



The concentration of free amino acids in blood serum of healthy cows and cows with subclinical ketosis

J. Marczuk¹, P. Brodzki², A. Brodzki³, K. Lutnicki¹
doktorjm@o2.pl

¹Sub-Department of Internal Diseases of Farm Animals and Horses, Department and Clinic of Animal Internal Medicine of Veterinary Medicine;

²Department and Clinic of Animal Reproduction of Veterinary Medicine;

³Department of Clinic of Animal Surgery Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Science, 20–612 Lublin, Głęboka Str. 30, Poland.

This paper presents the study on determination of the free amino acid in blood serum of cows with high milk production (Herd A) and cows with subclinical ketosis compared to healthy ones (Herd B). In Herd A examined 12 cows in the first 100 days in milk. A total of 24 cows from a herd B divided into two groups: experimental (12 cows with ketosis) and control (12 healthy cows) were included in the study. Statistically significantly higher concentrations of glutamine, glutamic acid, isoleucine ($p \leq 0.001$), and tyrosine ($p \leq 0.05$) were found in dairy cows with subclinical ketosis compared to healthy ones. A significant decrease in the concentrations of asparagine, histidine, methionine, and serine ($p \leq 0.001$) as well as alanine, leucine, lysine and proline ($p \leq 0.05$) was observed. In Herd A was high level of total essential amino acids in blood serum. In our study, the changes, in particular, observed in amino acid concentration in cows with subclinical ketosis indicate its intensive use in both ketogenesis and gluconeogenesis processes.

Key words: dairy cows, subclinical ketosis, essential amino acids, non-essential amino acids, glucogenic amino acids, ketogenic amino acids

Citation:

Marczuk, J., Brodzki, P., Brodzki, A., Lutnicki, K. (2016). The concentration of free amino acids in blood serum of healthy cows and cows with subclinical ketosis. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 2(66), 223–226.

Wstęp

Ketoza jest częstym schorzeniem występującym w początkowym okresie laktacji u wysokowydajnych krów mlecznych. Choroba ta jest przyczyną dużych strat ekonomicznych, które wynikają ze zwiększonej podatności na choroby infekcyjne, metaboliczne oraz zaburzenia płodności. U krów z ketozą dochodzi do spadku apetytu, obniżenia wydajności mlecznej oraz niekorzystnych zmian w składzie mleka, co eliminuje jego przydatność. Podstawową przyczyną ketozy jest ujemny poporodowy bilans energetyczny, którego skutkiem jest lipoliza rezerw tłuszczowych z jednoczesnym wzrostem produkcji ciał ketonowych. Przy niedoborze energii równoległe do lipolizy przebiegają procesy proteolizy, w których wykorzystana jest tkanka mięśniowa, jako źródło aminokwasów biorących czynny udział w glukoneogenezie. U krów z ketozą wykazano wysokie stężenie 3-methylhistidine, parametru

wskazującego na rozkład białka mięśniowego, czym potwierdzono istotne znaczenie proteolizy i aminokwasów w patogenezie ketozy. Do chwili obecnej nie został dokładnie ustalony udział aminokwasów zarówno w procesach glukoneogenezy jak i ketogenezy. Badania wielu autorów wskazują jednoznacznie na wykorzystanie aminokwasów w patogenezie ketozy u krów. Li i wsp. u krów z pierwotną ketozą wykazali wyższe stężenie waliny i glicyny oraz niższe stężenie argininy, leucyny, isoleucyny, tryptofanu i lizyny w porównaniu do krów zdrowych. Inni autorzy we wtórnej ketozie w przebiegu lewostronnym przemieszczeniem trawieńca (LDA) oraz w zespole stłuszczenia wątroby wykazali niskie stężenie glukogennych i istotnych aminokwasów oraz wysokie stężenie aminokwasów ketogennych. Dokładne poznanie udziału aminokwasów w procesach glukoneogenezy, ketogenezy i patogenezie ma dużą wartość aplikacyjną w monitorowaniu przebiegu ketozy. Może mieć również duże znaczenie w

profilaktyce tej choroby, poprzez odpowiednie zbilansowanie dawki żywienia pod względem zawartości aminokwasów. Podaż odpowiednich aminokwasów może być również pomocna w terapii wspomagającej ketozy.

