlettel (Diagnosticum Zrt., Budapest). A mérés azon az elven alapul, hogy az AST által katalizált reakcióban két szubsztrát vesz részt, az L-aszpartát és az oxoglutarát. A reagensben lévő malát-dehidrogenáz (MDH) segédenzim az első reakcióban keletkezett oxalacetát átalakulását segíti a NADH koenzim közreműködésével. A NADH-NAD⁺ oxidációs-redukciós folyamatot 340 nm-en mért abszorbancia csökkenés kíséri (BERGMEYER és mtsai, 1978). A mérés érzékenysége 1,79 U/l, intra- és interassay CV: ≤ 1,20% és ≤ 2,88%. Fiziológias értéktartomány, szarvasmarha:<60 U/l.

3.5. Szerológiai és endokrinológiai vizsgálatok

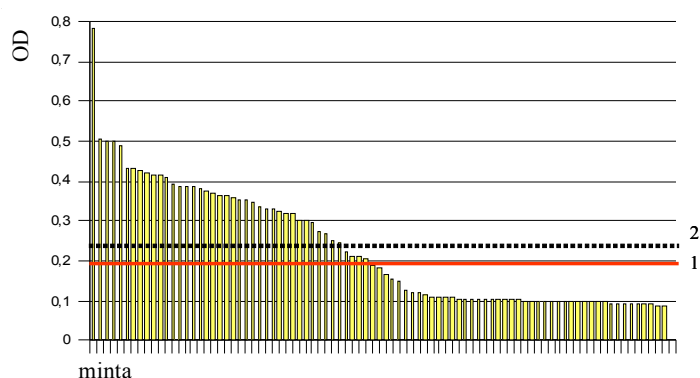
3.5.1. Az embrionális és magzati veszteségek diagnosztizálása a korai vemhességvizsgálattal

A vemhesség korai megállapítását GÁBOR és mtsai (2004) által leírt módon, a termékenyítést követő 30-36. napon BioPrynTM teszttel (BioTracking LLC, Moscow, ID, USA; intra-és interassay CV: ≤ 1,4% és ≤ 10,5%) végeztük. Korábbi vizsgálataink során (TÓTH és mtsai, 2005; GÁBOR és mtsai, 2007) megállapítottuk, hogy a BioPrynTM teszt alkalmas a termékenyítést követő 25.

és 35. nap között bekövetkező embrionális és magzati veszteségek egy részének diagnosztizálására is.

A vérérum alacsony PSPB koncentrációja az embrionális fejlődés zavarát is jelezheti. Vizsgálatunkban a vemhességet jelző határérték optikai denzitását 10%-kal meghaladó minták esetében magzatvesztést feltételeztünk (3. ábra). Meghatároztuk a minták P_4 koncentrációját, majd a kapott értékek alapján három kategóriát állítottunk fel:

1. valószínű embrióvesztés, amennyiben a P_4 koncentráció < 2 ng/ml
2. feltételezhető embrióvesztés, amennyiben a P_4 koncentráció 2-4 ng/ml
3. vemhesség fennmaradása valószínű, amennyiben a P_4 koncentráció > 4 ng/ml



1: határérték, 2: határérték + 10%

3. ábra: A szérumbemhesség-specifikus b fehérje optikai denzitás értékeinek megoszlása egy ELISA lemez fotometrikus leolvasásakor

Forrás: TÓTH és mtsai, 2005.

A magzatvesztés tényleges diagnózisát a termékenyítés utáni 60. napon végzett rektális-palpációs vizsgálat jelentette, illetve ha az állat újratermékenyítésre került.

3.5.2. A ciklikus petefészek működés vizsgálata

A petefészek ciklikus működésének vizsgálata a progeszteron koncentráció - tejből (4. vizsgálat) vagy vérszérumból történő (1. és 3. vizsgálat) - meghatározásával és/vagy a petefészek ultrahangos vizsgálatával (Scanner 100, Vet LC, Pie Medical, Maastricht, The Netherlands; 3. vizsgálat) történt. A progeszteron koncentráció tejmintákból történő meghatározását NAGY és mtsai (1998) által leírt módon (teszt érzékenysége 0,5 ng/ml, inter- és intra-assay CV: 10,3% és 12,3%, 5,2% és 11,6%), a vérszérum P4 koncentrációjának meghatározását ELISA módszerrel végeztük (QuantiCheck, Veterinorg Kft, Budapest; érzékenysége 0,2 ng/ml, inter- és intra-assay CV: $\leq 4,5\%$ és $\leq 5,25\%$). A progeszteron vizsgálat során a ciklikus petefészek működés határértékének a 2 ng/ml koncentrációt tekintettük. A határérték alatti P₄ koncentrációval rendelkező állatok esetében a sárgatest hiányát, illetve a sárgatest nem megfelelő működését feltételeztük.

3.6. Kísérleti elrendezés

1. vizsgálat Felmérő vizsgálatok tejtermelő tehenészetekben a késői embriónális és magzati mortalitás mértékéről

A vizsgálatban négy magyarországi tejelő tehenészetből származó közel kétezer termékenyítés eredményességét vizsgáltuk, amelynek során 759 vemhes tehenet diagnosztizáltunk a termékenyítést követő 30-36. napon végzett Bio-PrynTM teszttel. A feltételezett magzatvesztéses egyedek esetében a vemhességvizsgálattal egy időben meghatároztuk a vérszérum progeszteron koncentrációját.

A vemhesség újra-ellenőrzése a termékenyítést követő 60. napon rektális-palpációs vizsgálattal történt. A rektális vizsgálatokat a telepek a saját gyakorlatuknak megfelelően végezték és ezek eredménye, valamint a BioprynTM tesztrel vemhesnek talált állatok számának különbsége adta meg a termékenyítés utáni 60. napig bekövetkező magzatvesztés mértékét.

2. vizsgálat Vérminták előkészítésének és tárolásának hatása a vérplazma egyes biokémiai paramétereire

A kísérlet első felében a vérmintákból az alábbi előkészítési és tárolási módokat követően végeztük el a meghatározásokat:

1. A vérvételt követően a lecentrifugált vérplazmából azonnal mértünk.
2. A vérvételt követően centrifugálással szétválasztott plazmát 7 napig -18 °C-on tároltuk és ezt követően mértünk.
3. A vérplazmát 24 órán át + 4 °C-on tároltuk majd mértünk.
4. A vérplazmát 24 órán át + 4 °C-on, majd 7 napig -18 °C-on tároltuk és ezt követően mértünk.
5. A vérvételt követően a vérmintát 24 órás + 4 °C-on történő tárolást követően centrifugáltam le és a plazmából ezt követően mértünk.
6. A vérvételt követően a vérmintát 24 órás + 4 °C-on történő tárolást követően centrifugáltam le, majd a plazmát 7 napig -18 °C-on tároltuk és ezt követően mértünk.

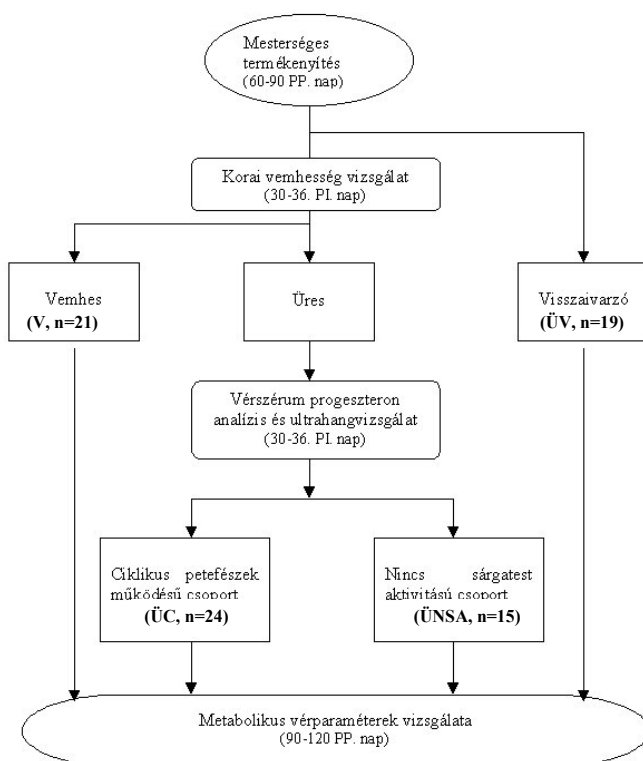
A vizsgálatot 10 mintából, kétszeres ismétlésben végeztünk. A mintavétel az ellés utáni 40-100. nap között volt, a vérminták különböző korú (laktációs szám: 2-4.) és szaporodásbiológiai státuszú (termékenyített 6) tehenekből származtak. A mintákból a vérplazma glükóz, összfehérje, összkarotin, kalcium, foszfor és karbamid koncentrációját, valamint az LDH, ALT és AST aktivitását határoztuk meg.

A kísérlet második felében a vérvételt követően centrifugálással elválasztott plazmamintákat eltérő módokon tároltuk. A mintákból az alábbi paramétereket határoztuk meg (8 minta kétszeres ismétlésben): glükóz, összfehérje, koleszterin, triglicerid és karbamid. A vérvétel az ellés utáni 50-110. nap között volt, a minták különböző korú (laktációs szám: 1-3.) és szaporodásbiológiai státuszú (termékenyített 6, ebből megállapított vemhes 1) tehenekből származtak. A tárolási módok az alábbiak voltak:

1. Tárolás nélküli azonnali vizsgálat.
2. 7 napos, -18 °C-os tárolást követő vizsgálat.
3. 14 napos, -18 °C-os tárolást követő vizsgálat.
4. 21 napos, -18 °C-os tárolást követő vizsgálat.
5. 28 napos, -18 °C-os tárolást követő vizsgálat.

3. vizsgálat A táplálóanyag-ellátottságra és a metabolikus zavarokra utaló vérparaméterek eltéréseinek vizsgálata vemhes és üres tejelő tehenekben

A kísérlet két magyarországi tejtermelő tehenészeti telepen zajlott. A vizsgálatba 79 többször ellett, átlagosan harmadik laktációjú holstein-fríz tehenet vontunk be, melyek átlagos napi tejtermelése 37 kg volt. A 79 állatból 2-2 vérmintát vettünk (1 natív és 1 alvadásban gátolt vércsőbe), a vérszérumin-tákból a korai vemhességvizsgálatot és a progeszteron koncentráció meghatározást, a vérplazmamintákból a táplálóanyag-ellátottságra és a metabolikus zavarokra utaló vérparaméterek vizsgálatát végeztük el. A vemhesség megállapítása BioPryn™ teszttel, a petefészek ciklikus működésének vizsgálata a vemhességvizsgálattal egy időben, a vérszérum P₄ koncentrációjának meghatározásával és ultrahangos petefészek vizsgálatával történt. A vemhességvizsgálat és a petefészek ciklikus működésének vizsgálata során kapott eredmények alapján az állatokat 4 csoportba osztottuk (4. ábra).



4. ábra: Az állatok csoportosítása az értékeléskor. A korai vemhességvizsgálat eredménye szerint az állatokat üres és vemhes csoportokra osztottuk, a visszaivarzó teheneket (ÜV) a telepek válogatták ki. A vemhességvizsgálat alapján üresnek bizonyult tehenek vérmintáiból meghatároztuk a vérszérum P4 koncentrációját, mely alapján a teheneket további, ciklikus petefészkek működésű (ÜC, n=24) és nincs sárgatest aktivitású (ÜNSA, n=15) csoportra választottuk szét. Az így kapott 5 csoport vérmintáiból metabolikus vérparaméterek vizsgálatát végeztük el.

Forrás: TÓTH és mtsai, 2007.

Az állatok táplálóanyagforgalmának és metabolikus státuszának monitorozásához az ellés utáni 90. és 120. nap között a korai vemhességvizsgálattal egy időben a vérplazma β -karotin, karbamid, glükóz, α -tokoferol, retinol, nem észterifikált zsírsav, β OH-vajsav és húgysav koncentrációját határoztuk meg.

A vizsgált nagytejű tehéncsoportban elvégeztük az alaptakarmányok és a vályúminták táplálóanyag tartalmának vizsgálatát.

4. vizsgálat Az antioxidánst, élesztőt és omega-3 zsírsavat tartalmazó takarmányfejadag etetésének hatása a tejelő szarvasmarhák energiaháztartására és fertilitására

A vizsgálatba bevont tehenek (n=66) egy tehenészetből származtak. A tehenek a szárazonállás időszaka alatt azonos összetételű és táplálóanyag-tartalmú takarmányt (TMR) fogyasztottak. A tehenek ellés körüli takarmányozása meghatározza azok ellés utáni egészségi állapotát, az involúción és a petefészek ciklikus működésének újraindulásán keresztül befolyással van az újravemhesülés, valamint a laktáció sikerességére. Ezért a tehenek az ellést megelőző 3. héttől β -karotint, E-vitamint, inaktivált élesztőt, szelént és mikroelem kelátokat tartalmazó kiegészítést kaptak (I. kiegészítés). Az ellést követően 50 napig további, az energiaháztartást támogató Glukofort 50TM kiegészítést (II. kiegészítés, Vitafort Zrt.) kaptak. Az állatokat, ezt követően, az ellés utáni 50. napon kontroll (n=16) és kísérleti csoportra (n=50) osztották. A kísérleti csoport homogén keverék formájában 1kg/nap adagban 200g ropantott lenmagot, 200mg β -karotint, 1g szelénes élesztőt (2000mg/kg Se) és további 50g élesztőt tartalmazó kiegészítést kapott (III. kiegészítés), míg a kontroll csoport takarmányfejadagja kiegészítést nem tartalmazott.

Az anyagforgalmi és a metabolikus státusz nyomon követésére a kísérleti és a kontroll csoport egyedeinek vérplazmamintáiból az 1. táblázatban feltüntetett paramétereket határoztuk meg.

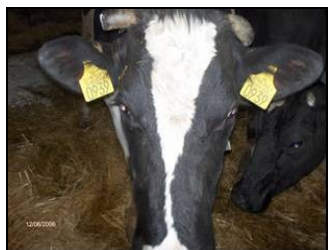
1. táblázat: Az elléstől a 120. napig vizsgált vérparaméterek.

Paraméterek	Mintavételi időpontok postpartum nap							
	1.	7.	15.	30.	50.	70.	90.	120.
NEFA				+	+	+		
BHB	+	+	+	+	+			
Karbamid	+	+	+	+	+	+	+	+
FRAP	+	+	+	+	+	+	+	+
Összkarotin		+		+		+	+	+

A tehenek termékenyítésére a Provsynch protokollt követően az ellést követő 70-76. nap között napon került sor. A korai vemhességvizsgálat a BioPryn™ teszttel történt.

Az ivari ciklus nyomon követése a termékenyítés előtti 4. és az azt követő 40. nap között 16 alkalommal vett tejminták P4 koncentrációjának meghatározásával történt.

A kísérletben részt vevő tehenek kondícióbírálata az általunk kidolgozott fotografikus bírálati módszer segítségével történt. A kondícióváltozás objektívebb vizsgálatának érdekében a vizsgált állatokról fényképeket készítettünk a telepeken megadott paraméterek alapján. Az állatokról a vér- és vagy tej-mintavételekkel egy időben állandó szögből és távolságból két kép készült. Az első képen az állat azonosítására szolgáló fűlszám, a másodikon a külső és belső csípőszöglet és a farbúrok voltak láthatók (5. ábra). A bírálat során a kiindulási kondíciót (elléskori) 50 pontnak tekintettük, és ennek csökkenését vagy növekedését 5 pontos léptékben értékeltük.



5. ábra: A kondícióbírálatra érkezett képek

3.7. Statisztikai módszerek

A kísérleti és kontroll csoportokban, azon belül az egyes mintavételi időpontokban vett minták eredményeinek számtani átlagát és szórását (S.D.) számítottam ki az egyes mérési paraméterek és fertilitási eredmények esetében. A táblázatokban és ábrákon ezeket az átlagértékeket tüntettem fel. Az egyes csoportok közötti eltérések vizsgálatára a Chi-négyzet (χ^2) tesztet és Student's-féle t-próbát (a csoportátlagok párosított összehasonlításakor) használtam. A biokémiai vérvizsgálatok eredményeinek és a szaporodási mutatók alapján kialakított csoportok közötti összefüggések vizsgálatára korrelációanalízist használtam, mely során a Pearson-féle korrelációs együttható értékeit határoztam meg.

Az egyes értékek közötti eltéréseket akkor tekintettem szignifikáns különbségnek, ha a p érték kisebbnek bizonyult, mint 0,05.

A statisztikai számításokhoz MS Excel 7.0 (Microsoft Co., Redmond, WA, USA) és S-Plus 2000 (MathSoft Inc., Seattle, WA, USA) programcsomagot használtam.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉSÜK

4.1. Felmérő vizsgálatok tejtermelő tehenészetekben a késői embrionális és magzati mortalitás mértékéről

A BioPryn™ teszttel végzett korai vemhességvizsgálattal megállapított 759 vemhesség esetében 118 esetben diagnosztizáltunk késői embrionális és magzati veszteségeket (2. táblázat). Az összes veszteségen (n=118) belül a termékenyítést követő 25-35. nap között a BioPryn™ teszttel diagnosztizálható késői embrionális veszteség (n=25) mértéke 3,29% volt. A vemhesség későbbi szakaszában, a 35-60. nap között bekövetkező, rektális-palpációs vizsgálattal detektált magzatvesztés mértéke további 12,67% (n=93) volt.

2. táblázat: A késői embrió- és magzatvesztés mértéke és eloszlása

Termékenyítés utáni 25-35. nap között			Termékenyítés utáni 35-60. nap között			Termékenyítés utáni 25-60. nap között
Vemhes (db.)	Üres (db.)	Veszteség (%)	Vemhes (db.)	Üres (db.)	Veszteség (%)	Veszteség (%)
759	25	3,29	734	93	12,67	15,54

VASCONCELOS és mtsai (1997) nagy tejtermelésű (11.000-12.000kg) vemhes tehenekben végzett vizsgálatukban a termékenyítés utáni 28-98. nap között 20,2%-os embrionális veszteséget állapítottak meg. Saját hazai felmérő vizsgálatunkban alacsonyabb tejtermelés mellett (~8000 kg) kisebb mértékű 15,54 % veszteséget tapasztaltunk a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között.

A 3. táblázatban a korai vemhességvizsgálat eredménye szerint feltételezett és a ténylegesen bekövetkezett késői embrióvesztés alakulását látható. A ko-

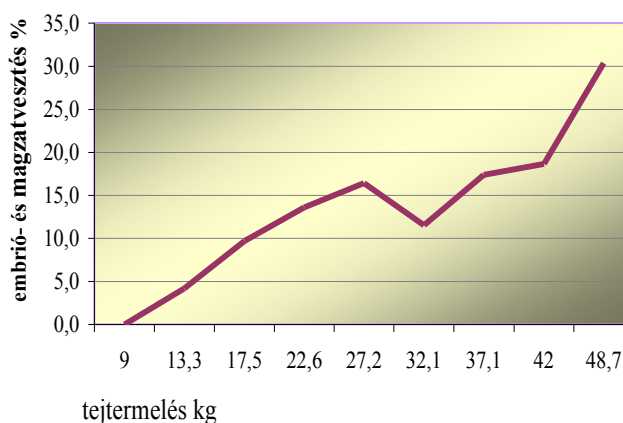
rai vemhességvizsgálat alkalmával feltételezett 60 esettel szemben valós embrióvesztés csak 25 esetben következett be. A vérszérum P₄ koncentráció vizsgálat alapján felállított kategóriákban a tényleges veszteségek alakulása eltérő volt. Az alacsony P₄ koncentrációjú minták esetében – amikor a mortalitás nagy valószínűséggel bekövetkezik – az embriók több mint 85%-a veszett el, míg a vemhességre jellemző magasabb szérum P₄ szint mellett az embrióvesztés alacsony, csupán 9,1%-ban fordult elő. A magzatvesztés a közepes, 2-4 ng/ml P₄ koncentrációjú minták 29,4%-ban következett be.

