

VITAMINO D, KALCITONINO IR PARATHORMONO KIEKIŲ KAITA MASTITU SERGANČIŲ KARVIŲ KRAUJYJE

Vytautas Špakauskas¹, Irena Klimienė¹, Virginija Bandzaitė²

¹LVA Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-4230 Kaišiadorys; tel. (8-346) 6 06 92;

²Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, tel. (8-37) 36 35 05;

el. paštas: vspakauskas@yahoo.de

Santrauka. Slaptuoju ir klinikiniu mastitu sergančių karvių kraujyje (n=30) nustatyti vitamino D, kalcitonino ir parathormono kiekio kaitos ypatumai ir jų ryšis su kalcio, fosforo bei magnio rodikliais. Ca, P bei Mg kiekis nustatytas automatinio „Eos-Bravo“ analizatoriumi; 25-OH vitamino D – imunofermentinės analizės (IFA) metodu; parathormono kiekis – *in vitro* elektrocheminės liuminescencinės imuninės analizės metodu „Roche Elecsys 1010/2010“ analizatoriumi; kalcitonino – *in vitro* „Immulite“ analizatoriumi, chemiliuminescencinės imunometrinės analizės metodu.

Kalcio kiekis mastitu sergančių karvių kraujo serume kito neviršydamas žemutinės fiziologinės normos (2,28±0,20 mmol/l), o fosforo (1,56±0,12 mmol/l) bei magnio (1,08±0,19 mmol/l) kiekiai atitiko normą. Vidutinis PTH daugis buvo 3,97±0,50 pmol/l ir patikimai statistiškai nesiskyrė (p>0,05). PTH silpnai atvirkščiai koreliuoja su kalcio (r = -0,30) kiekiu.

Vitamino D kiekis (23,72±7,19 nmol/l) atvirkščiai koreliuoja su kalcio (r = -0,75) ir fosforo (r = -0,90) kiekiu. Kalcitonino kiekis (1,83±0,49 pmol/l) buvo artimas sveikų karvių kraujyje nustatytam kalcitonino kiekiui (p>0,05).

Raktažodžiai: karvės, mastitas, parathormonas, kalcitoninas, vitaminas D.

CHANGES OF PARATHYROID HORMONE, CALCITONIN AND VITAMIN D LEVELS IN THE COWS WITH MASTITIS

Vytautas Špakauskas, Irena Klimienė, Virginija Bandzaitė

Veterinary Institut of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto str. 2, LT-4230, Kaišiadorys;

phone: (8-346) 6 06 92; e-mail: vspakauskas@yahoo.de

Summary. The levels of vitamin D, calcitonin and parathyroid hormone and their relation with levels of Ca, P and Mg in cows with mastitis (n=30) were investigated experimentally. The level of parathyroid hormone and calcitonin were determined *in vitro* using Roche Elecsys 1010/2010 and Immulite analyzers, respectively, and the amounts of 25-hydroxicholecalciferol were determined by ELISA. In addition, the level of macronutrients (Ca, P and Mg) was determined by Eos-Bravo analyzer and reagents of Hospitex.

The levels of Ca in cows with mastitis varied without exceeding the lower physiological norm (2.28±0.20 mmol/l), and the levels of P (1.56±0.12 mmol/l) and Mg (1.08±0.20 mmol/l) were in the range of normal. The blood level of PTH (3.97±0.50 pmol/l) in cows with mastitis did not differ statistically significantly compared to healthy control cows (p>0.05). The level of calcitonin (1.83±0.49 pmol/l) in cows with mastitis was comparable to the level of calcitonin in healthy cows (p>0.05). The level of vitamin D (23.72±7.19 nmol/l) found in the blood serum of cows with mastitis correlated inversely with level of Ca (r = -0.752) and P (r = -0.901).

Key words: mastitis, parathyroid hormone, calcitonin, vit D, Ca, P, Mg, cows.

Įvadas. Karvių susirgimas mastitu priklauso nuo daugelio veiksnių, taip pat ir nuo medžiagų apykaitos būklės. Atskiri mokslininkai (Katholm et al., 1992; Kremer et al., 1993; Oltenacu, Ekesbo, 1994) nurodo, kad, sutrikus karvių medžiagų apykaitos procesams, padidėja sergamumas mastitu. Kalcio, fosforo ir magnio apykaitos procesai glaudžiai susiję, dėl to juos reikia tirti kartu. Kalcio koncentracija pakitusi 1 proc., jau gali veikti kalcio homeostazę palaikančius mechanizmus: kalcio deponavimą arba rezorbciją iš kaulų, išskyrimą su šlapimu, tulžimi, per žarnų gleivinę, taip pat hormoninį reguliacijos mechanizmą (Lacey, 1998; Ruat, 2003). Skirtingai nuo kalcio, kurio koncentracija serume yra labai pastovi, neorganinių fosfatų kiekis per parą gali kisti iki 50 proc. Magnio koncentracija kraujyje labai priklauso nuo magnio kiekio pašaruose, ir gali kur kas labiau kisti