Celem podjętych przez autorów badań, było określenie zmian w stężeniu wolnych aminokwasów w surowicy krwi u krów z wysoką wydajnością mleczną oraz u krów z subkliniczną ketozą w porównaniu do krów zdrowych.

Material i metody

Badania zostały przeprowadzone w 2 różnych stadach bydła mlecznego: Stado A – o wysokiej wydajności mlecznej i braku istotnych problemów zdrowotnych oraz Stado B – o niższej wydajności mlecznej i zaburzeniach stanu zdrowia (ketoza, mastitis, zatrzymanie łożyska)

Stado A (Śniadowo).

Liczba krów w stadzie – 50 sztuk, wydajność w 305-dniowej laktacji 10 447 – 10 777 kg mleka o zawartości: 3,98–4,1% tłuszczu i 3,39–3,43% białka.

Stado B (Jabłonna)

Liczba krów w stadzie – 39 sztuk, wydajność w 305-dniowej laktacji 7 669 – 8 670 kg mleka o zawartości 4,48 – 5,0 % tłuszczu i 3,36 – 3,42 % białka. W stadzie stwierdzono subkliniczną i kliniczną ketozę. Krowy chore

na ketozę wykazano poprzez: stwierdzenie obecności związków ketonowych w moczu, stężenie β -hydroksymaślanu w pełnej krwi ponad 1,2 mmol/L oraz stężenie glukozy w pełnej krwi poniżej 40 mg/dL. Pozostałe krowy badane w tym samym okresie produkcji mlecznej uznano za zdrowe.

W stadzie A pobrano jednorazowo 12 próbek krwi od krów mlecznych, będących w początkowym okresie laktacji (pierwsze 100 dni laktacji). W stadzie B pobrano 24 próbki krwi: 12 próbek krwi od krów u których rozpoznano subkliniczną ketozę oraz 12 próbek krwi od krów zdrowych. Przed porannym karmieniem z żyły szyjnej wspólnej pobierano jednorazowo krew do badań hematologicznych i biochemicznych. W surowicy krwi przy pomocy aparatu do analizy aminokwasów AAA-400 (Ingos s.r.o., Praga, Czechy) określono stężenie następujących aminokwasów: walina (Val), leucina (Leu), isoleucyna (Ile), tryptophan (Trp), phenylalanina (Phe), methionina (Met), threonina (Thr), arginina (Arg), histydyna (His), lizyna (Lys), tyrozyna (Tyr), alanina (Ala), glycyna (Gly), seryna (Ser), prolina (Pro), glutamina (Gln), kwas glutaminowy (Glu), asparagina (Asp), kwas asparaginowy (Asn) i ornitine (Orn). Dodatkowo określone aminokwasy podzielono na następujące grupy: aminokwasy egzogenne i endogenne, aminokwasy glukogenne, ketogenne oraz gluko- i ketogenne (Tabela 1).

Tabela 1

Podział aminokwasów u bydła mlecznego

Grupa aminokwasów	Aminokwasy
Aminokwasy endogenne	Alanine (Ala), Asparagine (Asp), Aspartic acid (Asn), Glutamic acid (Glu), Glutamine (Gln), Glycine (Gly), Ornityne (Orn), Proline (Pro), Serine (Ser), Tyrosine (Tyr)
Aminokwasy egzogenne	Arginine (Arg), Histidine (His), Isoleucine (Ile), Leucine (Leu), Lysine (Lys), Methionine (Met), Phenylalanine (Phe), Threonine (Thr), Tryptophan (Trp), Valine (Val)
Aminokwasy ketogenne	Leu, Lys
Aminokwasy glukogenne	Ala, Asn, Arg, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Met, Orn, Pro, Ser, Thr, Val
Aminokwasy gluko- i ketogenne	Ile, Phe, Trp, Tyr

Wyniki badań

Wyniki stężenia wolnych aminokwasów w surowicy krwi u krów z wysoką wydajnością (Stado A) krów z subkliniczną ketozą i krów zdrowych (stado B) zostały przedstawione w tabeli 2.