3. táblázat: A feltételezett és a tényleges veszteség arányának alakulása a vemhesség 25-35. napja között

Szérum P ₄ koncentráció	P ₄ kategóriák	Feltételezett embrióvesztés (db.)	Tényleges embrióvesztés (db.)	Tényleges veszteség (%)
<2 ng/ml	Valószínű magzatvesztés	21	18	85,71
2-4 ng/ml	Feltételezhető magzatvesztés	17	5	29,41
>4 ng/ml	Vemhességre jellemző progeszteron szint	22	2	9,1
Összesen:		60	25	41,4

Jelen vizsgálatban a szakirodalommal megegyezően összefüggést találtunk a tejtermelés és a késői embrióvesztés mértéke között. Az összefüggés további vizsgálatához a napi termelt tej mennyisége alapján 9 csoportot alakítottunk ki (10kg - 50kg). A csoportátlagok és a csoportokban bekövetkező veszteségek mértéke között talált szoros és szignifikáns ($r=0,93$; $p<0,001$) pozitív kapcsolat szerint a tejtermelés növekedésével a veszteség mértéke emelkedik (6. ábra). Számos egymásnak ellentmondó eredményt és hipotézist tartalmazó irodalom született már a tejtermelés és a vemhesülés kapcsolatának vizsgálá-

takor. Egyes vizsgálatok során pozitív (MOATE és HARRIS, 1983; FULKERSON, 1984; BUCKLEY és mtsai., 2003) vagy semmilyen (VILLA-GODOY et al., 1988; RAHEJA et al., 1989) de a legtöbb esetben negatív kapcsolatot találtak (HOEKSTRA et al., 1994; BEAM és BUTLER, 1999; DARWASH et al., 1999; ROYAL et al. 2000). Több vizsgálat szerint (SARTORI és mtsai, 2000; VASCONCELOS és mtsai, 1997) a vemhesség 28. napja után bekövetkező veszteségek hátterében egyértelműen a magas tejtermelés áll. Vizsgálatunkban a 45kg-ot meghaladó napi tejtermelés esetén a késői embrió- és magzatvesztés mértéke meghaladta a 30%-ot, ami felhívja a figyelmet az egyirányú szelekció lehetséges negatív következményére, illetve a magas genetikai értékű állományok nagyobb táplálóanyag igényére.



6. ábra: A késői embrió- és magzatvesztés alakulása a tejtermelés függvényében a termékenyítés utáni 25-60. nap között

Egy újabb vizsgálatunkban közel kétezer termékenyítés adatait vizsgálva sikerült igazolnunk a vemhesülés a tejtermelés, a tejsír- és tejfehérje-tartalom között fennálló negatív összefüggést is (GÁBOR és mtsai, 2008). A tejtermelés nem önmagában, hanem az annak következményeként kialakuló bonyolult élettani folyamatok révén van befolyással a szaporodásra és az embrioná-

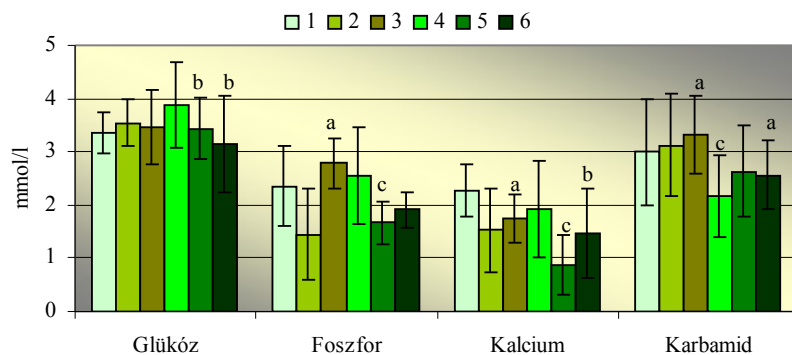
lis mortalitásra. GRIMARD és munkatársai (2006) szerint a tejtermelés a genetikai (antagonizmus a szaporaság és a tejtermelés h^2 értéke között) és takarmányozási hatások (NEB) kombinációján keresztül van befolyással a szaporaságra. A megemelkedett tejtermelés fokozott energiaigényt jelent, aminek kielégítése nehéz, sőt sok esetben megoldhatatlan feladat. A gyengébb vemhesülési eredmények egy részének oka valószínűleg az embrióelhalások arányának növekedése, amely a NEB idején fejlődő tüszőkből származó oocyták, illetve embriók gyengébb minőségének (KRUIP és mtsai, 1999; WENSING és mtsai, 1997), továbbá a luteális aktivitás zavarainak (KENDRICK és mtsai, 1999; RHODES és mtsai, 1996; SPICER és mtsai, 1993a; VILLA-GODOY és mtsai, 1988) egyaránt lehet a következménye. Tejelő teheneknél a túlzott fehérjebevitel, és ennek hatására a szervezet növekvő karbamid terhelése, együtt jár az uterinális környezet megváltozásával, a luteális aktivitás csökkenésével, és így a fogamzási zavarok és/vagy az embrióelhalás valószínűségének fokozódásával (BUTLER, 1998; JORDAN és SWANSON, 1979; LARSON és mtsai, 1997; SPICER és mtsai, 1990; STAPLES és mtsai, 1993).

4.2. Vérminták előkészítésének és tárolás hatása a vérplazma egyes biokémiai paramétereire

4.2.1. A vérminták előkészítésének és tárolásának hatása egyes metabolikus és táplálóanyagforgalmat jellemző paraméterek plazmakoncentrációjára

Az eredmények értékelésekor és grafikonon való ábrázolásukkor a különböző módokon előkészített és tárolt minták mérési eredményeit minden esetben a vérvétel után azonnal centrifugált vérplazma minta mérési eredményeivel vettem össze, és a kapott szignifikáns eltéréseket tüntettem fel a grafikonon. A különböző tárolási módokat 1-6-ig jelöltem: (1) vérvétel után azonnal centrifugálás és mérés, (2) vérplazma minta 7 napig $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolva, majd

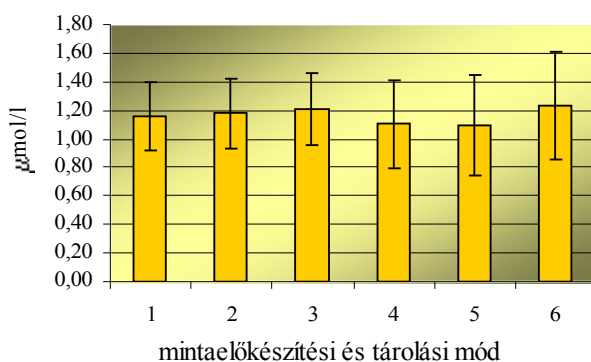
mérés, (3) vérplazma minta 24 órán át +4°C-on tárolva, majd mérés, (4) vérplazma minta 24 órán át +4°C-on, majd 7 napig -18°C-on tárolva és mérés, (5) teljes vér 24 órán át +4°C-on tárolva, majd centrifugálás és mérés és (6) teljes vér 24 órán át +4°C-on tárolva, majd a lecentrifugált vérplazma minta további 7 napig -18°C-on tárolva és mérve.



7. ábra: A vérplazma glükóz, összkarotin, foszfor, kalcium és karbamid koncentrációjának változása különböző tárolási körülmények hatására. (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$, c: $p < 0,005$). (1) vérévétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18 °C-on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át +4°C-on, (4) vérplazma 24 órán át +4°C-on, majd 7 napig -18°C-on (5) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C-on

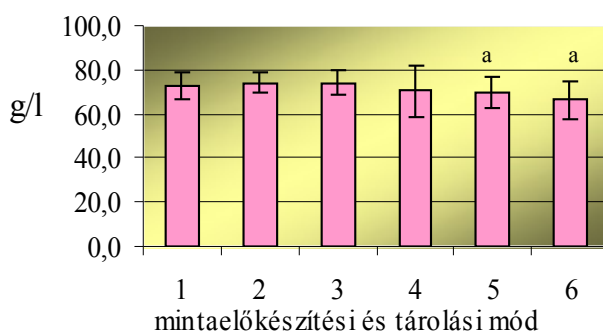
Ahogy az a 7. ábrán látható a vérplazma 7 napig történő fagyasztása (2) nem okozott változást annak glükóz, foszfor, kalcium és karbamid koncentrációjában. Azonban szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) találtunk a foszfor, kalcium és karbamid koncentrációjában, amikor a lecentrifugált vérplazmát a meghatározásig 1 napon át +4°C-on tároltuk (3). A karbamid koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,005$) amikor a vérplazmát 1 napon át +4°C-on, majd további 7 napon át a meghatározásig -18°C-on tároltuk (4). A vér alakos elemei (5, 6) negatív hatást gyakoroltak a vérplazma glükóz, foszfor, kalcium és karbamid koncentrációjára. A felsorolt paraméterek esetében

csökkent koncentrációt mértünk a kiindulási koncentrációhoz képest. A kalcium koncentrációja a plazmaminta fagyasztásának (6) hatására azonban nem csökkent tovább, hanem emelkedést mutatott. A kalcium fontos szerepet tölt be a véralvadás során. A fagyasztás-felolvasztás aktiválja a vérlemezkéket, a vérlemezke aktivációja pedig együtt jár az intracelluláris kalcium szint növekedésével. A vizsgálatban tapasztalt koncentrációemelkedés magyarázatának nehézségét az adja, hogy nem a teljes vérmintát, hanem plazmamintát fagyasztottunk. A vérben található kalcium mintegy 50%-a fiziológiailag aktív, ionizált alak, aminek mintegy 10%-a komplex kötésben van citrátokkal, foszfátokkal és más anionokkal. A maradék 40% fehérjékhez, főleg albuminhoz kapcsolódik. A fagyasztás hatására megváltozik a fehérjék szerkezete, kitekerednek, és így a vérplazmában elméletileg megemelkedhet a kimutatható kalcium szint.



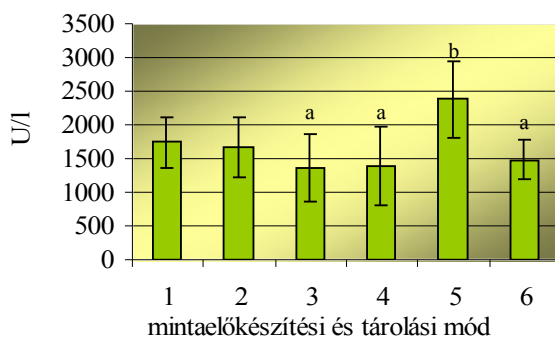
8. ábra: Az összkarotin koncentráció változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására. (1) vérvétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18 °C-on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át +4°C-on, (4) vérplazma 24 órán át +4°C-on, majd 7 napig -18°C-on (5) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C-on

Az összkarotin meghatározásakor nem tapasztaltunk változást annak koncentrációjában egyik mintaelőkészítési és tárolási mód esetében sem (8. ábra).



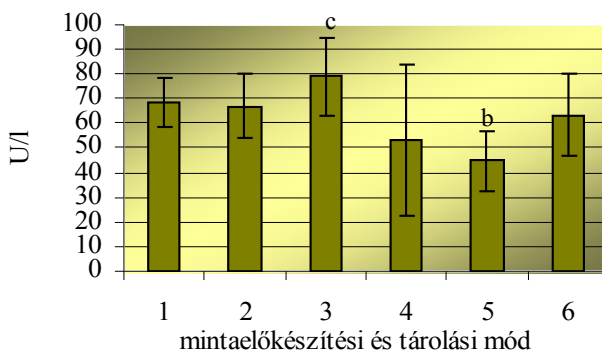
9. ábra: Az összfehérje koncentráció változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására. (a: $p < 0,05$) (1) vérvétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18°C -on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, (4) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd 7 napig -18°C -on (5) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C -on

Az 5 és 6 tárolási mód hatására szignifikánsan ($p < 0,05$) csökkent az összfehérje koncentrációja a vérplazmában (9. ábra).



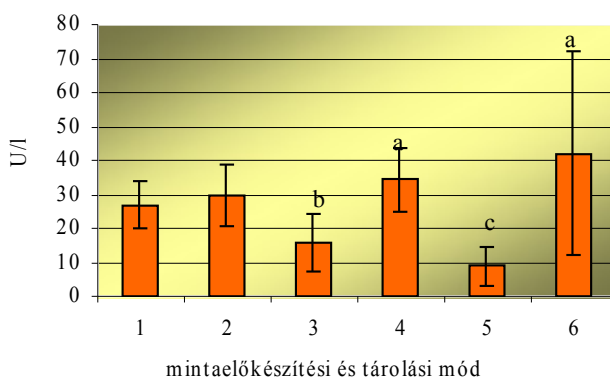
10. ábra: Az LDH aktivitás változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására. (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$) (1) vérvétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18°C -on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, (4) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd 7 napig -18°C -on (5) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C -on

Az LDH aktivitása szignifikáns mértékben csökkent, amikor a meghatározást az 1 napig +4°C-on tárolt plazmamintákból végeztük el (10. ábra). Ugyanakkor nagyobb aktivitást tapasztaltunk, amikor a mérés a 24 órán keresztül le nem centrifugált mintákból történt.



11. ábra: Az AST aktivitás változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására. (b: $p < 0,01$, c: $p < 0,005$) (1) vérvétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18 °C-on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át +4°C-on, (4) vérplazma 24 órán át +4°C-on, majd 7 napig -18°C-on (5) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át +4°C-on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C-on

Az AST aktivitás szignifikánsan ($p < 0,005$) nagyobb volt a vérplazma 24 órán át +4°C-on való tárolásának hatására (11. ábra). Ugyanakkor az enzim aktivitás alacsonyabb volt, amikor a meghatározás az 1 napig le nem centrifugált mintából történt.



12. ábra: Az ALT aktivitás változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,005$) (1) vérvétel után azonnali elválasztás (2) vérplazma 7 napig -18°C -on tárolva, (3) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, (4) vérplazma 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd 7 napig -18°C -on (5) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd plazma elválasztást követően mérés, (6) teljes vér 24 órán át $+4^{\circ}\text{C}$ -on, majd az elválasztott plazma további 7 napig -18°C -on

Az ALT aktivitás vizsgálata során megbízható eredményt csak a vérvételt követően azonnal lecentrifugált vérplazma minta (1) és a fagyasztott vérplazma minta (2) mérése esetén kaptunk (12. ábra). A többi tárolási mód szignifikánsan rontotta a meghatározás pontosságát.

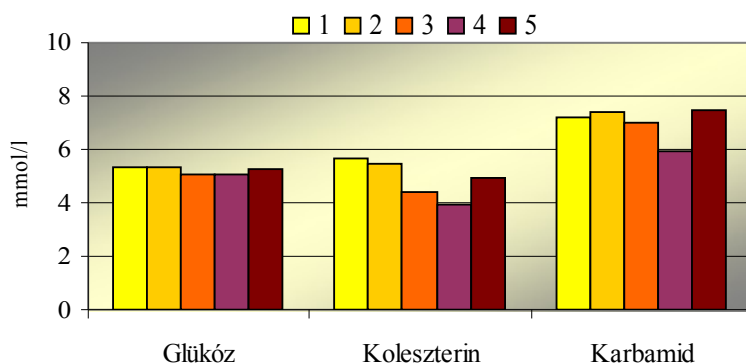
A teljes vérmintában a vérplazma elválasztásáig további biokémiai folyamatok zajlanak. A kísérlet eredményeként általánosságban elmondható, hogy ezek a folyamatok negatívan befolyásolják a meghatározás pontosságát és a mérés megbízhatóságát. A vizsgált májenzimek esetében (ALT, AST, LDH) azt tapasztaltuk, hogy kizárólag friss (a vérvétel után a lehető leghamarabb elválasztott), illetve a centrifugálást követően azonnal lefagyasztott vérplazma mintából tesztelhetők.

A nagyobb AST, ALT és LDH aktivitás többek között májkárosodásra utalhat. Az LDH, bár nem májspecifikus enzim, de aktivitásának mérésével megbecsülhetjük a szövetpusztulással járó betegségek mértékét és lefolyását. Összességként elmondható, hogy a vemhességvizsgálatra beérkező teljes vér-

minták nem alkalmasak az általunk választott táplálóanyagforgalmat és metabolikus státuszt jellemző vérparaméterek további laboratóriumi vizsgálatára. A továbbiakban ezért a vérvételt követően centrifugálással elválasztott plazmaminták fagyasztási idejének hatását vizsgáltuk egyes vérparaméterek ki-mutathatóságára.

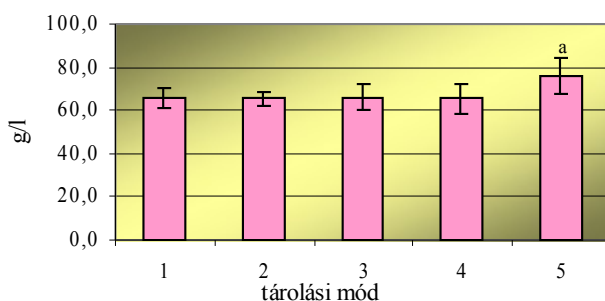
4.2.2. A fagyasztás időtartamának hatása a táplálóanyag-ellátást és a metabolikus állapotot jellemző vérparaméterek mérhetőségére

Az eredmények értékelésekor, az előző vizsgálatnál alkalmazott módszerrel megegyező módon, a különböző módon tárolt minták mérési eredményeit a vérvétel után azonnal lecentrifugált és mért plazmaminta mérési eredményei-vel vettem össze. A különböző tárolási módokat 1-5-ig jelöltem: (1) a vér-vétel után azonnal centrifugálás, (2) a vérplazma 7 napig -18°C -on tárolva, (3) a vérplazma 14 napig -18°C -on tárolva, (4) a vérplazma 21 napig -18°C -on tárolva, (5) a vérplazma 28 napig -18°C -on tárolva.



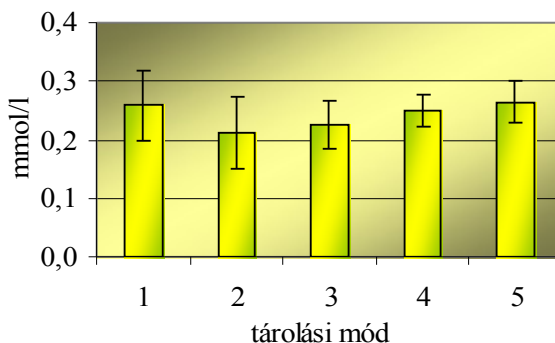
13. ábra: A vérplazma glükóz, koleszterin és karbamid koncentrációjának változása különböző tárolási körülmények hatására. (1) a vérvétel után azonnali centrifugálás, (2) a vérplazma 7 napig -18°C -on, (3) a vérplazma 14 napig -18°C -on, (4) a vérplazma 21 napig -18°C -on, (5) a vérplazma 28 napig -18°C -on tárolva.

Amint az a 13. ábrán látható a vérplazma fagyasztása és a fagyasztás időtartama nem befolyásolta a glükóz, a koleszterin és a karbamid koncentrációját.



14. ábra: Az összfehérje koncentráció változása a vérplazmában különböző tárolási körülmények hatására (a: $p < 0,05$). (1) a vérvétel után azonnali centrifugálás, (2) a vérplazma 7 napig -18°C -on, (3) a vérplazma 14 napig -18°C -on, (4) a vérplazma 21 napig -18°C -on, (5) a vérplazma 28 napig -18°C -on tárolva.

A vérplazma összfehérje koncentrációja nem változott a 3 hétig tartó fagyasztás hatására, a 4. hétre azonban a koncentrációértéke szignifikáns mértékben nagyobb volt (14. ábra).



15. ábra: A triglicerid koncentráció változása a vérplazmában a különböző tárolási körülmények hatására. (1) a vérvétel után azonnali centrifugálás, (2) a vérplazma 7 napig -18°C -on, (3) a vérplazma 14 napig -18°C -on, (4) a vérplazma 21 napig -18°C -on, (5) a vérplazma 28 napig -18°C -on tárolva.

A vérplazma triglicerid koncentrációja nem változott a fagyasztás hatására (15. ábra).

További vizsgálatunkban (TÓTH és mtsai, 2006) azt tapasztaltuk, hogy a kiválasztott klinikai biokémiai vérparaméterek (glükóz, összfehérje, karbamid) nem alkalmasak az egyébként fennálló metabolikus zavarok jelzésére. Jelen vizsgálatban az állatok táplálóanyag-ellátottságának felmérésére választott vérparaméterek közül a kalcium és foszfor, a szénhidrát-, fehérje- és zsírellátottság felmérésére választott vérparaméterek közül a glükóz, összfehérje, triglicerid és koleszterin vérplazma koncentrációja nem haladta meg a fiziológiás értéket. Ennek alapján úgy tűnik, hogy ezek a paraméterek az ellést követő NEB idején koncentrációváltozást nem mutatnak, vagyis a táplálóanyag-ellátás és a metabolikus státusz felmérésére ebben az időszakban nem alkalmasak, túl általánosak. Későbbi vizsgálatunk során (TÓTH és mtsai, 2006) eltérő AST és LDH aktivitást tapasztaltunk az ellés körüli (az ellés előtt és után 2-5 nappal) és a magas tejtermelés időszakában (40-60 nappal az ellés után). A vizsgált enzimek aktivitása a magas tejtermelés időszakában végig meghaladta a normálértéket, ezért a nagytejű tehének anyagcserezavarainak felmérésére kevésbé alkalmasak. A további vizsgálatokban a metabolikus státusz, a táplálóanyag-ellátás és az energiahány mértékének felmérésére a fent említett okok miatt más, kifejezetten a fehérje- és az energia-ellátottságot jellemző vérparaméterek meghatározása mellett döntöttünk.

4.3. A táplálóanyag-ellátottságra és a metabolikus zavarokra utaló vérparaméterek eltéréseinek vizsgálata vemhes és üres tejelő teheneekben

A takarmányok táplálóanyag-tartalma és a termelési adatok vizsgálata alapján kijelenthető, hogy nem volt különbség a két telep takarmányozási és tejter-

melési színvonalra, valamint a vizsgálatba bevont állatok életkora és laktáció száma között, ezért lehetővé vált, hogy a vizsgálat során gyűjtött vérminták mérési eredményeit összevonva értékeljük. A takarmányfejadag laktációs nettó energiatartalma 7,2 MJ/kg volt, ami fedezte mindkét telepen a mért átlagos napi tejtermelés energiaigényét (4., 5. táblázat).

4. táblázat: A két telepen etetett takarmányfejadagok összetétele és számított táplálóanyag-tartalma

A fejadag összetétele (kg)		
	A gazdaság	B gazdaság
Kukorica szilázs	19,2	22
Lucerna szenázs	9	5
Réti széna	0,5	2
Lucerna széna	0,5	1,6
Sörtörköly	5,1	8
Széna szecska	3,9	-
Nedves répaszelet	-	3
Szójadara	-	2
Kukoricadara	-	8
Gyapotmag	-	1,8
Nagytejű táp ¹	12,9	-
Tejelő mix ²	-	1,6
Számított táplálóanyag-tartalom (g/kg szárazanyag)		
Szárazanyag felvétel (kg)	21,9	23,6
NE _i (MJ)	7,21	7,19
Nyersfehérje	178,4	171,3
MFE	110,1	111
MFN	133,8	128,2
Lebontható fehérje	108,1	110,8
Bypass fehérje	70,3	60,5
Nyers zsír	64,4	64,4
Nyers rost	163,5	159,3
Kalcium	8,3	5
Foszfor	4,9	3,45

¹Nagytejű tejelő tehéntáp (Vitafort Zrt)

²Tejelő tehén takarmánykeverék (Vitafort Zrt)

5. táblázat: A vályúminták vizsgálatának eredményei

	A gazdaság	B gazdaság
Száranyag %	43 ± 4,1	43 ± 4,5
Nyersfehérje %	17,8 ± 1,5	16,1 ± 1
Nyerszsír %	6,4 ± 0,4	6,4 ± 0,6
ADF %	21 ± 2,5	23,9 ± 1,9
NDF %	34,6 ± 3,7	36,8 ± 2,1

6. táblázat: A tejtermelés, a táplálóanyag-ellátottságot és a metabolikus státust jelző paraméterek alakulása a négy vizsgálati csoportban

	ÜC csoport	ÜNSA csoport	ÜV csoport	V csoport
Létszám, n	24	15	19	21
Tej, kg	38,7 ^a ±8,2	36,3 ^{ab} ±5,3	34,3 ^b ±8	38,1 ^a ±9,2
α-tokoferol, µg/ml	6,6 ^a ±2,2	7,4 ^b ±1,7	7,5 ^b ±1,9	6,9 ^{ab} ±2,1
Retinol, µg/ml	544,9 ±151,4	537,8 ±131,7	557,4 ±118,4	518,3 ±93
β-karotin, µg/l	2036 ^a ±1065	2347 ^b ±1011	2419 ^b ±1168	2323 ^{ab} ±1327
Glükóz, mmol/l	4,4 ±0,7	4,5 ±0,5	4,6 ±0,5	4,5 ±0,4
Húgysav, µmol/l	43,2 ^{ab} ±13,6	38,9 ^b ±7,5	41,6 ^{ab} ±12,5	46,5 ^a ±10,4
Karbamid, mmol/l	4,8 ^a ±1,1	4,3 ^b ±0,7	4,8 ^a ±0,7	4,7 ^a ±1,1
NEFA, mmol/l	0,24 ^a ±0,09	0,31 ^b ±0,11	0,30 ^b ±0,08	0,22 ^a ±0,05
BHB mmol/l	0,31 ^{ab} ±0,2	0,30 ^{ab} ±0,2	0,21 ^b ±0,11	0,33 ^a ±0,2

^{ab} azonos sorban eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek p<0,05 szinten

A 79 állatot, a vemhesség- és a progeszteronkoncentráció vizsgálata alapján négy csoportba soroltuk: üres ciklikus petefészek működésű (ÜC), üres nincs sárgatest aktivitása (ÜNSA), visszaivarzó (ÜV) és vemhes (V).

Az állatok vérmintáiból a 6. táblázatban feltüntetett vérparamétereket határoztuk meg. A visszaivarzó csoport tejtermelése szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a vemhes és az üres ciklikus petefészek-működésű tehenek csoportjáé. A sárgatest aktivitással nem rendelkező (ÜNSA) tehenek csoportjában szintén alacsonyabb tejmennyiséget tapasztaltunk (36,3 kg/nap), de ez a különbség nem volt statisztikailag igazolható. Az ÜV és az ÜNSA tehenek csoportjában az α -tokoferol, és a β -karotin vérszérum koncentrációja magasabb volt, mint a vemhes és az ÜC tehenekben mért értékek. Az előbbi (ÜV és ÜNSA) két csoportban a NEFA koncentrációja szignifikánsan ($p < 0,05$) nagyobb volt a vemhes és az ÜC csoport értékéhez viszonyítva. Az α -tokoferol és a β -karotin vérszérum koncentrációja szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) csak az ÜC csoport értékeinél volt nagyobb. A BHB plazmakoncentrációja az ÜV tehenekben volt a legalacsonyabb, de a különbség csak a vemhes csoporthoz viszonyítva volt szignifikáns mértékű ($p < 0,05$).

A vérplazma megemelkedett NEFA koncentrációja fokozott lipidmobilizációra utal, melynek szintje mindaddig magas marad, amíg a szervezetben negatív energiamérleg áll fenn (PARKER és BLOWEY, 1976). Metabolikus felmérő vizsgálatunk során a BHB és a NEFA plazmakoncentrációja mind a négy csoportban élettani határértékek között volt, ami az ellés utáni fiziológias negatív energiamérleg erre az időszakra (átlagosan 108 nappal az ellés után) bekövetkező sikeres kompenzációjára utal. A csoportok között csupán statisztikailag igazolható különbség ($p < 0,05$) mutatkozott a vérplazma NEFA koncentrációjában, a legalacsonyabb értékeket az üres ciklikus petefészek-működésű és a vemhes csoportokban mértük. A vemhes tehenek csoportjában

a NEFA vérplazma koncentrációja nem haladta meg az élettani határértéket ($<0,4$ mmol/l; GAÁL, 2000). Az ÜC csoport egyedeinek 8,3%-ában (2/24), az ÜNSA egyedeinek 20%-ában (3/15) és az ÜV csoport egyedeinek 31,6%-ában (6/19) viszont a határértéket meghaladó értéket tapasztaltunk. Korábbi hazai vizsgálatok során (HARASZTI és mtsai, 1985; HUSZENICZA és mtsai, 1988) a szubklinikai anyagcserezavarokat mutató állatokban az ivari ciklus késedelmes beindulását tapasztalták csakúgy, mint REIST és munkatársai (2000), akik pozitív összefüggést találtak a vérplazma emelkedett NEFA és BHB koncentrációja, valamint az ellés utáni aciklikliás periódus hossza között. Saját vizsgálatunkban ugyanakkor szignifikánsan magasabb ($p<0,05$) BHB plazmakoncentrációt csak a visszaivarzó csoportban tapasztaltunk. Hazai és nemzetközi szerzők vizsgálataikban (HUSZENICZA és mtsai, 2003a; MARR és mtsai, 2002) az ellés utáni első domináns tüszőkkel rendelkező, de nem ovuláló tehenek vérplazmájában magasabb NEFA és BHB koncentrációt, májukban nagyobb mértékű triglicerid akkumulációt tapasztaltak, mint az ovuláló állatokban. Ezt igazolta BUTLER (2005) vizsgálata is, mely szerint a NEFA és a BHB magas plazmakoncentrációja gátolja a tüszők ösztrogén termelését, ezáltal az ovulációt. A NEFA és a BHB magas vérplazma koncentrációja negatívan befolyásolja a tüszők egyes metabolikus hormonokkal (inzulin, IGF-1) szembeni érzékenységét és csökkenti a hipotalamusz LH pulzus frekvenciáját (CANFIELD és BUTLER, 1990). Ily módon a máj zsírsavmetabolizmusa központi szerepet játszik az első ovuláció időpontjában.

A húgysav koncentrációjának kismértékű emelkedését tapasztaltuk az ÜC (4/24), az ÜV (2/19) és a vemhes csoportokban (4/21), de az értékek minden esetben a fiziológiás határértékeken belül voltak. A legalacsonyabb húgysav koncentrációt az ÜNSA tehenek csoportjában ($38,9$ $\mu\text{mol/l}$) mértük, ami szignifikáns mértékben kisebb volt a vemhes tehenek csoportjában mért ($46,5$ $\mu\text{mol/l}$) értékeknél.

A vizsgált csoportokban a vérplazma átlagos karbamid koncentrációja az élettani határértékek (3-7 mmol/l; GAÁL, 2000) között volt. Az emelkedett karbamid koncentráció fertilitásra gyakorolt negatív hatását számos korábbi vizsgálatban igazolták (BUTLER és mtsai, 1996; ROPSTAD és REFSDAL, 1987; FERGUSSON és mtsai, 1988; ELROD és BUTLER, 1993; GUSTAFFSON és CARLSSON, 1993), azonban más szerzők (O'CALLAGHAN és mtsai, 1999; GATH és mtsai, 1999; MANN és mtsai, 2005) nem találtak ilyen kapcsolatot. Saját vizsgálatunk során, mivel a mért szintek nagyrészt alatta maradtak a szaporodásbiológiai szempontból kritikusnak tartott kb. 7 mmol/l határértéknek (BUTLER és mtsai, 1996, BUTLER, 1988), nem találtunk értékelhető összefüggést a karbamid koncentráció és a vemhesülés között. Szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,05$), de még az élettani határértéken belüli értéket pedig csak az ÜNSA csoportban tapasztaltunk.

Vizsgálatunk során az α -tokoferol- és a β -karotin szérumszintje az üres ciklikus teheneiben nem érte el a többi csoport átlagát, és ez a különbség az ÜV és az ÜNSA csoporthoz viszonyítva szignifikáns mértékű ($p < 0,05$) volt. A β -karotin átlagos szérumszintje egyik csoportban sem érte el a minimális 3000 $\mu\text{g/l}$ -es élettani határértéket (SCHERF és mtsai, 1994). Az ÜC csoport 83,3%-ában, az ÜNSA csoport 64,7%-ában, a vemhesek 66,6%-ában és az ÜV csoport 73,7%-ában alacsony karotin szérumszintet tapasztaltunk, ami a vizsgált állományok nem kielégítő karotinellátására utal. A vérplazma glükóz és a vészsérumszintje tekintetében, a vizsgált csoportok között nem találtunk statisztikailag igazolható különbségeket. A vizsgált metabolikus paraméterek között számított korrelációs összefüggéseket a 7. táblázatban mutatom be.

7. táblázat: Korrelációs értékek a vizsgált metabolikus vérparaméterek között

	α -tokoferol	retinol	β -karotin	glükóz	húgysav	karbamid	NEFA
retinol	ns						
β -karotin	0,69 ^{***}	ns					
glükóz	ns	ns	Ns				
húgysav	ns	ns	0,21 [*]	ns			
karbamid	ns	0,33 ^{**}	-0,33 ^{**}	-0,20 [*]	Ns		
NEFA	ns	ns	Ns	ns	Ns	ns	
BHB	ns	ns	-0,28 [*]	ns	Ns	0,3 ^{**}	ns

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$, ns: nincs szignifikáns különbség

Más szerzőkhöz hasonlóan (KATSOULOS és mtsai, 2005) szoros szignifikáns pozitív kapcsolatot ($r=0,69$, $p < 0,001$) tapasztaltunk a vérérum α -tokoferol és β -karotin koncentrációja között. Az A- és E-vitamin fertilitásra, az általános egészségi állapotra és a szervezet antioxidáns rendszerére gyakorolt pozitív hatását számos vizsgálatban igazolták (MICHAL és mtsai, 1994; RAJIV és HARJIT, 2004; WEISS és mtsai, 1990). BATRA és munkatársai (1992) vizsgálataik során alacsonyabb E-vitamin és β -karotin koncentrációt és a tejmintákban magasabb szomatikus sejtszámot tapasztaltak tögygyulladás esetén, mint az egészséges tehenekben. NISHIMURA és munkatársai (1997) az embrió-beültetés során vemhesült és üresen maradt recipiens tehenek vérmintáiban nem találtak különbséget a α -tokoferol, koleszterin, β -karotin és a progeszteron plazmakoncentrációja között. Lazább, de szignifikáns összefüggést találtunk a retinol és a karbamid ($r=0,33$, $p < 0,01$), a húgysav és a β -karotin ($r=0,21$, $p < 0,05$) valamint a karbamid és a BHB ($r=0,3$, $p < 0,01$) koncentrációja között. Közepesen erős ($r=-0,33$, $p < 0,01$) negatív korreláció volt a plazma karbamid és a szérum β -karotin koncentrációk között csakúgy, mint a β -karotin és a BHB ($r=-0,28$, $p < 0,05$) valamint a glükóz és karbamid ($r=-0,20$, $p < 0,05$) koncentrációk esetében.

A metabolikus vérparaméterek és hormonok vizsgálatán keresztül a fent leírtak szerint tehát jól nyomon követhetők a szervezetben zajló változások. Bizonyított, hogy az ellést követő időszakban fellépő energiahányos állapot a

hipotalamusz-hipofízis-petefészek tengely szabályos és ciklikus hormonleadásának gátlásán keresztül negatív irányban befolyásolja a későbbi termékenyülést, így a szaporasági mutatók alakulását. A vemhesség utolsó heteiben már megindul az ellés utáni első ivarzáskor, illetve termékenyítéskor ovuláló tüsző fejlődése. A tüsző érése viszont már az ellést követő energiahiányos (kritikus) időszakban zajlik le (BRITT, 1991). Az energiahiány kedvezőtlen belső környezetet jelent a tüszőben fejlődő petesejt számára és annak minőségét is ronthatja (HUSZENICZA és mtsai, 2003c). Feltételezésünk, miszerint az ellést követő energiahiányos állapot negatív hatása érezhető az ellést követő első sikeres termékenyítést követően, a vemhesség első hónapjában, nem igazolódott be. Vizsgálataink során csupán statisztikailag igazolható eltéréseket tapasztaltunk a különböző szaporodásbiológiai állapotokat jellemző metabolikus paraméterek között, az eltérések azonban élettanilag nem voltak jelentősek. Vizsgálataink ugyanakkor igazolták, hogy a tehenek szervezete megfelelő energiaellátás mellett, erre az időszakra már kompenzálta a laktáció elején kialakuló, egyébként fiziológiásnak tekinthető, energiahiányos állapotot.

A vizsgálat eredményeinek összefoglalásaként elmondható, hogy a statisztikailag igazolható kismértékű különbségek ellenére az ellés utáni 90. és 120. nap között már élettanilag igazolható összefüggések nem mutathatók ki a vemhesülés, az üres állatok petefészek-működése és a fehérje- és energia-ellátottságot jellemző metabolikus vérparaméterek között. Az a következtetés is levonható, hogy a szervezetben zajló biokémiai változások nyomon követésére az egyszeri mintavételezés nem szolgáltat pontos és kielégítő eredményt, ezért a következő kísérletben az ellés után kialakuló NEB mértékének vizsgálatára és az annak kompenzálására alkalmazott energiakiegészítés hatásának vizsgálata során, a laktáció korábbi szakaszában többszöri mintavételezést alkalmaztunk.

4.4. Az antioxidánsokat, élesztőt és omega-3 zsírsavat tartalmazó takarmányfejadag etetésének hatása a tejelő szarvasmarhák energia-háztartására és fertilitására

Vizsgálatunk során a kísérleti és kontroll állatok takarmányozása között eltérés kizárólag a speciális takarmány-kiegészítők alkalmazásában volt (8. táblázat), amely a fejadag táplálóanyag- tartalmában nem, vagy alig okozott eltérést, amit a takarmányvizsgálati adatok is alátámasztottak. (9. táblázat).

8. táblázat: A kontroll és a kísérleti csoportban etetett fejadagok összetétele (700 kg-os testtömege és 3,6%-os tejszírtartalomra számítva)

	Szárazonállás ¹	Elléstől az 50. napig	Az ellést követő 50. naptól	
			kontroll	kísérleti
Kukorica-köles szilázs	20	23	29	29
Rétiszéna	6	-	-	-
Lucerna szenázs	-	4	5	5
Nedves répaszelet	-	6	8	8
Kukoricadara	0,5	5	6,5	6,5
Extrudált szója	-	2,5	3	3
Glicerin	-	0,3	-	-
Vitapop Start ²	2	-	-	-
Premix ³	-	0,3	0,3	0,3
Koncentrátum ⁴	-	2,5	2	2
I. kiegészítés ⁵	1	-	-	-
II. kiegészítés ⁶	-	1	-	-
III. kiegészítés ⁷	-	-	-	1

¹Szárazonálló: az ellés előtti 3. héttől

²Vitapop Start (Vitafort ZRt): védett fehérje koncentrátum, napraforgó, repce, niacin, foszfor, E és A vitamin, mikroelemek

³Premix (Vitafort ZRt): mikro- és makroelemek, E és A vitamin

⁴Concentrátum (Vitafort ZRt): védett fehérje és védett zsír, napraforgó, repce, Casszapan, E és A vitamin, mikroelemek

⁵Kiegészítés I.: β -karotin, E-vitamin, inaktivált élesztő, szelén és mikroelem kelátok

⁶Kiegészítés II.: Glukofort 50TM (Vitafort Zrt, Dabas): NE_L (MJ/kg) 6,2; 40% glicerin, 6% szorbit, 4% Mg-propionát, 50% darált kukoricacsutka

Eredmények és megbeszélésük

⁷Kiegészítés III.: 200g roppantott lenmagdara, 1g 2000mg/kg koncentrációjú szelénés élesztő, 50g élesztő (Diamond XP), 200 mg β-karotin

9. táblázat: A kontroll és a kísérleti csoportban etetett fejadagok számított és mért táplálóanyag-tartalma

	Szárazonállás ¹		Elléstől az 50. napig		Az ellést követő 50. naptól			
					kontroll		kísérleti	
	számított	mért ²	számított	mért ²	számított	mért ²	számított	mért ²
Száranyag felvétel (kg)	13,2		21,8		23,1		24,1	
NE _i (MJ)			7,3		6,8		6,9	
Nyersfehérje (g/kg)	119,6	12,1±1,2	170,4	16,4±1,3	166,5	16±1,7	172	17,5±1,7
MFE (g/kg)	81,9		101,6		101,6		103,1	
MFN (g/kg)	75,1		110,3		106		107,8	
Lebontható fehérje (g/kg)	74,4		109,8		105,3		107,9	
Bypass fehérje (g/kg)	45,2		60,6		61,2		64,1	
Nyerszsír (g/kg)	25,3	21,2±0,8	55,1	5,6±2,2	45,9	5,1±1,5	53,5	5,9±1,5
Nyersrost (g/kg)	323,5		221,8		224,6		230,9	
NDF		49,5±4		34,5±3,2		39,5±4,1		39,2±3,1
ADF		31,3±2,8		16,6±1,2		21±1,6		21,2±1,4
Kalcium (g/kg)	4,9		9,1		8,2		8,2	
Foszfor (g/kg)	3,8		4,6		4,4		4,5	
Karotin (mg/kg)		20,1±1,1		17,2±0,8		16,3±0,2		27,5±0,9

¹Szárazonálló: az ellés előtti 3. héttől

²a vályúmintából mért táplálóanyag-tartalom a szá.%-ban kifejezve ill. mg/kg értékben kifejezve a karotintartalom esetében

FERGUSSON és mtsai vizsgálatai szerint (2006) a digitális technika (fotó, videó) használatával az állatok testkondíciója a gyakorlatban alkalmazott 5 pontos kondícióbírálatnál objektívebb módon ítélni lehet, hiszen annak eredménye javarészt a bíráló személy szubjektív megítélését tükrözi. Az egy állaton sorozatosan vagy a különböző telepeken egyszeri alkalommal végzett bírálat csak akkor tekinthető objektívnek, ha minden alkalommal ugyanaz a személy végzi. A különböző személyek által végzett bírálatok szubjektív hibával terheltnek lehetnek, ezért kidolgoztunk egy fotografikus alapon történő bírálati módszert. A kondícióváltozás objektívebb vizsgálatának érdekében a vizsgált állatokról állandó távolságból és szögből fényképeket készítettünk a telepeken. Minden mintavétel alkalmával, összesen 8 alkalommal 2 kép készült a vizsgálatban résztvevő egyedekről. Ahogy az a 15. ábrán látható, a kísérlet végén a képeket egymás mellé másolva és azokat pontozva próbáltunk egy jóval objektívebb kondícióbírálati rendszert kialakítani.