Jak wynika z przedstawionej tabeli istnieją statystycznie istotne różnice w stężeniu wolnych aminokwasów w surowicy krwi pomiędzy krowami chorymi na subkliniczną ketozę a krowami zdrowymi. Suma aminokwasów endogennych u krów z subkliniczną ketozą, zdrowych i o wysokiej wydajności mlecznej nie różniły się pomiędzy sobą. Natomiast wykazano wysokie stężenie sumy aminokwasów egzogennych u krów zdrowych z największą wydajnością mleczną (Stado A). W stadzie B suma stężenia aminokwasów egzogennych była niska i nie różniła się pomiędzy krowami z subkliniczną ketozą a zdrowymi. U krów z ketozą

wykazano niskie stężenie 2 aminokwasów ketogennych Leu i Lys. Największe stężenie tych aminokwasów wykazano u krów zdrowych o wysokiej wydajności mlecznej. To wskazuje na istotne znaczenie tych 2 aminokwasów dla procesów ketogenezy (wzrasta stężenie β -hydroksymaślanu) i jednocześnie warunkujących wysoką wydajność mleczną. Z grupy aminokwasów glukogennych u krów z ketozą wykazano niższe stężenie Asn, His, Met, Ser, Ala i Pro oraz wyższe stężenie Glu i Gln w porównaniu do krów zdrowych z tego samego stada. Niskie stężenie aminokwasów glukogennych u krów z subkliniczną ketozą i jednocześnie niskim stężeniu glukozy (poniżej 40 mg/dL) wskazuje na ich intensywne wykorzystanie do procesów glukoneogenezy. Natomiast wysokie stężenie Glu i Gln u krów z ketozą wskazuje na zaburzenie ich metabolizmu lub brak ich wykorzystania w procesach glukoneogenezy.

Tabela 2

Wyniki stężenia endogennych i egzogennych aminokwasów u krów z ketozą oraz u krów zdrowych [μmol/L]

Aminokwas	Krowy zdrowe (Stado A)	Krowy z ketozą (Stado B)	Krowy zdrowe (Stado B)
Aminokwasy endogenne /non-essential amino acids/			
Ala	240,0 ± 46,92	148,55 ± 26,61 *	190,91 ± 45,28
Asn	7,89 ± 6,53	4,0 ± 2,86 **	11,09 ± 3,94
Asp	16,1 ± 3,45	19,09 ± 5,38	19,75 ± 7,42
Gln	308,9 ± 59,9	369,36 ± 65,77 **	248,18 ± 35,66
Glu	100,4 ± 47,49	122,82 ± 23,78 **	74,45 ± 16,43
Gly	354,7 ± 106,36	474,64 ± 64,32	554,91 ± 127,88
Orn	59,7 ± 16,69	25,82 ± 5,74	31,55 ± 7,19
Pro	10,0 ± 14,14	27,72 ± 24,94 *	59,10 ± 27,73
Ser	83,2 ± 9,33	62,0 ± 17,57 **	106,18 ± 26,87
Tyr	58,0 ± 13,17	43,00 ± 9,85 *	31,55 ± 7,17
Suma aminokwasów endogennych	1 238,89	1 296,55	1 327,64
Aminokwasy egzogenne /essential amino acids/			
Arg	161,9 ± 28,9	153,36 ± 27,93	140,55 ± 19,56
His	64,1 ± 7,64	32,82 ± 14,30 **	54,36 ± 11,95
Ile	130,0 ± 33,7	108,18 ± 24,91 **	79,55 ± 16,54
Leu (am. ketogenny)	140,4 ± 35,0	63,73 ± 18,50 *	85,82 ± 21,66
Lys (am. ketogenny)	94,5 ± 24,14	60,18 ± 8,50 *	74,36 ± 7,79
Met	21,2 ± 7,32	14,18 ± 2,52 **	20,09 ± 2,39
Phe	54,4 ± 10,11	48,27 ± 6,53	47,42 ± 6,89
Thr	112,7 ± 25,85	73,55 ± 15,55	62,45 ± 14,58
Trp	24,3 ± 12,13	18,00 ± 14,16	12,64 ± 6,61
Val	312,5 ± 61,37	174,82 ± 30,18	180,45 ± 25,91
Suma aminokwasów egzogennych	1 116,0	751,73	755,73

średnia ± SD.