Eredmények és megbeszélésük



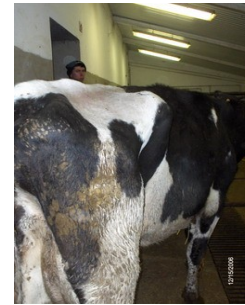
0. nap (ellés)



ellés utáni 7. nap



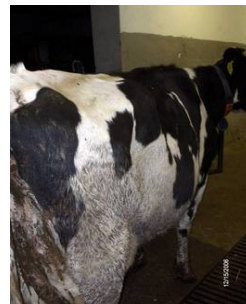
ellés utáni 15. nap



ellés utáni 30. nap



ellés utáni 50. nap



ellés utáni 70. nap



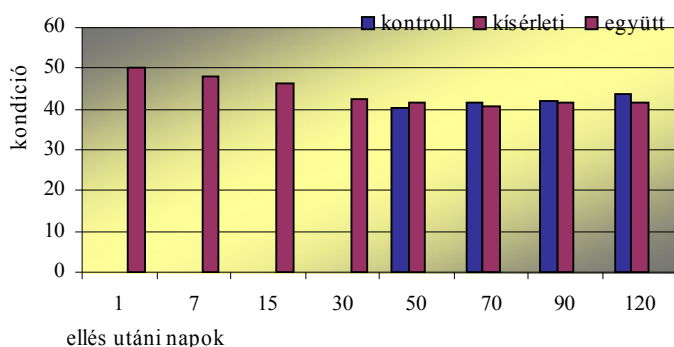
ellés utáni 90. nap



ellés utáni 120. nap

16. ábra: A kondícióbírálat alapjául szolgáló képek

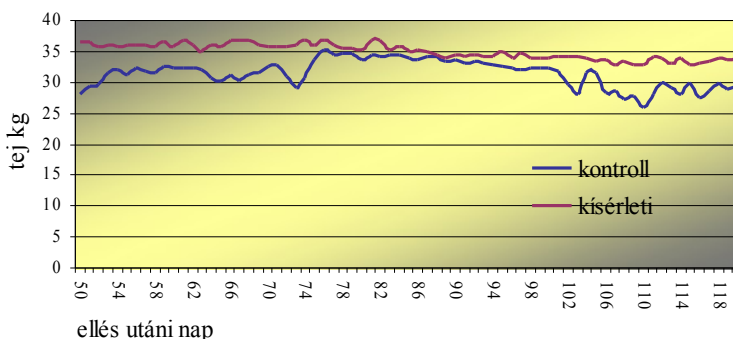
Közismert, hogy a laktáció első heteiben a tejtermelés energiaszükségletének növekedésével az állatok energiahányos állapotba kerülnek. Az energiaszükséglet fedezése céljából az állat saját testének energiataralékait mozgósítja, melynek következtében az energiahányos állapot elmélyülhet és a testtömegvesztés fokozódhat (STAPLES és mtsai, 1998). Az energiahány mérséklésének céljából az állatok takarmányfejadagját az elléstől az 50. postpartum napig GlukofortTM kiegészítéssel, majd ezt követően ω -3 zsírsavat, élesztőt és antioxidánsokat tartalmazó kiegészítéssel láttuk el. Az elléstől az 50. napig gyors kondícióromlást tapasztaltunk a vizsgálatba bevont állatoknál.



17. ábra: A testkondíció változása az elléstől a 120. napig

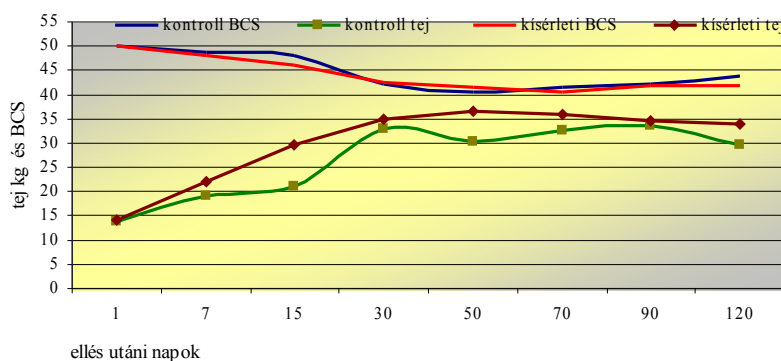
A termékenyítés időpontjától (ellés utáni 70-76. nap) kezdődően az állatok testkondíciójában kismértékű javulás mutatkozott (17. ábra). A gyakori kondícióbírálattal ellenére sem tapasztaltunk statisztikailag is igazolható különbséget a két csoport testkondíció változásában. Kérdőzökben, mindenekelőtt tejhasznú tehenekben a takarmányok többszörösen telítetlen zsírsavakat tartalmazó zsírforrásokkal történő kiegészítése egyike azoknak a lehetőségeknek, amelyek révén a tejtermelés növelése mellett a szaporodási mutatók is javíthatók. Vizsgálatunkban hasonlóan PETIT és mtsai eredményeihez (2001, 2002, 2004) az alkalmazott ω -3 zsírsav-kiegészítés hatására a kísérleti cso-

portban magasabb tejtermelést tapasztaltunk. A kísérleti csoport tehenenkénti átlagos tejtermelése 35,5 kg volt, ami átlagosan 3,6 kg/tehen/nap mennyiséggel haladta meg a kontroll csoport 31,9 kg-os átlagos termelését a laktáció 50. és 120. napja között (18. ábra).



18. ábra: A tejtermelés alakulása a kontroll és a kísérleti csoportokban az ellés utáni 50. és 120. nap között

Vizsgálatunkban is beigazolódott a jól ismert összefüggés, miszerint a tejtermelés növekedésével romlik az állatok testkondíciója (19. ábra).

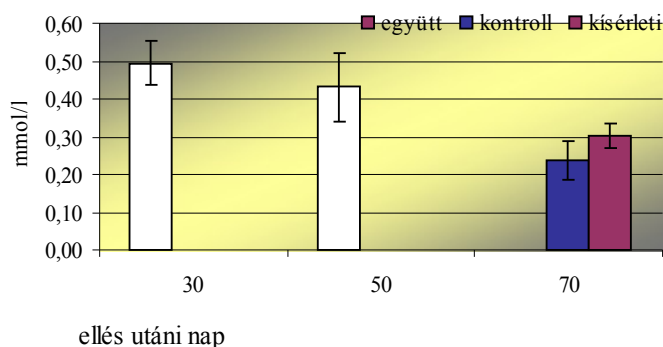


19. ábra: A tejtermelés és a testkondíció változása a kontroll és a kísérleti csoportban

A 19. ábrán látható, hogy a két csoport tejtermelési és testkondíció görbéje eltérő lefutású. A kontrollcsoport állataiban a kondícióromlás a kísérleti cso-

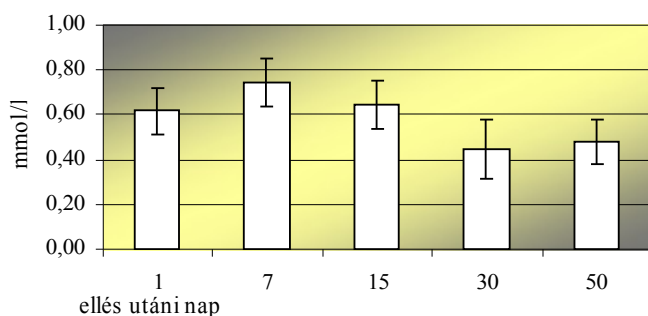
porthoz viszonyítva az ellést követően kifejezettebb, az alacsonyabb tejtermelés ellenére is. A kontroll tehének kondíciója mélypontját az 50. nap környékén érte el, amikor a tejtermelésben is kisebb visszaesés volt tapasztalható. A kísérleti csoportban a jelen vizsgálat során alkalmazott takarmánykeverék hatására az állatok testkondícióváltozása a magasabb tejtermelés ellenére is kiegyenlítettebbnek mondható. Ez azt jelenti, hogy a zsírkiegészítés hatására javult az állatok energiaellátottsága, így csökkent a NEB mértéke. A laktáció csúcsát követően a tejmennyiség csökkenésével együtt járó kondíciójavulás mindkét csoportban megfigyelhető volt.

A tápláltsági állapot romlását a vérplazma jellegzetes klinikai kémiai változásai kísérik (GARNSWORTHY és TOPPS, 1982). A zsírkiegészítés hatására megemelkedhet bizonyos metabolikus hormonok (inzulin és IGF-1) perifériás vérszintje (KUNZ és mtsai, 1985). Számos vizsgálatban (MOALLEM és mtsai., 1997; PETIT és mtsai., 2002; DRACKLEY és mtsai, 1992; OLDICK és mtsai, 1997) a fejadag zsírokkal történő kiegészítésének hatására megemelkedett az állatok vérplazma NEFA koncentrációja. Saját vizsgálatunkban azt tapasztaltuk, hogy az ellés utáni 30., és 50. napon a NEFA koncentrációja kismértékben meghaladta a fiziológiás értéket. Ez az érték az ellés utáni 70. napra az élettani határ alá csökkent. Elmondható továbbá, hogy a kísérleti takarmánykeverék etetésének időszakában nem volt szignifikáns különbség a kísérleti és a kontroll állatok vérplazma koncentrációjában (20. ábra).



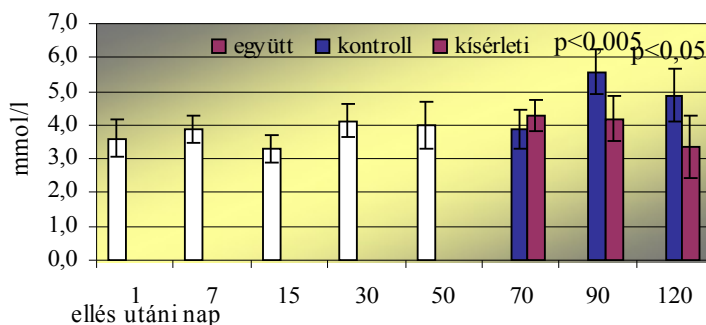
20. ábra: A NEFA koncentráció alakulása az ellést követő 30. és 70. nap között

VAN KNEGSEL és mtsai vizsgálatukban (2002) megfigyelték, hogy a laktáció elején alkalmazott szénhidrát kiegészítés a zsírkiegészítéssel szemben csökkentette a tej zsírtartalmát és az ezzel együtt ürülő energia mennyiségét, aminek következtében javult az állatok energia-egyensúlya. Saját vizsgálatunkban az elléstől az 50. napig, ami egybeesett a glükogenetikus takarmánykiegészítés időszakával, a BHB koncentrációja nem haladta meg a fiziológias normálértéket (0,8 mmol/l), ami a GlukofortTM kiegészítés energiaháztartásra gyakorolt pozitív hatásával magyarázható. A BHB vérplazma koncentrációja az ellés utáni 7. napig emelkedett, majd ezt követően az 50. postpartum napig csökkent.



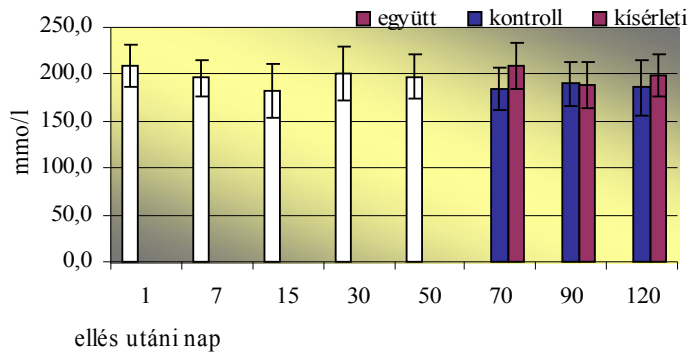
21. ábra: A BHB koncentráció alakulása elléstől az 50. postpartum napig

A vérplazma karbamidkoncentrációja nem haladta meg a fiziológias értéket az elléstől a 120. napig. Szignifikáns különbséget a 90. és 120. napokban vett vérmintáiban találtunk, a kísérleti csoport vérplazma mintáiban alacsonyabb volt a karbamid koncentrációja. (22. ábra).



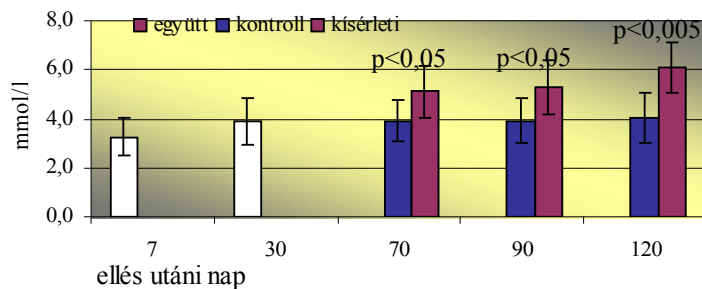
22. ábra: A karbamid koncentráció alakulása az elléstől a 120. napig

Az oxidatív stressz során a szabadgyökök termelődésének és megkötésének egyensúlya elengedhetetlen a sejtek és szövetek homeosztázisához. Az egyensúly megbomlása sejtkárosodáshoz vezet (BERRY és KOHEN, 1999), ami a reprodukcióra is negatívan hat. A szabadgyökök károsíthatják a spermatozoákat (GRIVEAU és mtsai, 1995) és az anyaméhbe még nem implantálódott embriókat (FUJITANI és mtsai, 1997). Ezért vizsgálatunkban az állatok a szárazonállás alatt antioxidáns kiegészítést kaptak (β -karotin és szelén). A vérplazma antioxidáns-kapacitásának mérésére a FRAP meghatározást használtuk. A vérplazma FRAP koncentrációja a normál tartományban volt a vizsgálat egész időtartama alatt és nem volt igazolható különbség a vérplazma antioxidáns-kapacitásában (23. ábra).



23. ábra: A FRAP koncentráció alakulása az elléstől a 120. napig

Az ellés utáni 50. naptól alkalmazott karotinkiegészítés hatására a vérplazma összkarotin koncentrációja a kísérleti csoportban szignifikáns mértékben meghaladta a kontroll csoportban mért koncentrációt (24. ábra).



24. ábra: A vérplazma összkarotin koncentrációjának alakulása az elléstől a 120. napig

Számos vizsgálatban a zsírkiegészítés pozitív hatással volt az első termékenyítés (CARROLL és mtsai, 1994; FERGUSON és mtsai, 1990; SCHNEIDER és mtsai, 1988) és az azt követő termékenyítések eredményességére (ARMSTRONG és mtsai, 1990; BURKE és mtsai, 1996; CARROLL és mtsai, 1994; FRAJBLAT és BUTLER, 2003; PETIT és mtsai, 2001; SCOTT és mtsai, 1995; SKLAN és mtsai, 1991; SON és mtsai, 1996), melynek követ-

kezményeképpen csökkent a két ellés között eltelt idő hossza (SKLAN és mtsai, 1991). PETIT és munkatársai (2001) kedvezőbb vemhesülési eredményeket tapasztaltak (87,5% vs. 50%), linolénsavban (C18:3, ω -3) gazdag lenmag etetésekor, mint a palmitinsavban (C16:0) és olajsavban (C18:1, ω -9) gazdag palmaolaj Ca-észterinek etetésekor. Saját vizsgálatunkban a kísérleti csoport vemhesülési eredményei kismértékben elmaradtak a kontroll csoport eredményeitől, vagyis az alkalmazott, megnövelt ω -3 zsírsavtartalmú kiegészítés vemhesülésre gyakorolt pozitív hatását nem tudtuk igazolni (10. táblázat).

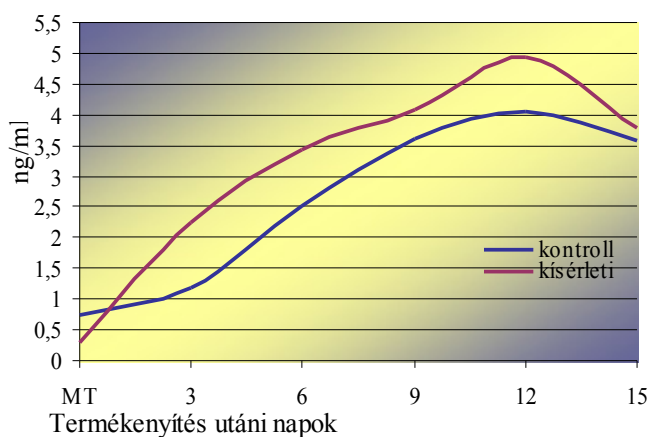
10. táblázat: Fertilitási eredmények

	Kontroll	Kísérleti
Létszám	16	50
Termékenyítések száma	14	34
Első termékenyítésre vemhesült	8	14
Acikliás petefészekműködés	5	6

A kísérleti csoportban az első termékenyítés eredményessége 41,2%, a kontroll csoportban 57,1% volt. Az állatok petefészek-működését a 16 alkalommal vett tejmintákból meghatározott P4 koncentrációk alapján elkészített progeszteron profilok segítségével értékeltük. LUCY és mtsai (1991) vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy azokban az állatokban, amelyek energetikai státusza csaknem egyensúlyi helyzetet tükrözött, az ellést követő 25 napon belül a harmadlagos tüszők közül a legnagyobb méretűek (10-15mm) száma megnövekedett, nem változott azonban a kis (3-5mm) és a közepes (6-9mm) nagyságúaké. A domináns folliculusok végső tüszőérésre való esélye tejhasznú tehenekben tehát elsősorban energetikai egyensúlyuktól függ. A domináns folliculusok végső átmérője és 17 β -ösztadiol (E2) termelő képessége egyaránt metabolikus hatások által befolyásolt, hiszen a NEB mélypontját köve-

tően a domináns folliculusok átmérője és a plazma E2 szintje egyaránt emelkedik (BEAM és BUTLER, 1997; 1999).

Tejtermelő tehenek esetében az ellés utáni hetekben végzett ciklusindukciós kezelések sikeressége - vagyis, az acikliás petefészekműködés ciklikussá válása - nagyban függ az állatok energiaellátottságától (HUSZENICZA és mtsai, 2003c; 2005). Vizsgálatunk során a termékenyítést követően a kísérleti takarmánykiegészítést fogyasztó tehenekben az átlagos tej progeszteron koncentráció magasabb volt, és gyorsabban emelkedett, mint a kontroll tehenekben (25. ábra).

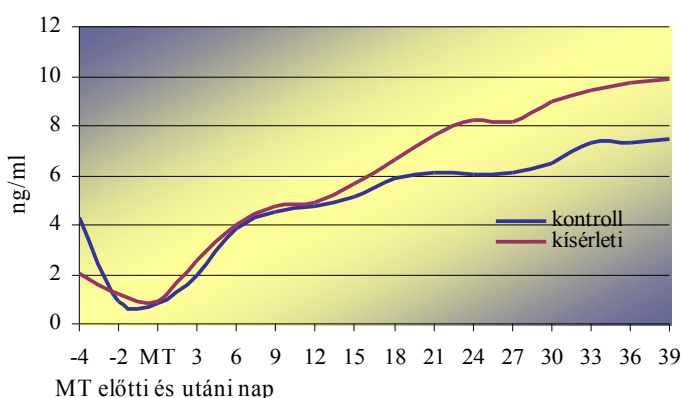


25. ábra: A termékenyítés utáni progeszteronkoncentráció alakulása a kontroll és a kísérleti csoportban. A szinkronizációt követően a kontroll csoportban a termékenyítések száma 14, a kísérleti csoportban 34 volt.

Ennek megfelelően a kísérleti csoport egyedeinek több mint 80%-ában ciklikus petefészek-működést tapasztaltunk, szemben a kontroll csoport 65%-ával.

A kérődzőkben a posztovulációs P4-szintemelkedésnek meghatározó szerepe van nem csak a vemhesülésre, de annak pozitív hatását az embrió korai fejlődésére is számos korábbi tanulmány igazolta (DARWASH ÉS LAMMING,

1998, NEPHEW és mtsai, 1991). Vizsgálatunkban a termékenyítés utáni 15. és 39. nap között a vemhesült kísérleti tehenek tejmintáiból magasabb progeszteron koncentrációt mértünk (26. ábra). A kísérleti csoport magasabb P4 koncentrációjának hátterében az ω -3 zsírsav PGF2 α termelését gátló magzatvédő hatása, a β -karotin és szelén általános antioxidáns és immunrendszer támogató hatása, valamint a petefészekműködésre gyakorolt pozitív hatása áll. DARWASH és LAMMING korábbi (1997) megfigyelését saját vizsgálatunk is alátámasztja, miszerint a vemhesült tehenekben a P4-szintemelkedés a termékenyítést követő 4. npra elérte a 3 ng/ml értéket, ezzel szemben a nem vemhesült állatokban erre csak kb. 24 órával később került sor.



26. ábra: A progeszteron plazma koncentráció alakulása a kontroll (n=10) és a kísérleti csoport (n=16) vemhes tehenekben

A megnövekedett tejtermelés lényegesen nagyobb energiaigényt jelent a szervezet számára, ezért a másodlagos tulajdonságokban, így a szaporodásban is visszaesés következhet be, továbbá megnőhet egyes anyagcsere és reprodukciós rendellenességek előfordulásának gyakorisága (BEAM és BUTLER, 1999; BUTLER 2000). A takarmányok többszörösen telítetlen zsírsav tartalmának megválasztásával tudatosan befolyásolhatjuk az involúció lefolyását és a vemhesség anyai szervezet részéről történő felismerését, a progeszteron-

termelést, vagyis csökkenthetjük a korai embrionális veszteségeket (BILBY és mtsai, 2006b; THATCHER és mtsai, 2006).

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az üzemi körülmények között végzett vizsgálatunk során tapasztalt késői (a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között) embrionális és magzati veszteség mértéke 15,5% volt mérsékelt tejtermelési színvonal mellett. Ez az érték megegyezik a szakirodalmi adatokkal, valamint felhívja a figyelmet az embrionális és magzati veszteségek jelentős mértékére, különösen a nagy termelésű tehenészetekben, ahol ennek mértéke a 20%-ot is meghaladhatja (VAS-CONCELOS és mtsai, 1997).

Vizsgálatunk során a 45 kg-t meghaladó napi tejtermelés esetén 30%-os veszteséget tapasztaltunk, ami igazolni látszik azt a feltevést, miszerint a tejtermelés növekedésével a magzatvesztés mértéke megemelkedik. A fentiek alapján úgy vélem nem kétséges, hogy e veszteségek a vemhesülési eredmények romlásán és az ebből fakadó tehénselejtezések révén jelentős gazdasági károkat okoznak. A tejtermelés genetikai és takarmányozási hatások kombinációján keresztül van befolyással a szaporaságra, ezért nem lehet eléggé hangsúlyozni a magas genetikai értékű, nagy tejtermelésű állományok táplálóanyagigényének fontosságát, hiszen annak kielégítésével a veszteségek döntő hányada mérsékelhető.

Módszertani vizsgálatunk egy olyan rutinvizsgálat kidolgozására irányult, mely során a korai vemhességvizsgálatot követően ugyanazokból a vérmin-tákból az állatok tápanyag-ellátottságának, és metabolikus státuszának felmérésére további vizsgálatokat végezhetnénk el. A korai vemhességvizsgálatra 1 napos postai út után teljes vérminta érkezik be a laboratóriumba, ahol a vérplazma szeparálásra csak ezt követően van lehetőség. Az eredményeink alapján elmondható, hogy a 24 órán át el nem választott, majd centrifugálással elválasztott vérplazmamintákból a glükóz, foszfor, kalcium, karbamid és az

összfehérje koncentráció, továbbá az ALT, AST és LDH aktivitás meghatározás nem ad megbízható eredményt. Következésképpen elmondható, hogy a teljes vérmintában a vérplazma elválasztásáig további biokémiai folyamatok zajlanak, amelyek negatív irányban befolyásolják a meghatározás pontosságát és a mérés megbízhatóságát. Kapott eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a vizsgált májenzimek aktivitásának vizsgálatára csak a vérvétel után azonnal lecentrifugált plazmaminták használhatók. Vizsgálatunk során azt tapasztaltuk, hogy a választott paraméterek meghatározásához a vérvétel után centrifugálással elválasztott vérplazma minták használhatóak, amelyeket a meghatározások elvégzéséig - maximum 24 óra - hűtve kell tárolni. Amennyiben ez nem megoldható, a mintákat a meghatározások elvégzéséig -18 vagy -70°C-on kell tárolni. Az állatok táplálóanyag-ellátottságának felmérésére választott paraméterek közül a kalcium és foszfor, a szénhidrát-, fehérje- és zsíryanycsere felmérésére választott paraméterek közül a glükóz, összfehérje, triglicerid és koleszterin vérplazmakoncentrációja nem haladta meg a fiziológiás értéket az ellés utáni 40-110. nap között. Ez alapján elmondható, hogy a felsorolt paraméterek az ellést követő időszakban kialakuló energiahiányos állapot idején arra jellemző változást nem mutatnak, vagyis a táplálóanyag-ellátás és a metabolikus státusz felmérésére nem alkalmasak.

Vizsgálatunkban - a statisztikailag igazolható kismértékű különbségek ellenére - az ellés utáni 90. és 120. nap között már élettanilag igazolható összefüggést nem tudtunk igazolni a vemhesülés, az üres állatok petefészek-működése a táplálóanyag-ellátottság és a metabolikus státusz jellemzésére választott vérparaméterek között. A kapott eredmények háttérében az áll, hogy a tehenek szervezete megfelelő energiaellátottság mellett, erre az időszakra már kompenzálta a laktáció elején kialakuló, egyébként fiziológiásnak tekinthető, energiahiányos állapotot.

Irodalmi adatokkal egyezően (PETIT és mtsai, 2001; 2002; 2004) kísérletünkben az alkalmazott ω -3 zsírsavban gazdag zsírkiegészítés a tejtermelés növekedéséhez vezetett a kísérleti csoportban. A kísérleti és a kontroll állatok testkondícióváltozása között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. Az ellés utáni 50. naptól alkalmazott karotinkiegészítés hatására a vérplazmában szignifikánsan magasabb összkarotin koncentrációt tapasztaltunk. A vérplazma BHB koncentrációja nem haladta meg a fiziológiás normálértéket az elléstől az 50. napig, ami egybeesett a glükogenetikus takarmánykiegészítés időszakával, ami a kiegészítés energiaháztartásra gyakorolt pozitív hatásával magyarázható. Számos vizsgálatban (MOALLEM és mtsai., 1997; DRACKLEY és mtsai, 1992; OLDICK és mtsai, 1997) a fejadag zsírokkal történő kiegészítésének hatására megemelkedett az állatok vérplazma NEFA koncentrációja. Saját vizsgálatunkban azt tapasztaltuk, hogy az ellés utáni 30., és 50. napon a NEFA koncentrációja még kismértékben meghaladta a fiziológiás értéket, de az ellés utáni 70. napra az élettani határ alá csökkent. Az eredmények alapján elmondható, hogy az alkalmazott kiegészítések jótékony hatást gyakoroltak az állatok energiaháztartására. A kiegészítést fogyasztó teheneiben a termékenyítés után az átlagos tejprogeszteron koncentráció magasabb volt és szintje gyorsabban emelkedett, mint a kontroll teheneiben. Nagyobb hányaduk rendelkezett ciklikus petefészek működéssel, ami azt jelenti, hogy az omega-3 zsírsavat, élesztőt, β -karotint és szelént tartalmazó kiegészítés pozitívan befolyásolja a petefészek ciklikus működését. A kiegészítés a vemhesülési arányra nem, azonban az azt fogyasztó vemhesült állatok progeszterontermelésére pozitív hatással volt. A termékenyítés utáni 15-39. nap között tapasztalt magasabb progeszteron koncentráció segíti a vemhesség fennmaradását azáltal, hogy megnöveli a magzatok túlélésének valószínűségét (DARWASH ÉS LAMMING, 1998). A kapott eredmények arra utalnak, hogy a takarmányok többszörösen telítetlen zsírsav tartalmának megválasztásával tu-

datosan befolyásolhatjuk a progeszteron termelést és a vemhesség anyai szervezet részéről történő felismerését, ami által csökkenthetjük a korai embriónális veszteségeket.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Az embrionális és magzati veszteségeket felmérő vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy üzemi körülmények között a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között bekövetkező késői embrionális és magzati veszteség mértéke 15,5%.
2. Megállapítottuk, hogy a vérplazma foszfor, triglicerid, koleszterin, glükóz, kalcium és összfehérje koncentrációja az ellést követő 40-110. nap között nem haladta meg a fiziológiás határértékeket, az ebben az időszakban kialakuló energiahiányos állapotra jellemző változást nem mutat.
3. Megfelelő energiaellátás mellett az ellés utáni 90-120. nap között, a vemhesség első hónapjában nem mutatható ki összefüggés a vemhesülés, az üres állatok petefészek-működése és a β -hidroxivajsav, a nem észterifikált zsírsav és a karbamid vérplazma koncentrációja között, ami azt jelenti, hogy az állatok szervezete erre az időszakra már kompenzálta a laktáció elején kialakuló, egyébként fiziológiásnak tekinthető energiahiányos állapotot.
4. Nagy mennyiségű omega-3 zsírsavat, élesztőt, β -karotint és szelént tartalmazó takarmány-kiegészítés hatására az azt fogyasztó vemhesült tehenek tejmintáiban szignifikánsan magasabb progeszteronkoncentráció mutatható ki a termékenyítés utáni 15. és 39. nap között, ami segíti a vemhesség fennmaradását. A magasabb és gyorsabb posztovulációs progeszteronszintemelkedés pozitív hatással van az embrió korai fejlődésére, ezáltal csökkenti a korai embrionális veszteségek bekövetkezésének valószínűségét.

5. Az ellés utáni 50. naptól alkalmazott omega-3 zsírsavat, élesztőt, β -karotint és szelént tartalmazó kiegészítés pozitívan befolyásolja a petefészek ciklikus működését, és progeszterontermelését. A termékenyítést követően, a kiegészítést fogyasztó tehenek nagyobb hányada rendelkezett ciklikus petefészek működéssel.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A tejtermelés növekedése világszerte együtt jár a szaporodásbiológiai mutatók folyamatos romlásával. A szaporodási mutatók romlása azonban csak részben magyarázható önmagában a tejtermelés növekedésével. Valószínűleg fontosabb ennél a megnövekedett tejtermelés fokozott táplálóanyag-, és főként energiaszükségletének kielégítetlenségéből származó reprodukciós és egyéb rendellenességek halmozott előfordulása. A tehenek nem a szükségletnek megfelelő takarmányozása olyan kóros élettani folyamatokat indíthat el, ami szaporodási zavarokhoz, a petefészek és a méh funkcionális elváltozásaihoz vezethet.

Vizsgálataink során összefüggéseket kerestünk a tejtermelő szarvasmarhák anyagforgalmi folyamatai, táplálóanyag-ellátottsága és fertilitási eredményei között.

Célunk volt a vemhesség korai szakaszában bekövetkező embrionális- és magzati veszteségek mértékének felmérése üzemi körülmények között.

Vizsgálataink további célja volt, olyan anyagforgalmi folyamatokra illetve ezek zavaraira jellemző vérparaméterek kutatása, amelyek statisztikai módszerekkel összefüggésbe hozhatók a korai vemhességvizsgálatok során nyert adatokkal, illetve a ciklikus petefészek működést jellemző szérum progeszteronszintekkel.

Célunk volt továbbá annak megállapítása, hogy a szaporodásbiológiai zavarok háttérében milyen kóros élettani folyamatok, illetve takarmányozási problémák állnak.

A korai vemhességvizsgálattal megállapított 759 vemhesség esetében a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között bekövetkező embrió- és magzatvesztés mértéke 15,5% volt. Az összes veszteségen belül a termékenyítést követő 25-35. nap között a korai vemhességvizsgálattal diagnosztizálható késői emb-

cionális veszteség mértékét 3,29%-nak találtuk. A veszteségek döntő hányada a vemhesség későbbi szakaszában, a 35-60. nap között bekövetkező magzatvesztés volt. A korai vemhességvizsgálat során az alacsony vérszérum vemhességifehérje koncentrációjú minták esetében embrióvesztést feltételeztünk. A feltételezett veszteségek 41,6%-a következett be. Az embrióvesztés bekövetkezésének valószínűsége a 4 ng/ml-t meghaladó progeszteron koncentrációjú tehenek csoportjában mindössze 9%, az alacsony, 2 ng/ml alatti progeszteronkoncentrációjú csoportban 86% volt, ami a progeszteron embriófejlődésre és a vemhesség fennmaradására gyakorolt pozitív hatását igazolja. Az embrió- illetve magzatvesztés és a tejtermelés összefüggését vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a tejtermelés növekedésével megemelkedik a veszteségek gyakorisága. A magas, a napi 45 kg-t meghaladó tejtermelésű tehenekben a veszteség mértéke meghaladta a 30%-t, ami felhívja a figyelmet az egyirányú szelekció lehetséges negatív következményére, illetve a magas genetikai értékű állományok nagyobb táplálóanyag igényére.

Módszertani vizsgálatunk egy olyan rutinvizsgálat kidolgozására irányult, mely során a korai vemhességvizsgálatot követően ugyanazokból a vérmin-tákból az állatok tápanyag-ellátottságának, és metabolikus státuszának felmérésére további vizsgálatokat végezhetnénk el. A korai vemhességvizsgálatra 1 napos postai út után teljes vérminta érkezik be a laboratóriumba, ahol a vérplazma szeparálásra csak ezt követően van lehetőség. Vizsgálatunk során többek között a mintakezelési és tárolási módnak hatását vizsgáltuk az egyes paraméterek kimutathatóságára. A metodikai vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy a 24 órán át el nem választott, majd centrifugálással elválasztott vérplazmamintákból a glükóz, foszfor, kalcium, karbamid és az összfehérje koncentráció, továbbá az ALT, AST és LDH aktivitás meghatározás nem ad megbízható eredményt. Az eredmények alapján következtetésként levonható, hogy a teljes vérmintában a vérplazma elválasztásáig további biokémiai fo-

lyamatok zajlanak, melyek negatívan befolyásolják - az összkarotinkoncentráció kivételével- az általunk végzett meghatározások pontosságát és ez által a mérések megbízhatóságát. Kapott eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a vizsgált májenzimek aktivitásának vizsgálatára csak a vérvétel után azonnal lecentrifugált plazmaminták használhatók. A plazmamintákat a meghatározások elvégzéséig +4°C-on 1 napig lehet eltárolni, amennyiben ez nem megoldható, a mintákat a meghatározásig mélyfagyasztva (-18 vagy -70°C) kell tárolni. Összegzésként elmondható, hogy a vemhességvizsgálatra beérkező teljes vérminták nem alkalmasak az általunk választott táplálóanyagforgalmat és metabolikus státuszt jellemző vérparaméterek további laboratóriumi vizsgálatára.

A vizsgálat második felében a vérplazma 4 hétig tartó fagyasztása nem okozott változást a glükóz, koleszterin, karbamid és triglicerid koncentrációkban. Az összfehérje koncentrációja a fagyasztás 4. hetében megemelkedett.

Az állatok táplálóanyag-ellátottságának felmérésére választott paraméterek közül a kalcium és foszfor, a szénhidrát-, fehérje- és zsíryanycsere felmérésére választott paraméterek közül a glükóz, összfehérje, triglicerid és koleszterin vérplazmakoncentrációja nem haladta meg a fiziológiás értéket az ellés utáni 40-110. nap között. Ez alapján elmondható, hogy a felsorolt paraméterek az ellést követő időszakban kialakuló energiahiányos állapot idején arra jellemző változást nem mutattak, vagyis a táplálóanyag-ellátás és a metabolikus státusz felmérésére nem alkalmasak.

A különböző szaporodásbiológiai állapotú (üres, vemhes és visszaivarzó) és petefészek-működésű (ciklikus petefészek-működésű és sárgatest aktivitással nem rendelkező) egyedek a táplálóanyag-ellátottságának (α -tokoferol, retinol, β -karotin) és metabolikus státuszának (glükóz, húgysav, karbamid, NEFA, BHB) jellemzésére használt vérparaméterek közötti statisztikailag igazolható eltéréseket sikerült igazolnunk. Megállapítható azonban, hogy az eltérések

élettanilag nem voltak jelentősek. Az eredmények arra engednek következtetni, hogy az állatok szervezete, megfelelő energia ellátás mellett az ellés utáni 90-120. napra már kompenzálta a laktáció elején kialakuló, egyébként fiziológiásnak tekinthető, energiahiányos állapotot.

Az ellés utáni 50. naptól alkalmazott ω -3 zsírsavat, élesztőt és antioxidánsokat tartalmazó kiegészítés hatására magasabb tejtermelést (3,6kg/tehen/nap) tapasztaltunk a kísérleti csoportban. A kísérleti és a kontroll állatok testkondícióváltozása között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget, mintahogy a vizsgálat során meghatározott NEFA és FRAP vérplazma koncentrációja között sem. Az ellés utáni 50. naptól alkalmazott karotinkiegészítés hatására a vérplazmában szignifikánsan magasabb összkarotin koncentrációt tapasztaltunk. A kiegészítést fogyasztó tehenekben a termékenyítés után az átlagos tejprogeszteron koncentráció magasabb volt, szintje gyorsabban emelkedett, mint a kontroll tehenekben. A kísérleti tehenek nagyobb hányada rendelkezett ciklikus petefészek működéssel, ami azt jelenti, hogy az omega-3 zsírsavat, élesztőt, β -karotint és szelént tartalmazó kiegészítés pozitívan befolyásolja a petefészek ciklikus működését. A kiegészítés a vemhesülési arányra nem, azonban az azt fogyasztó vemhesült állatok progeszterontermelésére pozitív hatással volt. A termékenyítés utáni 15-39. nap között tapasztalt magasabb progeszteron koncentráció segíti a vemhesség fennmaradását azáltal, hogy megnöveli a magzatok túlélésének valószínűségét.

8. SUMMARY

Global efforts to increase milk production in dairy cows have been associated with a decline in fertility. Increased milk yields are not likely to be the only cause involved of this decline in reproductive performance. Probably it is the cumulated effect of non-sufficient supplementation of nutrition- and energy demand of the elevated milk production. Non-sufficient feeding of dairy cows may lead to sever physiological changes in the function of the uterus and/or the ovaries.

The main purpose of our study was to find relationship between the metabolic pathways, nutritional status and fertility results of dairy cows.

Our aim was to measure embryonic and fetal losses in early stage of pregnancy.