*: wartości statystycznie istotne pomiędzy grupami stada B badane testem t-Studenta (P < 0,05) . **: wartości statystycznie istotne pomiędzy grupami stada B badane testem t – Studenta (P < 0,001).

Wnioski

1. U krów z subkliniczną ketozą w porównaniu do krów zdrowych obserwujemy istotne zmiany w stężeniu wolnych aminokwasów we krwi.

2. U krów z subkliniczną ketozą wykazano we krwi obniżone stężenie: asparaginy, histydy, metioniny, seryny, alaniny, leucyny, lizyny i proliny oraz podwyższone stężenie glutaminy, kwasu glutaminowego, izoleucyny i tyrozyny w porównaniu do krów zdrowych z tego samego stada.

3. U krów zdrowych i z wysoką wydajnością (Stado A) wykazano wysokie stężenia aminokwasów egzogennych we krwi i tym samym suma stężenia aminokwasów egzogennych u nich była najwyższa.

Literatura

Akamatsu, H., Saitoh, Y., Serizawa, M., Miyake, K., Ohba, Y., Nakashima, K. (2007). Changes of serum 3-methylhistidine concentration and energy-associated metabolites in dairy cows with ketosis. *J Vet Med Sci.* 69, 1091–1093.

Aschenbach, J.R., Kristensen, N.B., Donkin, S.S., Hammon, H.M., Penner, G.B. (2000). Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *Life.* 62, 869–877.

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.

Duffield, T., Lissemore, K.D., McBride, B.W., Leslie, K.E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J Dairy Sci.* 92, 571–580.

Duffield, T. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am.* 16, 231–253.

Hamana, M., Ohtsuka, H., Oikawa, M., Kawamura, S. (2010). Blood free amino acids in the postpartum dairy cattle with left displaced abomasum. *J Vet Med Sci.* 72, 1355–1358.

Hidiroglou, M., Veira, D.M. (1982). Plasma amino acid levels in the fat cow syndrome. *Ann Rech Vet.* 13, 111–115.

Li, Y., Xu, C., Xia, C., Zhang, H., Sun, L., Gao, Y. (2014). Plasma metabolic profiling of dairy cows affected with clinical ketosis using LC/MS technology. *Vet Q.* 34(3), 152–158.

Maeda, Y., Ohtsuka, H., Oikawa, M. (2012). Effect of the periparturient period on blood free amino acid concentration in dairy cows/healthy cows. *J. Vet. Med. Anim. Health.* 4(9), 124–129.

Oetzel, G.R. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20, 651–674.

Pechova, A., Ilek, J., Liska, I., Halouzka, R., Pavlata, L. (2000). Concentration of free amino acids in blood plasma of dairy cows with developing hepatic steatosis. *Acta Vet Brno.* 69, 93–99.

- Seifi, H.A., Leblanc, S.J., Leslie, K.E., Duffield, T.F. (2011). Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *Vet J.* 188(2), 216–220.
- Shibano, K., Kawamura, S., Hakamada, R., Kawamura, Y. (2005). The relationship between changes in serum glycine and alanine concentrations in non-essential amino acid and milk production in the transition period in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 67(2), 191–193.
- Shibano, K., Kawamura, S. (2006). Serum free amino acid concentration in hepatic lipidosis of dairy cows in the periparturient period. *J. Vet. Med. Sci.* 68(4), 393–396.
- Sun, L.W., Zhang, H.Y., Wu, L., Shu, S., Xia, C., Xu, C., Zheng, J.S. (2014). H-nuclear magnetic resonance-based plasma metabolic profiling of dairy cows with clinical and subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 97(3), 1552–1562.
- Xu, C., Wang, Z., Liu, G., Li, X., Xie, G., Xia C., Zhang, H. (2008). Metabolic characteristics of the liver of dairy cows during ketosis based on comparative proteomics. *Asian-Aust J. Anim Sci.* 21(7), 1003–1010.
- Zhang, H., Wu, L., Xu, C., Xia, C., Sun, L., Shu, S. (2013). Plasma metabolomic profiling of dairy cows affected with ketosis using gas chromatography/ mass spectrometry. *BMC Vet Res.* 9, 186–199.

Стаття надійшла до редакції 1.10.2016