Further aim of our study was to find metabolic blood parameters that are typical for metabolic disorders and show statistical correlations with the results of early pregnancy detection and/or with the serum progesterone levels representing ovarian activity.

Our final aim was to find out what metabolic malfunction and nutritional effects stand in the background of reproduction disorders.

According to our results in 759 pregnancy tests the ratio of embryonic and fetal losses between the 25th and 60th day after insemination was higher than 15%. The late embryonic loss was 3,29% of the total loss was detected between the 25th and 35th postinsemination day by the early pregnancy detection. Majority of the total loss occurs as fetal loss between the 35th and 60th days. In case of samples with low blood sera concentration of pregnancy specific protein b we predicted embryonic loss. 41,6% of predicted loss turned to be true. The probability of embryonic loss at $>4\text{ng/ml}$ progesterone serum concentration was only 9%, but $<2\text{ng/ml}$ the probability was 86%, the obser-

vation proves the positive effect of progesterone on pregnancy retention and embryonic development. Our investigations also showed that the increase in the milk production was in positive correlation with the embryonic and fetal losses. In cows with >45kg/day milk production the losses were 30% which drives the attention to the possible negative effect of one-way selection and the increased nutritional demand of the high potential herds.

The purpose of our methodological study was to establish a routine procedure that allows drawing up the nutritional and metabolic status of animals from blood samples used for the pregnancy test. During our study we analysed the effect of different sample handling and storing procedures on the possibility to analyse of different blood parameters. Based on our experience we found that from blood samples that were not separated immediately after sampling detection of glucose, potassium, calcium, urea and total protein concentration, ALT, AST and LDH is not reliable. Based on this observation it can be concluded that until the centrifugation of the blood samples in order to separate the plasma or the serum further biochemical reactions take part that have negative influence on the reliability of the tests (except total carotene). Based on the above experience it can be concluded that for the test of liver enzymes activity only such plasma or serum samples can be use that were obtained by centrifugation of samples immediately after sampling. Separated samples can be stored at +4°C but not longer than 24 hours. Otherwise separated samples should be stored frozen (-18 or -70°C) until analyses. As a summary of this methodological study it can be concluded that whole samples used for pregnancy testing can not be used for those laboratory measuring of the blood parameters chosen by us.

In the second part of the methodological study it showed that 4-week-long freezing did not effect the reliability of measuring glucose, cholesterol, urea

and triglycerid. The blood plasma of total protein concentration increased in the 4th week of freezing.

Between the 40th and the 110th day after calving the concentration of calcium and potassium, that were chosen to measure nutrition status, the concentration of glucose, total protein, triglycerid and cholesterol that were chosen to measure fatty acid, carbohydrate and protein metabolism did not exceed the physiological range. Based on this observation it can be concluded that the above mentioned parameters are not relevant to track nutritional or metabolic status.

We find statistical differences between the blood sample of cows with different reproduction status (non-pregnant, pregnant and repeat-breeder) and ovarian function (cycling, inactive corpus luteum) and their nutritional (α -tocopherol, retinol, β -carotene) and metabolic status (glucose, uric acid, urea, NEFA, BHB). Although, these differences were statistically significant were not physiologically important. Based on our results we concluded that, due to the sufficient energy supply, that by the 90th-120th day after calving cows compensated the negative energy balance occurring at the beginning of the lactation.

We studied the effect of ω -3 fatty acid, yeast and antioxidants supplementation on milk production and fertility of dairy cows. The milk production of experimental group was higher 3,6kg/cow/day than the control group. We did not find significant differences neither in the body condition nor in the NEFA or FRAP test results between the control and the experimental group. The carotene supplementation from the 50th day after calving resulted in significantly higher total carotene level in the blood samples. In the supplemented cows' samples the milk progesterone level after insemination was higher than in the control samples. Greater ratio of the experimental group showed cyclic ovarian activity which means that the omega-3 fatty acid, yeast, β -carote-

Summary

ne supplementation had positive effect on ovarian function. The supplementation did not correlate with the fertility rate but had positive effect on the progesteron level of pregnant cows. It could also be concluded that the higher progesterone concentration detected between the 15th and 39th days of pregnancy decreases the probability of embryonic and feta losses.

9. MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

1. ADAMS, G. P. (1999): Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fert.*, 54. 17-32.
2. ADLER, J. A., ROBERTS, S. J., DYE, J. A. (1958): Further observations on silage as a possible etiological factor in bovine ketosis. *Am. J. Vet. Res.*, 19. 314-318.
3. ANDERSEN, J. B., MASHEK, D. G., LARSEN, T., NIELSEN, M. O., INGVAERTSEN, K. L. (2002): Effects of hiperinsulinaemia under euglycaemic condition on liver fat metabolism in dairy cows in early and mid lactation. *J. Vet. Med.*, 49. 65-71.
4. ANDERSSON, L., GUSTAFSSON, A. H., EMANUELSON, U. (1991): Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 36. 521-536.
5. ANDERSSON, L., LUNDSTRÖM, K. (1985): Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows. *Zbl. Vet. Med.* 32. 15-23.
6. ANDREWS, A. H., LAVEN, R., MAISEY, I. (1991): Treatment and control of an outbreak of fat cow syndrome in a large dairy herd. *Vet. Rec.*, 129. 216-219.
7. ARIKAN, S., RODWAY, R. G. (2000): Effects of high-density lipoprotein containing high or low β -carotene concentrations of progesterone production and β -carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.*, 62. 253-263.

8. ARMSTRONG, J. D., GOODALL, E. A., GORDON, F. J., RICE, D. A., MCCAUGHEY, W. J. (1990): The effects of levels of concentrate offered and inclusion of maize gluten or fish meal in the concentrate on reproductive performance and blood parameter of dairy cows. *Anim. Prod.*, 50.1–10.
9. ATHERTON, D. (1994): The effect of mineral nutrition on bovine fertility with particular reference to embryo transfer. *Proc. Assoc. Europ. Trans., Embr.*, 105-115.
10. BAIRD, G. D. (1982): Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J. Dairy Sci.*, 65. 1-10.
11. BARB, C. R. (1999): The brain-pituitary-adipocyte axis: role of leptin in modulating neuroendocrine function. *J. Anim. Sci.*, 77. 1249-1257.
12. BATRA, T. R., SINGH, K. et al. (1992): Concentration of plasma and milk vitamin-E and plasma beta-carotene of mastitic and healthy cows. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 62. 233-237.
13. BAUMAN D. E., CURRIE W. B. (1980): Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 63. 1514.
14. BAUMAN D. E., DEGEETER M. J., PEEL C. J., LANZA G. M., GOREWIT R. C., HAMMOND R. W. (1982): Effect of recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 65. 121. (Abstr.)
15. BAVER, P. J. (1981). *Anal. Biochem*, 110. 61.
16. BEAM, S. W., BUTLER, W. R. (1997): Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three concentrations of dietary fat. *Biol. Reprod.*, 56. 133–142.

17. BEAM, S. W., BUTLER, W. R. (1998): Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed pilled lipid. *J. Dairy Sci.*, 81. 121-131.
18. BEAM, S. W., BUTLER, W. R. (1999): Energy balance effects on follicular development and first ovulation in post-partum cows. *J. Reprod. Fertil.* 54. 411–424.
19. BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239. 70-76.
20. BERGMAN, E. N. (1990): Disorders of carbohydrate and fat metabolism. In: Swenson, M.J.: (ed.): *Duke's physiology of domestic animals*. Cornell University Press, Ithaca, N.Y., London, pp. 12-423.
21. BERGMAYER, H. U., SCHEIBE, P., WAHLEFELD, A. W. (1978): Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin. Chem.* 24. 58-73.
22. BERRY, E. M., KOHEN, R. (1999): Is the biological antioxidant system integrated and regulated? *Medical Hypotheses*, 53. 397-401.
23. BILBY, T. R., GUZELOGLU, A., MACLAREN, L. A., STAPLES, C. R., THATCHER, W. W. (2006a): Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: II. Gene expression related to maintenance of pregnancy. *J. Dairy Sci.*, 89. 3375–3385.
24. BILBY, T. R., SOZZI, A., LOPEZ, M. M., SILVESTRE, F., EALY, A. D., STAPLES, C. R., THATCHER, W. W. (2006b): Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: I. ovarian, conceptus, and growth hormone–insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.*, 89. 3360–3374.
25. BOYD, H. (1965): Embryonic death in cattle, sheep and pigs. *Vet. Bull. Weybridge*, 35. 251-266.

26. BRITT, J. H. (1991): Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. *Bovine Pract. Proc.*, 24. 29-43.
27. BRUSS, M. L. (1997): Lipids and ketones. In: Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (eds.): *Clin. Biochem. Dom. Anim.*, Academic Press, San Diego, pp. 83-115.
28. BUCKLEY, F., O'SULLIVAN, K., MEE, J. F., EVANS, R. D., DILLON, P. (2003): Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.* 86. 2308-2319.
29. BURKE, C. R., MIHM M., MACMILLAN L. K., ROCHE J. F. (1994): Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. *Anim. Prod. Sci.*, 35. 27-39.
30. BURKE, J. M., CARROLL, D. J., ROWE, K. E., THATCHER, W. W., STORMSHAK, F. (1996): Intravascular infusion of lipid into ewes stimulates production of progesterone and prostaglandin. *Biol. Reprod.*, 55. 169-175.
31. BURVENICH, C., PAAPE, M. J., HILL, A. W., GUIDRY, A. J., MILLER, R. H., HEYNEMAN, R., KREMER, W. D. J., BRAND, A. (1994): Role of the neutrophil leukocyte in the local and systemic reactions during experimentally induced *E. coli* mastitis in cows immediately after calving. *Vet. Quart.*, 16. 45-49.
32. BUTLER, W. R., EVERETT, R. W., COPPOK, C. E. (1981): The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, 53. 742-748.
33. BUTLER, W. R. (1998): Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81. 2533-2539.

34. BUTLER, W. R. (2005): Inhibition of ovulation in the postpartum cow and the lactating sow. *Livest. Prod. Sci.*, 98. 5 –12.
35. BUTLER, W. R.(2000): Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *Anim. Sci., Occ. Pub.* 26. 133-145.
36. BUTLER, W. R., CALAMAN, J. J., BEAM, S. W. (1996): Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74. 858-865.
37. BUTLER, W. R., SMITH, R. D. (1989): Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 72. 767-783.
38. CAI, T. Q., WESTON, P., LUND, L. A., BRODIE, B., MCKENNA, D., WAGNER, W. C. (1994): Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 55. 934-943.
39. CALDARI-TORRES, C., RODRIGUEZ-SALLABERRY, C., GREENE, E. S., BADINGA, L. (2006): Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F2 production by bovine endometrial cells. *J. Dairy Sci.*, 89. 971–977.
40. CANFIELD, R. W., BUTLER, W. R (1991): Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 69. 740-746.
41. CANFIELD, R. W., BUTLER, W. R. (1990): Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest. Anim. Endocr.*, 7. 323–330.
42. CARROLL, D. J., GRUMMER, R. R., MAO, F. C. (1992): Progesterone production by cultured luteal cells in the presence of bovine low and high density lipoproteins purified by heparin affinity chromatography. *J. Anim. Sci.*, 70. 2516–2526.

43. CARROLL, D. J., HOSSAIN, F. R., KELLER, M. R. (1994): Effect of supplemental fish meal on the lactation and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77. 3058-3072.
44. CARROLL, D. J., JERRED, M. J., GRUMMER, R. R., COMBS, D. K., RIERSON, R. A., HAUSER, E. R. (1990): Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on plasma progesterone, energy balance, and reproductive traits of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73. 2855–2863.
45. CHALUPA, W., RICKABAUGH, B., KRONFELD, D. S., SKLAN, D. (1984): Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 67. 1443-1444.
46. CHANEY, A. L. and MARBACH, E. P. (1962): Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.*, 8. 130-132.
47. CHILLIARD, Y., BOCQUIER, F., DOREAU, M. (1998): Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, 38. 131-152.
48. COULON, J. B., REMOND, B. (1991): Variations in milk output and milk protein content in response to the level of energy supply to the dairy cow: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 29. 31–47.
49. CROWE, M. A., PADMANABHAN, V., MIHM, M., BEITIS, I. Z., ROCHE, J. F. (1998): Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biol. Reprod.*, 58. 1445-1450.
50. CURTIS, C. R., ERB, H. N., SNIFFEN, C. J., SMITH, R. D., KRONFELD, D. S. (1985): Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 68. 2347-2360.

51. DALY, J. A., ERTHINGSHAUSEN, G. (1972): Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the CentrifChem". *Clin. Chem.*, 18. 263-265.
52. DARWASH, A. O., LAMMING, G. E. (1998): The importance of milk progesterone concentrations during early pregnancy in the cow. *J. Anim. Breed.*, 2: 41-43.
53. DARWASH, A. O., LAMMING, G. E., WOOLLIAMS, J. A. (1997): Estimation of genetic variation in the interval from calving to postpartum ovulation of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80. 1227-1234.
54. DARWASH, A. O., LAMMING, G. E., WOOLLIAMS, J. A. (1999): The potential for identifying heritable endocrine parameters associated with fertility in post-partum dairy cows. *J. Anim. Sci.* 68. 333–347.
55. DE VRIES, M. J., VEERKAMP, R. F. (2000): Energy balance in dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83. 62–69.
56. DEMBINSKI, Z., BRONICKI, M. (1994): Progesterone level in blood and the values of selected fertility indexes in cows fed various doses of carotenes. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 38. 115-118.
57. DISTL, O., WURM, A., GLIBOTIC, G., BREM, G., KRAUSLICH, H. (1989): Analysis of relationships between veterinary recorded production diseases and milk production in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.*, 23. 67–78.
58. DOUBEK, J., JAGOS, P., ILLEK, J. (1985): Influence of the stage of dairy cow reproduction cycle on some clinical and biochemical parameters. *Acta Vet. Brno*, 54. 149-155.
59. DRACKLEY, J. K., KLUSMEYER, T. H., TRUSK, A. M., CLARK, J. H. (1992): Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and

- chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J. of Dairy Sci.*, 75. 1517-1526.
60. ELROD, C. C., BUTLER, W. R. (1993): Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degraded protein. *J. Anim. Sci.*, 71. 694–701.
61. FERGUSON, J. D., AZZARO, G., LICITRA, G. (2006): Body condition assessment using digital images. *J. of Dairy Sci.*, 89. 3833–3841.
62. FERGUSON, J. D., SKLAN, D., CHALUPA, W. V., KRONFELD, D. S. (1990): Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 73. 2864-2879.
63. FERGUSSEN, J. D., BLANCHARD T. et al. (1988): Infertility in dairy cattle fed a high percentage of protein degradable in the rumen. *J. Am. Vet. Assoc.*, 192. 659–665.
64. FOSSATI, P. AND PRENCIPE, L. (1982): Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. Chem.* 28. 2077.
65. FOSSATI, P., PRENCIPE, L., BERTI G. (1980): Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin. Chem.*, 26. 227-31.
66. FOURICHON, C., SEEGER, H., MALHER, X. (2000): Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*, 53. 1729-1759.
67. FÖLDI, J., KULCSÁR, M., PÉCSI, A., HUYGHE, B., DE SA, C., LOHUIS, J. A., COX, P., HUSZENICZA, GY. (2006): Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 96. 265-281.

68. FRAJBLAT, M., BUTLER, W. R. (2003): Effect of dietary fat preparation on first ovulation and reproductive performance in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86. Suppl., 473.
69. FRANCO, O. J., DROST, M., THATCHER, M. J., SHILLE, V. M., THATCHER, W. W. (1987): Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. *Theriogenology*, 27. 631-644.
70. FREETLY, H. C., FERREL, C. L. (1994): Kinetics of splanchnic progesterone metabolism in ewes fed two levels of nutrition. *J. Anim. Sci.*, 72. 2107-2112.
71. FRONK, T. J., SCHULTZ, L. H., HARDIE, A. R. (1980): Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 63. 1080-1090.
72. FUENTES, M. C. CALSAMIGLIA, S., SÁNCHEZ, C., GONZÁLEZ, A., NEWBOLD, J. R. (2008): Effect of extruded linseed on productive and reproductive performance of lactating dairy cows. *Livestock Sci.*, 113. 144–154.
73. FUJITANI, Y., KASAI, K., OHTANI, S., NISHIMURA, K., YAMADA, M., UTSUMI, K. (1997): Effect of oxygen concentration and free radicals on in vitro development of in vitro-produced bovine embryos. *J. of Animal Sci.*, 75. 483–489.
74. FULKERSON, W. J. (1984): Reproduction in dairy cattle: Effect of age, cow condition, production level, calving-to-first-service interval and the 'male'. *Anim. Reprod. Sci.* 7. 305-314.
75. GAÁL T., REID, I.M., COLLINS, R.A., ROBERTS, C.J., PIKE, B.V. (1983): A comparison of biochemical and histological methods of estimating fat content of liver in the dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 34. 245-248.

76. GAÁL, T. szerk. (2000): Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika, Budapest, Sík Kiadó.
77. GÁBOR, G., TÓTH, F., ÓZSVÁRI, L., ABONYI-TÓTH, ZS., SASSER, R. G. (2007): Early detection of pregnancy and embryonic loss in dairy cattle by ELISA tests. *Reprod. Dom. Anim.*, 42.633-636.
78. GÁBOR, G., TÓTH, F., ÓZSVÁRI, L., ABONYI-TÓTH, ZS., SASSER, R. G. (2008): Factors influencing pregnancy rate and late embryonic loss in dairy cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 43. 53–58.
79. GÁBOR, GY., TÓTH, F., SASSER, R. G., SZÁSZ, F., BÁRÁNY, I., WÖLFLING, A., VÖLGYI-CSÍK, J. (2004): Két ellés közötti idő csökkentésének lehetőségei tejelő szarvasmarha állományban I. Korai vemhességvizsgálat a Biopryn ELISA teszt segítségével. *Magy. Áo. Lapja*, 126. 459-464.
80. GARNSWORTHY, P. C., TOPPS, J. H. (1982): The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.*, 35. 113-119.
81. GARRETT, J. E., GEISERT, R. D., ZAVY, M. T., MORGAN G. L. (1988): Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fert.*, 94. 437-446.
82. GATH, V. P., FAHEY, J. et al. (1999): Effect of plasma urea concentration at the time of insemination or embryo transfer on pregnancy rates in cattle. In: *Fertility in the High Producing Dairy Cow. Br. Soc. Anim. Sci., Occ. Pub.* 26. 367–370.
83. GEISERT, R. D., MORGAN, G. L., SHORT, E. C., ZAVY, M. T. (1992): Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.*, 4. 301-305.

84. GERLOFF, B. J., HERDT, T. H., EMERY, R. S. (1986): Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 188. 845-850.
85. GOFF, J. P., HORST, R. L. (1997): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.*, 80. 1260-1268.
86. GOMEZ, E. (1997): Acetoacetate and β -D-hydroxybutyrate as energy substrates during early bovine embryo development in vivo. *Theriogenology*, 48. 63-74.
87. GOMEZ, E., DIAZ, C. (1998): Bovine embryos can use ketone bodies as energy substrates at different developmental stages in vitro. *Theriogenology*, 49. 239.
88. GRIMARD, B., FRERET, S., CHEVALLIER, A., PINTO, A., PONSART, C., HUMBLLOT, P. (2006): Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Anim. Reprod. Sci.*, 91. 31-44.
89. GRIVEAU, J. F., DUMONT, E., RENARD, P., CALLEGARI, J. P., LE LANNOU, D. (1995): Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defense systems in human spermatozoa. *J. of Reprod. and Fert.*, 103, 17-26.
90. GROCHOWSKA R., SORENSEN P., ZWIERZCHOWSKI L., SNOCHOWSKI M., LOVENDAHL P. (2001): Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with leucin/valin polymorphism in the GH gene. *J. Animal Sci.*, 79. 450-476.
91. GUSTAFFSON, A. H., CARLSSON, J. (1993): Effect of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in the dairy cow. *Livest. Prod. Sci.* 37. 91-105.

92. GWAZDAUSKAS, F. C., KENDRICK, K. W., PRYOR, A. W., BAI-
LEY, T. L. (2000): Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as
influenced by dietary energy and stage of lactation. *J. Dairy Sci.*, 83.
1625-1634.
93. HARASZTI, J., HUSZENICZA, GY., MOLNÁR, L., BLASKOVITS
(1984): Effect of periparturient lipid mobilization on serum total carote-
ne and vitamin A concentrations in cattle. *Acta Vet. Hung.*, 32. 193-203.
94. HARASZTI, J., HUSZENICZA, GY., MOLNÁR, L., SOLTI, L.,
CSERNUS, V. (1985): Postpartal ovarian activity of healthy cows and
those affected by subclinical metabolic disorders. *Anim. Reprod. Sci.*, 9.
125-136.
95. HART I. C. (1983): Endocrine control of nutrient partitioning in lactat-
ing ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, 42. 181.
96. HART I. C., BINES J. A., MORANT S. V. (1980): The secretion and
metabolic clearance rates of growth hormone, insulin and prolactin in
high- and low-yielding cattle at four stages of lactation. *Life Sci.*, 27.
1839.
97. HAWKINS, D. E., NISWENDER, K. D., OSS, G. M., MOELLER, C.
L., ODDE, K. G., SAWYER, H. R., NISWENDER, G. D. (1995): An
increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the
disappearance rate of progesterone in cows. *J. Anim. Sci.*, 73. 541-545.
98. HEUER, C., SCHUKKEN, Y., H., DOBBELAAR, P. (1992): Postpar-
tum body condition score and results from the first test day milk as pre-
dictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds.
J. Dairy Sci. 82. 295–304.
99. HIBBIT, K. G., NEILL, D., RADFORD, P. (1969): The effect of diet on
the incidence of induced ketosis in the lactating dairy cow. *Res. Vet.
Sci.*, 10. 245-253.

- 100.HIGGINS, R.J., ANDERSON, W.S. (1983): Fat cow syndrome in a British dairy herd. *Vet. Rec.* 113. 461-463.
- 101.HIGHTSHOE, R. B., COCHRAN, R. C., CORAH, L. R., KIRACOFÉ, G. H., HARMON, D. L., PERRY, R. C. (1991): Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *J. Anim. Sci.*, 69. 4097–4103.
- 102.HOEKSTRA, J., VAN DER LUGT, A. W., VAN DER WERF, J. H. J., OUWELTJES, W. (1994): Genetic and phenotypic parameters for milk production and fertility traits in upgraded dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 40. 225–232.
- 103.HOWELL, B. F., MCCUNE, S., SCHAFFER, R. (1979): Lactate-to-pyruvate or pyruvate-to-lactate assay for lactate dehydrogenase: a re-examination. *Clin. Chem.* 25. 269-272.
- 104.HOWIE, A., LEAVER, H. A., WILSON, N. H., YAP, P. L., AITKEN, I. D. (1992): The influence of dietary essential fatty acids on uterine C20 and C22 fatty acid composition. *Prostag. Leukotr. Essent. Fatty Acids.*, 46. 111–121.
<http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2000/Staples.pdf>
- 105.HURLEY, W. L., DOANE, R. M. (1989): Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J. Dairy Sci.*, 72. 784-804.
- 106.HUSZENICZA GY., FÉBEL H., GÁSPÁRDY A., GAÁL T. (2002): A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 1. Az ellés utáni időszak anyagforgalmi jellemzői. *Magy. Áo. Lapja*, 124. 12. 719-725.
- 107.HUSZENICZA, GY., HARASZTI, J., MOLNÁR, L., SOLTÍ, L., FEKETE, S., EKÉS, K., YARO, A. C. (1988): Some metabolic character-

- istics of dairy cows with different post partum ovarian function. *J. Vet. Med. A.*, 35. 506-515.
- 108.HUSZENICZA, GY., JÁNOSI, SZ., KULCSÁR, M., KÓRÓDI, P., DIELEMAN, S. J., BARTYIK, J., RUDAS P., RIBICZEI-SZABÓ P. (1998): Gram-negative mastitis in early lactation may interfere with ovarian and certain endocrine functions and metabolism in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 33. 147-153.
- 109.HUSZENICZA, GY., JÁNOSI, SZ., KULCSÁR, M., KÓRÓDI, P., REICZIGEL, J., KÁTAI, L., PETERS, A. R., DE RENSIS, F. (2005): Effects of clinical mastitis on ovarian function in postpartum dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 40. 199-204.
- 110.HUSZENICZA, GY., KÁTAI, L., KULCSÁR, M., PÉCSI, T., KISS, G., DELAUAUD, C., FÉBEL, H., CHILLIARD, Y., DRIANCOURT, M. A., BUTLER, W. R. (2003a): Metabolic factors influencing fertility at the first postpartum insemination in high-producing dairy cows. In: *Proc. 15th Eur. A.I. Vets' Meeting*, 17-25.
- 111.HUSZENICZA, GY., KULCSÁR, M., KÁTAI, L., BALOGH, O. (2003b): A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 2. A petefészkek működése az ellés utáni időszakban. *Magy. Áo. Lapja*, 125. 75-82.
- 112.HUSZENICZA, GY., KULCSÁR, M., DANKÓ G., BALOGH, O., GAÁL T. (2003c): A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata: IV. A ketonanyagképződés fokozódása és annak klinikai következményei. *Magy. Áo. Lapja*, 125. 203-208.
- 113.HUSZENICZA, GY., KULCSÁR, M., NAGY, P., CSEH, S. (1994): A sárgatest működésének, valamint az embrió és az anyai szervezet köl-

- csönhatásának élettani és klinikai vonatkozásai a vemhesség implanta-
tio előtti szakaszában kérődzőkben, sertésben és lovon. Irodalmi össze-
foglaló I. A sárgatest működése. *Magy. Áo. Lapja*, 49. 261-264.
- 114.HUSZENICZA, GY., MOLNÁR, L., SOLTI, L., HARASZTI, J.
(1987): Postpartal ovarian function in Holstein and crossbred cows on
large scale farms in Hungary. *J. Vet. Med. A.*, 34. 249-263.
- 115.HUSZENICZA, GY., SZIGETI, G., FEKETE, S., KULCSÁR, M.,
CSEH, S., ABAVÁRINÉ MIHÁLY, K., NAGY, P. (1995): A mestersé-
ges termékenyítés eredményességét befolyásoló ovarialis zavarok tejtí-
pusú szarvasmarhákban. *Magy. Áo. Lapja*, 50. 819-828.
- 116.JAGOŠ, P., ILLEK, J. (1985): A szarvasmarha anyagforgalmi zavarai-
nak megelőző kórjelzésére kialakított rendszer (vizsgálati eredmények
értelmezése) 484-485. In: L. Vrzgula és szerzőtársai: A gazdasági álla-
tok anyagforgalmi betegségei és megelőzésük. Mezőgazdasági Kiadó,
Budapest
- 117.JÁNOSI, SZ., HUSZENICZA, GY, KULCSÁR, M., KÓRÓDI, P.
(1998): Endocrine and reproductive con-sequences of certain endoto-
xin-mediated diseases in farm mammals. A review. *Acta Vet. Hung.*, 46.
71-84.
- 118.JORDAN, E. R., SWANSON, L. W. (1979): Effect of crude protein on
reproductive efficiency, serum total protein, and albumin in the high
producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62. 58-63.
- 119.KANEENE, J.B., MILLER, R.A., HERDT, T.H., GARDINER, J. C.
(1997): The association of serum non-esterified fatty acids and choles-
terol, management and feeding practices with peripartum dis-ease in
dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, 31. 59-72.
- 120.KANEKO, J. J. (1997): Clinical biochemistry of domestic animals. 5th
ed. Academic Press, San Diego

- 121.KAPP P., PETHES GY., ZSIROS M., SCHUSZTER Z. (1979): Adatok a nagyhozamú tejelő szarvas-marhák zsírmáj-szindrómájának körfejlődéséhez. *Magy. Áo. Lapja*, 34. 458-461.
- 122.KÁTAI, L., KULCSÁR, M., KISS, G., HUSZENICZA,GY. (2003): A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 3. Az újravemhesülés zavarai. *Magy. Áo. Lapja*, 125. 143-146.
- 123.KATSOULOS, P. D., ROUBIES, N. et al. (2005): Long-term fluctuations and effect of age on serum concentrations of certain fat-soluble vitamins in dairy cows. *Vet. Clin. Path.*, 34. 362-367.
- 124.KEADY, T. W., MAYNE, C. S., FITZPATRICK, D. A. (2000): Effect of supplementation of dairy cattle with fish oil on silage intake, milk yield and milk composition. *J. Dairy Res.*, 67. 137-153.
- 125.KÉGL, T. (1990): A ketonuria vizsgálatának és ellenőrzésének tapasztalata egy holstein-fríz állományban. *Magy. Áo. Lapja*, 45. 393-398.
- 126.KÉGL, T., GAÁL, T. (1992): Ketonuriás index: egy új, gyakorlatias mutatószám a tejelő tehének energia-egyensúlyának megítélésére. *Magy. Áo. Lapja*, 47. 159-161.
- 127.KEHRLI, M. E., NONNECKE, B. J., ROTH, J. A. (1989): Alterations in bovine neutrophil function during the postparturient period. *Am. J. Vet. Res.*, 50. 207-213.
- 128.KENDRICK, K. W., BAILEY, T. L., GARST, A. S., PRYOR, A. W., AHMADZADEH, A., AKERS, R. M., EYE-STONE, W. E., PEARSON, R. E., GWAZDAUSKAS, F. C. (1999): Effect of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration. *J. Dairy Sci*, 82. 1731-1740.

- 129.KERESZTES, M., FAIGL, V., MÁRTON, A., IHNÁTH, Z., KULCSÁR, M., MÉZES, M., HUSVÉTH, F., HUSZENICZA, GY. (2007a): A védett zsírokkal történő takarmánykiegészítés hatása a kérődzők szaporodásbiológiai jellemzőire. Irodalmi áttekintés. 1. *Magy. Áo. Lapja*, 129. 525-530.
- 130.KERESZTES, M., FAIGL, V., MÁRTON, A., IHNÁTH, Z., KULCSÁR, M., MÉZES, M., HUSVÉTH, F., HUSZENICZA, GY. (2007b): A védett zsírokkal történő takarmánykiegészítés hatása a kérődzők szaporodásbiológiai jellemzőire. Irodalmi áttekintés. 2. *Magy. Áo. Lapja*, 129. 707-712.
- 131.KIMURA, M., NAKAO, T., MORIYOSHI, M., KAWATA, K. (1987): Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. *Br. Vet. J.*, 143. 560-566.
- 132.KLUCINSKI, W., DEGORSKI, A., MIERNIK-DEGORSKA, E., TARGOWSKI, S., WINNICKA, A. (1988a): Effect of ketone bodies on the phagocytic activity of bovine milk macrophages and polymorphonuclear leukocytes. *J. Vet. Med. A.*, 35. 632-639.
- 133.KLUCINSKI, W., MIERNIK-DEGORSKA, E., DEGORSKI, A., TARGOWSKI, S., WINNICKA, A. (1988b): Effect of ketone bodies on the mitogenic response of bovine milk lymphocytes. *J. Vet. Med. A.*, 35. 626-631.
- 134.KO, M. S. (2004): Embryogenomics of pre-implantation mammalian development: current status. *Reprod. Fertil. Dev.* 16. 79-85.
- 135.KOLVER, E. S., MACMILLAN, K. L. (1994): Variation in selected blood plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. *New Zealand Vet. J.*, 42. 161-166.
- 136.KRINSKY, N. I. (1993): Actions of carotenoids in biological systems. *Annu. Rev. Nutr.* 13. 561-587.

- 137.KRONFELD, D. S. (1980): Ketosis in dairy cows. In: Amstutz, H. E. (ed.): *Bovine medicine and surgery*. American Veterinary Publications, Santa Barbara, C.A. Vol., 1. pp. 537-592.
- 138.KRUIP, T. A. M., WENSING, T., VOS, P. L. A. M. (1999): Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. In: Diskin, M. G. (ed.): *Fertility in high producing dairy cow*. British Society of Animal Science, *Occ. Pub.*, 26. 63-79.
- 139.KUNZ, P. L., BLUM, J. W., HART, I. C., BICKEL, H., LANDIS, J. (1985): Effects of different energy intake before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.*, 40. 219-231.
- 140.LAMMING, G. E., DARWASH, A. O. (1995): Effect of interluteal interval on subsequent luteal phase length and fertility in post partum dairy cows. *Biol. Reprod.*, 53. 181-183.
- 141.LAMMING, G. E., DARWASH, A. O. (1998): The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 52. 175-190.
- 142.LAMMING, G. E., DARWASH, A. O., BACK, H. L. (1989): Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. Fert.*, 37. 245-252.
- 143.LAMMING, G. E., WATHES, D. C., PETERS, A. R. (1981): Endocrine patterns of the post-partum cow. *J. Reprod. Fert.*, 30. Suppl. 155-170.
- 144.LAMMOGLIA, M. A., WILLARD, S. T., HALLFORD, D. M., RANDEL, R. D. (1997): Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 β , 13,14-dihydro-15-keto-PGF 2α and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J. Anim. Sci.*, 75. 1591-1600.

- 145.LARSON, S. F., BUTLER, W. R., CURRIE, W. B. (1997): Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 80. 1288-1295.
- 146.LI, P. K. , LEE, S. T., MACGILLVRAY, M. H., et al. (1980): Direct fixed time kinetic assays for β -hydroxybutyrate and acetoacetate with a centrifugal analyzer or a computer-backed spectrophotometer. *Clin. Chem.*, 26. 1713-1717.
- 147.LOPEZ-GATIUS, F., SANTOLARIA, P., JANIZ, J., RUTTLANT, J., LOPEZ-BEJAR, M. (2002): Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*, 57. 1251-1261.
- 148.LOVENDAHL, P., WOOLLIAMS, J. A., SINNET-SMITH, P. A. (1991): Response of growth hormone to various doses of growth hormone releasing factor and thyrotropin releasing hormone administered separately and in combination to dairy calves. *Can. J. Anim. Sci.*, 71. 1045-1052.
- 149.LUCY, M. C. (2000): Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci.*, 83. 1635-1647.
- 150.LUCY, M. C. (2001): Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.*, 84. 1277-1293.
- 151.LUCY, M. C., HAUSER, S. D., EPPARD, P. J., KRIVI, G. G., CLARK, J. H., BAUMAN, D. E., COLLIER, R. J. (1993): Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 10. 325-333.
- 152.LUCY, M. C., STAPLES, C. R., MICHEL, F. M., THATCHER, W. W. (1991): Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows

- on plasma PGF2 α , luteinizing hormone, and follicular growth. *J. Dairy Sci.*, 74. 483-489.
- 153.LUCY, M. C., STAPLES, C. R., MICHEL, F. M., THATCHER, W. W. (1991): Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74. 473-482.
- 154.LUKASZEWSKA, J., HANSEL, W. (1980): Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 59. 485-493.
- 155.MACMILLAN, K. L., LEAN, I. J., WESTWOOD, C. T. (1996): The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Austr. Vet. J.*, 73. 141–147.
- 156.MAGYAR TAKARMÁNYKÓDEX (2004): Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet – Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium, Budapest, Vol. II/II Takarmányok táplálóanyag tartalmának meghatározása.
- 157.MALVEN, P. V. (1984): Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. In: *Proc. 10th Internat. Congr. on Animal Reproduction and Artificial Insemination* Vol. 4. pp. 1-8.
- 158.MANN, G. E., LAMMING, G. E. (1995): Progesterone inhibition on the development of the lute-olytic signal in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 104. 1-5.
- 159.MANN, G. E., LAMMING, G. E., FRAY, M. D. (1995): Plasma oestradiol during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci.*, 37. 121-131.
- 160.MANN, G. E., LAMMING, G. E., PAYNE, J. H.(1998): Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of luteolytic signal in cows. *J. Reprod. Fert.*, 113. 47-51.

- 161.MANN, G. E., MANN, S. J., BLACHE, D., WEBB, R. (2005): Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring during the post partum period. *Anim. Reprod. Sci.*, 88. 191–202.
- 162.MARKUSFELD, O. (1985): Relationship between overfeeding, metritis and ketosis in high yielding dairy cows. *Vet. Rec.*, 116. 489-491.
- 163.MARR, A. L., PIEPENBRINK, M. S. et al. (2002): The somatotrophic axis and lipid metabolism in transition dairy cows in relation to timing of first postpartum ovulation. *J. Dairy Sci.*, 85. 66.
- 164.MASSEY, C. D., WANG, C., DONOVAN, G. A., BEEDE, D. K. (1993): Hipocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 203. 852-853.
- 165.MATHSOFT INC., 1999: S-Plus 2000 User's Guide. Seattle, WA, USA
- 166.MATSUBARA, C., NESHIKAWA, Y., YOSHIDA, Y., TATEAMURA, K. (1983): A spectrophotometric method for the determination of free fatty acid in serum using acyl-coenzyme A synthetase and acyl-coenzyme A oxidase. *Anal. Biochem.*, 130. 128-133.
- 167.MATTOS, R., STAPLES, C. R., THATCHER, W. W. (2000): Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod.*, 5. 38–45.
- 168.MCDOUGALL, S., BLACHE, D., RHODES, F. M. (2005): Factors affecting conception and expression of oestrus in anoestrous cows treated with progesterone and oestradiol benzoate. *Anim. Reprod. Sci.*, 88. 203-214.
- 169.MEE, J. F., FAHEY, J., CRILLY, J. (1999): Breeding the dairy cow of the future - today's challenges. In: *Dairying in the New Millennium*, Teagasc National Dairy Conference, Adare, Ireland, 7–16.

- 170.MÉZES, M. (2001): A takarmányozás hatása a tejtermelő tehenek szaporodásbiológiai állapotára. *Holstein Magazin*, 9. (5) 19-21.
- 171.MICHAL, J. J., HEIRMAN, L. R. et al. (1994): Modulatory effects of dietary b-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77. 1408–1421.
- 172.MOALLEM, U., KAIM, M., FOLMAN, Y., SKLAN, D. (1997): Effect of calcium soaps of fatty acids and administration of somatotropin in early lactation on productive and reproductive performance of high producing dairy cows. *J. of Dairy Sci.*, 80. 2127–36.
- 173.MOATE, P. J., HARRIS, D. J. (1983): A survey to determine the influence of cow condition score, calving to service interval, age and milk yield on cow fertility. Dairy Research Institute, Ellinbank, Australia, *Dairy Production Report*, 106–108.
- 174.MONNIAUX, D., HUET, C., BESNARD. N., CLEMENT, F., BOSCH, M., PISSELET, C., MONGEL, P., MARIANA, J. C. (1997): Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 51. 3-23.
- 175.MORROW, D. A. (1976): Fat cow syndrome. *J. Dairy Sci.*, 59. 1625-1629.
- 176.MORROW, D., A., HILLMAN, D., DADE, A. W., KITCHEN, H. (1979): Clinical investigation of a dairy herd with the fat cow syndrome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 174. 161-167.
- 177.MOSS, G. E., PARFET, J. R. MARVIN, C. A., ALLRICH, R. D., DI-EKMAN, M. A. (1985): Pituitary concentrations of gonadotropins and receptors for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving. *J. Anim. Sci.*, 60. 285-291.

- 178.MURPHY, M. G., BOLAND, M. P., ROCHE, J. F. (1990): Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *J. Reprod. Fert.*, 90. 523-533.
- 179.NAGY, P., SOLTI, L., KULCSÁR, M., REICZIGEL, J., HUSZENICZA, GY., ABAVÁRY-MIHÁLY, K., WÖFLING, A. (1998): Progesterone determination in equine plasma using different immunoassays. *Acta Vet. Hung.*, 46. 501-513.
- 180.NEPHEW, K. P., MCCLURE, K. E., OTT, T., BUDOIS, D. H., BAZER, F. W., POPE, W. F. (1991): Relationship between variation in conceptus development and differences of oestrous cycle duration in ewes. *Biol. Reprod.*, 44. 536-539.
- 181.NISHIMURA, K., FUJITANI, Y. et al. (1997): Do the plasma levels of α -tocopherol, total cholesterol, β -carotene and progesterone indicate the quality of recipient cows? *Theriogenology*, 47. Iss. 1. 147.
- 182.NONNECK, B. J., FRANKLIN, S. T., YOUNG, J. W. (1992): Effects of ketones, acetate, and glucose on in vitro immunoglobulin secretion by bovine lymphocytes. *J. Dairy Sci.*, 75. 982-990.
- 183.NRC (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed., National Academy of Sciences Press, Washington, DC, USA
- 184.O' DOHERTY, J. V., CROSBY, T. F. (1998): Blood metabolite levels in late pregnant ewes as indicators of nutritional status. *Anim. Sci.*, 66. 675-683.
- 185.O'CALLAGHAN, D., LOZANO, J. M. et al. (1999): Endocrine and metabolic effects of nutrition on fertility. In: *Fertility in the High Producing Dairy Cow. Br. Soc. Anim. Sci.*, Occasional Publication No. 26. 147-160.
- 186.O'CALLAGHAN, D., LOZANO, J. M., FAHEY, J., GATH, V., SNIDJERS, S., BOLAND, M. P. (1999): Relationship between nutrition and

- fertility in dairy cattle. In: *Fertility in the High Producing Dairy Cow. Br. Soc. Anim. Sci. Occ. Pub.* 26. 147–159.
- 187.OKUDA, K., MIYAMOTO, Y., SKARZYNSKI, D. J. (2002): Regulation of endometrial prostaglandin F2 α synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest. Anim. Endocr.*, 23. 255-264.
- 188.OLDICK, B. S., STAPLES, C. R., THATCHER, W. W., GYAWU, P. (1997): Abomasal infusion of glucose and fat-effect on digestion, production, and ovarian and uterine functions of cows. *J. Dairy Sci.*, 80. 1315-1328.
- 189.ONETTI, S. G., SHAVER, R. D., MCGUIRE, M. A., PALMQUIST, D. L., GRUMMER, R. R. (2002): Effect of supplemental fat on performance of dairy cows fed diets with different corn silage:alfalfa silage ratios. *J. Dairy Sci.*, 85. 632-641.
- 190.OPSOMER, G., GROHN, Y. T., HERTL, J., CORYN, M., DELUYKER, H., DE KRUIF, A. (2000): Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53. 841–857.
- 191.OSAWA, T., NAKAO, T., MORIYOSHI, M., NAKADA, K. (1998): Plasma β -endorphin around parturition and its relationship to cortisol level and resumption of pituitary and ovarian functions in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 52. 27-38.
- 192.ÓZSVÁRI, L. (2004): Állat-egészségügyi döntéselemzés a tejtermelő gazdaságokban. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gazdaság- és Társadalomtudományi Kar, Gödöllő
- 193.ÓZSVÁRI, L., KERÉNYI, J. (2004): Quantification of losses due to reproductive disorders on a large-scale Holstein-Friesian dairy farm (in Hungarian). *Magy. Áo. Lapja*, 126. 523-531.

- 194.PAAPE, M. J., CAPUCO, A. V., GUIDRY, A. J., BURVENICH, C. (1995): Morphology, function and adaptation of mammary cells in normal and disease states. *J. Anim. Sci.*, 73. 1-17.
- 195.PARKER, N. J., BLOWEY, R. W. (1976): Investigations in the relationship of selected blood components to nutrition and fertility of the dairy cow under commercial farm conditions. *Vet. Rec.*, 98. 394-404.
- 196.PÉCSI, A., FÖLDI, J., KULCSÁR, M., PÉCSI, T., HUSZENICZA, GY. (2006): Az involúció bakteriális eredetű szövödményei szarvasmarhában. Irodalmi áttekintés. 1. rész. *Magy. Áo. Lapja*, 128. 721-730.
- 197.PEEL C. J., FRONK T. J., BAUMAN D. E., GOREWIT R. C. (1983): Effect of exogenous growth hormone in early and late lactation on lactational performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 66. 776.
- 198.PERRY, R. C., CORAH, L. R., COCHRAN, R. C., BEAL, W. E., STEVENSON, J. S., MINTON, J. E., SIMMS, D. D., BRETHOUR, J. R. (1991): Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.*, 69. 3762-3773.
- 199.PETHES, GY., HORVÁTH, E., KULCSÁR, M., HUSZENICZA, GY., SOMORJAI, GY., HARASZTI, J. (1985): In vitro progesterone production of corpus luteum cells of cows fed low and high levels of beta-carotene. *Zbl. Vet. Med. A.*, 32. 289-296.
- 200.PETIT, H. V., DEWHURST, R. J., PROULX, J. G., KHALID, M., HARESIGN, W., TWAGIRAMUNGU, H. (2001): Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Can. J. Anim. Sci.*, 81. 263-271.
- 201.PETIT, H. V., DEWHURST, R. J., SCOLLAN, N. D., PROULX, J. G., KHALID, M., HARESIGN, W., TWAGIRAMUNGU, H., MANN, G. E. (2002): Milk production and composition, ovarian function and pros-

- taglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. *J. of Dairy Sci.*, 85. 889-899.
- 202.PORETSKY, L., KALIN, M. F. (1987): The gonadotropic function of insulin. *Endocr. Rev.*, 8. 132-139.
- 203.PRYCE, J. E., VEERKAMP, R. F. (2001): The incorporation of fertility indices in genetic improvement programmes. *In: Fertility in High Producing Dairy Cow*, British Society of Animal Science Occasional Publication No. 26, pp. 237–249.
- 204.RABIEE, A. R., LEAN, I. J., GOODEN, J. M., MILLER, B. G. (1999): Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 82. 39-44.
- 205.RAHEJA, K. L., BURNSIDE, E. B., SCHAEFFER, L. R. (1989): Relationship between fertility and production in Holstein dairy cattle in different lactations. *J. Dairy Sci.* 72. 2670–2678.
- 206.RAJAMAHENDRAN, R., TAYLOR, C. (1990): Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim. Reprod. Sci.*, 22. 171-180.
- 207.RAJIV, C., HARJIT, K. (2004): Plasma antioxidant vitamin status of periparturient cows supplemented with α -tocopherol and β -carotene. *Anim. Feed Sci. Techn.*, 114. 279-285.
- 208.REID, I. M., ROBERTS, C. J. (1983): Subclinical fatty liver in dairy cows. *Irish Vet. J.*, 37. 104-110.
- 209.REIST, M., KOLLER, A., BUSATO, A., KÜPFER, U., BLUM, J. W. (2000): First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology*, 54. 685-701.
- 210.RHODES, F. M., ENTWISTLE, K. W., KINDER, J. E. (1996): Changes in ovarian function and gonad-otropin secretion producing the

- onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol. Reprod.*, 55. 1437-1443.
211. RICHARD, A. L., MCCUTCHEON, S. N., BAUMAN, D. E. (1985): Response of dairy cows to exogenous bovine growth hormone administered during early lactation. *J. Dairy Sci.*, 68. 2385.
212. RICHMOND, W. (1973): Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin. Chem.*, 19. 1350-1356.
213. ROBERTS, C. J., REID, I. M. et al (1981): A fat mobilization syndrome in early lactation. *Vet. Rec.*, 108. 7-9.
214. ROBINSON, R. S., PUSHPAKUMARA, P. G. A., CHENG, Z., PETERS, A. R., ABAYASEKARA, D. R. E., WATHES, D. C. (2002): Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124. 119–131.
215. ROCHE, J. F., CROWE, M. A., BOLAND, M. P. (1992): Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 28. 371-378.
216. ROPSTAD, E., REFSDAL, A. O. (1987): Herd reproductive performance related to urea concentration in bulk milk. *Acta Vet. Scand.*, 28. 55–63.
217. ROYAL, M. D., DARWASH, A. O., FLINT, A. P. F., WEBB, R., WOLLIAM, J. A., LAMMING, G. E. (2000): Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.*, 70. 487–502.
218. RUIZ-CORTES, Z. T., OLIVERA-ANGEL, M. (1999): Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.*, 54. 211-220.
219. RUKKWAMSUK, T., KRUIP, T.A.M., WENSING, T. (1999a): Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and

- the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet. Quart.*, 21. 71-77.
- 220.RUKKWAMSUK, T., WENSING, T., KRUIP, T. A. M. (1999b): Relationship between triacylglycerol concentrations in the liver and first ovulation in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 51. 1133-1142.
- 221.RUTTER, L. M., RANDEL, R. D. (1984): Postpartum nutrient intake and body condition: effect on pituitary function and onset oestrus in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 58. 265-274.
- 222.RYAN, D. P., BAO, B., GRIFFITH, M. K., WILLIAMS, G. L. (1995): Metabolic and luteal sequelae to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrous beef cows induced to ovulate. *J. Anim. Sci.*, 73. 2086-2093.
- 223.SALFER, J.A., LINN, J. G., OTTERBY, D. E., HANSEN, W. P. (1995): Early lactation responses of Holstein cows fed a rumen-inert fat prepartum, postpartum, or both. *J. Dairy Sci.*, 78. 368-377.
- 224.SARTORELLI, P., PALTRINIERI, S., AGNES, F. (1999): Non-specific immunity and ketone bodies. I: In vitro studies on chemotaxis and phagocytosis of ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A.*, 46. 613-619.
- 225.SARTORELLI, P., PALTRINIERI, S., COMAZI, S. (2000): Non-specific immunity and ketone bodies. II: In vitro studies on adherence and superoxide anion production in ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A.*, 47. 1-8.
- 226.SARTORI, R., SARTOR-BERGFELT, R., MERTENS, S. A., GUENTHER, J. N., PARRISH, J. J., WILTBANK, M. C. (2000): Early embryonic development during summer in lactating dairy cows and nulliparous heifers. *Biol. Reprod.*, 62. 155-155. 125. Suppl. 1.

- 227.SASSER, R. G., GÁBOR, GY., TÓTH, F. (2004): Korai vemhesség diagnosztizálása ELISA teszt segítségével szarvasmarhában és egyéb kérődzőkben. *Állatteny. Takarm.*, 53. 164-165.
- 228.SASSER, R.G., RUDER, C. A., IVANI, K. A., BUTLER, J. E., HAMILTON, W. C. (1986): Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 35. 936-942.
- 229.SAVIO, J. D., BOLAND, M. P., HYNES, N., ROCHE, J. F. (1990): Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 88. 569-579.
- 230.SCHÄFER, M. (1985): A szénhidrátok anyagcseréjének zavarai 74-81. In: L. Vrzgula és szerzőtársai. A gazdasági állatok anyagforgalmi betegségei és megelőzésük. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- 231.SCHERF, H., FRYE, T. M., WILLIAMS, S. N. (1994): Vitamin A and b-carotene: a nutritional approach to the control of mastitis in dairy cattle. In: *Proc. 33rd Natl. Mastitis Council, Orlando, FL*. pp. 77-91.
- 232.SCHILLO, K. K. (1992): Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.*, 70. 1271-1282.
- 233.SCHNEIDER, B. H., SKLAN, D., CHALUPA, W., KRONFELD, D. S. (1988): Feeding calcium salts of fatty acids to lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 71. 2143.
- 234.SCOTT, T. A., SHAVER, R. D., ZEPEDA, L., YANDELL, B., SMITH, T. R. (1995): Effects of rumen-inert fat on lactation, reproduction, and health of high producing Holstein herds. *J. Dairy Sci.*, 78. 2435-2451.
- 235.SENGER, P. L. (2003): Pathways to pregnancy and parturition. 2nd Ed. Current Conceptions Inc., Washington State University, Pullman, WA, USA

- 236.SHELTON, K., GAYERIE DE ABREU, M. F., HUNTER, M. G., PARKINSON T. J., LAMMING G. E. (1990): Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J. Reprod. Fert.*, 90. 1-10.
- 237.SKLAN, D., KAIY, M., MOALLEM, U., FOLMAN, Y. (1994): Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows. *J. Dairy Sci.*, 77. 1652-1660.
- 238.SKLAN, D., MOALLEM, U., FOLMAN, Y. (1991): Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 74. 510–517.
- 239.SMITH, T. R., HIPPEN, A. R., BEITZ, D. C., YOUNG, J. W. (1997): Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80. 1569-1581.
- 240.SON, J., GRANT, R. J., LARSON, L. L. (1996): Effects of tallow and escape protein on lactational and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 79. 822–830.
- 241.SORDILLO, L. M., SHAFFER-WAVER, K., DEROSA, D. (1997): Immunology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 80. 1851-1865.
- 242.SPICER, L. J., ALPIZAR, E., ECHTERNKAMP, S. E. (1993a): Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *J. Anim. Sci.*, 71. 1232-1241.
- 243.SPICER, L. J., TUCKER, W. B., ADAMS, G. D. (1990): Insulin-like growth factor-1 in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior. *J. Dairy Sci.*, 73. 929-937.

244. SPICER, L. J., VERNON, R. K., TUCKER, W. E., WETTEMANN, R. P., HOGUE, J. F., ADAMS, D. (1993b): Effects of inert fat on energy balance, plasma concentrations of hormones, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76. 2664-2673.
245. STAPLES, C. R., BOKEN, S. L., THATCHER, W. W. (2000): The unsaturated fatty acids: the rumen and beyond. 11th Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, FL.
246. STAPLES, C. R., BURKE, J. M., THATCHER, W. W. (1998): Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 81. 856-871.
247. STAPLES, C. R., GARCIA-BOJALIL, C. M., OLDICK, B. S., THATCHER, W. W., RISCO, C. A. (1993): Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism and blood and milk urea measurements. In: *Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp.*, Univ. Florida, Gainesville, 37-51.
248. STRANG, B. D., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R., ARMENTANO, L. E. (1988): Relationship of triglyceride accumulation to insulin clearance and hormonal responsiveness in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.*, 81, 740-747.
249. SURIYASATHAPORN, W., HEUER, C., NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N., SCHUKKEN, Y. H. (2000): Hyperketonaemia and the impairment of udder defense: a review. *Vet. Res.*, 31. 397-412.
250. SZENCI, O., BECKERS, J. F., HUMBOLT, P., SULON, J., SASSER, R. G., TAVERNE, M. A. M., VARGA, J., BALTUSER, R., SCHEKK, GY. (1998): Comparison of ultrasonography, Bovine pregnancy-specific protein b, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50. 77-88.

251. THATCHER, W. W., BILBY, T. R., BARTOLOME, J. A., SILVESTRE, F., STAPLES, C. R., SANTOS, J. E. P. (2006): Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*, 65. 30–44.
252. THATCHER, W. W., STAPLES, C. R., DANET-DESNOYERS, G., OLDICK, B., SCHMITT, E. P. (1994): Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Anim. Sci.*, 72. 13-30.
253. THOMAS, M. G., BAO, B., WILLIAMS, G. L. (1997): Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.*, 75. 2512-2519.
254. TOP, A. M. VAN DEN, GEELLEN, M. J. H., WENSING, T., WENTINK, G. H. KLOOSTER, A. T., VAN T. BEYNEN, A. C. (1996): Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. *J. Nutr.*, 126. 76-85.
255. TÓTH, F., GÁBOR, G., MÉZES, M., VÁRADI, É., ÓZSVÁRI, L., SASSER, R. G., ABONYI-TÓTH, ZS. (2006): Improving the reproductive efficiency by zoo-technical methods at a dairy farm. *Reprod. Dom. Anim.*, 41. 1–5.
256. TÓTH, F., GÁBOR, GY., FÉBEL, H., HUSZÁR, SZ., MÉZES, M. (2007): Egyes metabolikus vérparaméterek eltéréseinek vizsgálata vemhes és üres tejelő tehenekben. *Magy. Áo. Lapja*, 129. 157-164.
257. TÓTH, F., SOLYMOSI, N., GÁBOR, GY. (2005): Az embrióvesztés hatása a tejelő szarvasmarhák fertilitási eredményeire. *Állatteny. Takarm.*, 54. 216-222.
258. TRINDER, P. (1969): Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6. 24-27.

- 259.VAN KNEGSEL, A. T. M., VAN DEN BRAND, H., DIJKSTRA, J., KEMP, B., WALTERS, A. H., PRYOR, A. W., BAILEY, T. L., PEARSON, R. E., GWAZDAUSKAS, F. C. (2002): Milk yield, energy balance, hormone, follicular and oocyte measures in early and mid-lactation Holstein cows. *Theriogenology*, 57. 949–961.
- 260.VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B. (1985): Analysis of forages and fibrous foods. AS 613 Manual, Dep. Anim. Sci., Cornell Univ., Ithaca, Ny.
- 261.VASCONCELOS, J. L. M., SILCOX, R. W., LACERDA, J. A., PURSLEY, J. R., WILTBANK, M. C. (1997): Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.*, 56. Suppl. 1. 140.
- 262.VILLA-GODOY, A., HUGHS, T. L., EMERY, R. S., CHAPIN, L. T., FOGWELL, R. L. (1988): Associations between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71. 1063
- 263.WALTERS, A. H., PRYOR, A. W., BAILEY, T. L., PEARSON, R. E., GWAZDAUSKAS, F. C. (2002): Milk yield, energy balance, hormone, follicular and oocyte measure in early and mid-lactation Holstein cows. *Theriogenology*, 57. 949-961.
- 264.WATHES, D. C., BEEVER, D. E., CHENG, Z., PUSHPAKUMARA, P. G. A., TAYLOR, V. (2001): Life-time organization and management of reproduction in the dairy cow. In: Wathes, D. C., Frost, A. R., Gordon, F., Wood, J. D. (eds): *Integrated management systems for livestock*. British Society of Animal Science, Edinburgh, Occ. Pub., 28. 59-69.
- 265.WATHES, D. C., LAMMING, G. E. (1995): The oxytocin receptor, luteolysis, and the maintenance of pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 49. 53-67.

- 266.WEHRMAN, M. E., WELSH, T. H., WILLIAMS, JR G. L. (1991): Diet induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod.*, 45. 514-523.
- 267.WEICHSELBAUM, T. E. (1948): An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.* 16. 40-43.
- 268.WEISS, W. P., HOGAN, J. S. et al. (1990): Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 73. 381-390.
- 269.WENSING, T., KRUIP, T., GEELLEN, M. J. H., WENTINK, G. H., VAN DEN TOP, A. M. (1997): Postpartum fatty liver in high-producing dairy cows in practice and in animal studies. The connection with health, production and reproduction problems. *Comp. Haematol. Internat.*, 7. 167-171.
- 270.WEST, H. J. (1990): Effect on liver function of acetonaemia and the fat cow syndrome in cattle. *Res. Vet. Sci.*, 48. 221-227.
- 271.WHISNANT, C. S., KISER, T. E., THOMPSON, F. N. AND HALL, J. B. (1985): Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH. *Theriogenology*, 24. 565-573.
- 272.WIEBOLD, J. L. (1988): Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 84. 393-399.
- 273.WILLIAMS G. L., STANKO R. L. (1999): Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *J. Anim. Sci.* <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0915.pdf>.
- 274.WILLIAMS, G. L. (1999): Nutritional factors and reproduction. In: Knobil, E., Neil, J.D. (eds): *Encyclopedia of reproduction Edition*, Academic Press, San Diego, pp. 412-422.

275. WILTBANK, M. C., GÜMEN, A., SARTORI, R. (2002): Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57. 21-52.
276. ZUREK, E., FOXCROFT, G. R., KENNELLY, J. J. (1995): Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 78. 1909-1920.

M3. Köszönetnyilvánítás

Dolgozatom elkészítése és kutatási feladataim kivitelezése során számos segítséget kaptam, amelyekért köszönettel tartozom.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, **dr. Mézes Miklósnak**, aki a doktori folyamat során értékes tanácsokkal látott el mind a téma előkészítésében, a vizsgálatok elindításában, mind pedig a dolgozat összeállításakor.

Hálás köszönettel tartozom **dr. Gábor Györgynek**, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet tudományos tanácsadójának, aki a kísérletek tervezésében és gyakorlati kivitelezésében, a laboratórium kísérletek tervezésében és végrehajtásában nyújtott nélkülözhetetlen segítséget, valamint értékes tanácsokkal látott el és mindvégig figyelemmel kísérte munkámat.

Köszönöm **dr. Fébel Hedvignek**, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet ált. főigazgató-helyettesének, aki a laboratórium kísérletek tervezésében és végrehajtásában nyújtott segítséget és munkám során értékes tanácsokkal látott el.

Köszönöm továbbá **Huszár Szilviának**, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet tudományos főmunkatársának, aki segítséget nyújtott a laboratóriumi vizsgálatok elvégzésében.

Végül, de semmiképpen nem utolsó sorban, köszönettel és hálával tartozom **Családomnak**, különösen **Édesanyámnak** és **Férjemnek**, hogy megteremtették azt a biztos nyugodt hátteret, ami nélkül ez a dolgozat nem készülhetett volna el.