negu kalcio koncentracija (Chester-Jones et al., 1990). Parathormonas yra vienas pagrindinių hormonų, reguliuojančių kalcio kiekį kraujyje. Kalcio ir fosforo daugį serume jis reguliuoja per kaulų, žarnų ir inkstų receptorius (Amizuka et al., 1997; Horst et al., 1994; Bruder et al., 2001; Deftos, 2001). Vitaminas D sulaiko pakankamai mineralinių jonų, kad užtikrintų kaulo matricos mineralizaciją, tuo tarpu PTH palaiko tinkamą kalcio ir fosforo santykį tarpląstelinuose skysčiuose. Veikdami kaulus, inkstus ir virškinamąjį traktą, trys kalcitropiniai hormonai – parathormonas, kalcitoninas ir vitamino D metabolitai, ypač 1,25-dihidroksivitaminas D, palaiko normalų kalcio kiekį kraujo serume ir tarpląstelinuose skysčiuose (Goff et al., 1997; Tordoff et al., 1998; Allen, 2003; Tryfonidou et al., 2003).

Parathormono ir kalcitonino kiekio kaita sveikų gyvūnų kraujyje tirti naudojant laboratorinius gyvūnus. Apie PTH ir CT hormonų kiekio kaitas sveikų ir sergančių karvių kraujyje mažai rašyta. Nustatyta, kad PTH daugėti pradeda likus dviem dienoms iki apsiveršavimo, o daugiausia šio hormono nustatyta praėjus 12 val. po apsiveršavimo (Goff et al., 1997). Iširta, kad kalcitonino ir vitamino D kiekis kraujo serume priklauso nuo karvių amžiaus, laktacijos laiko ir produktyvumo. Nurodoma, kad laktacijos pradžioje sumažėja kalcitonino, padaugėja vitamino D, o praėjus dviem mėnesiams po laktacijos, padidėja kalcitonino kiekis (Garel, 1987; Kovacs, Kronenberg, 1997; Liesegang et al., 2000). Kaip kinta medžiagų apykaitos procesai mastitu sergančių karvių kraujyje, informacijos yra mažai. Atskiri mokslininkai (Hardeng, Edge, 2001; Heringstad et al., 2005; Oltenacu, Ekesbo, 1994) nustatė, kad yra tiesioginis ryšys tarp karvių sergamumo mastitu, ketoze ir pareze po atsivedimo.

Darbo tikslas – nustatyti vitamino D, kalcitonino ir parathormono kiekio kaitos ypatumus ir jų ryšį su kalcio, fosforo bei magnio rodikliais mastitu sergančių karvių kraujyje.

Tyrimų metodika. Darbas atliktas 2005 m. Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institute, Kauno, Kaišiadorių, Jurbarko rajonų individualių ūkių karvių fermose. Prieš formuojant grupes, bandomosios Lietuvos juodmargių veislės 5–10 metų karvės buvo iširtos kliniškai. Ištyrus pieną mastestu ir galvijus kliniškai, atrinktos karvės (n=30), sergančios slaptuoju ir klinikiniu mastitu. Kontrolinėje grupėje buvo sveikos (n=10) bei pareze ir osteomaliacija sergančios karvės (n=30).

Karvių kraujas tyrimams iš jungo venos imtas į vienkartinius mėgintuvėlius be antikoagulianto. Mėgintuvėliai, užpildyti kraujo serumu, buvo šaldomi kameroje –20°C temperatūroje. Visus mėgintuvėlius su

kraujo serumu vienu metu atšildžius, nustatytytas makroelementų Ca, P, Mg, taip pat 25-OH vitamino D, parathormono ir kalcitonino kiekis.

Ca, P bei Mg kiekis nustatytytas automatinio „Eos-Bravo“ analizatoriumi, 25-OH vitamino D – imunofermenitinės analizės (IFA) metodu (Immundiagnostik, Austrija). Parathormono daugis nustatytytas *in vitro* elektrocheminės liuminescencinės imuninės analizės metodu „Roche Elecsys 1010/2010“ analizatoriumi (Roche Diagnostics GmbH, JAV). Kalcitonino kiekis nustatytytas *in vitro* „IMMULITE“ (Diagnostic Products Corporation, JAV) analizatoriumi, chemiluminescencinės imunometrinės analizės metodu.

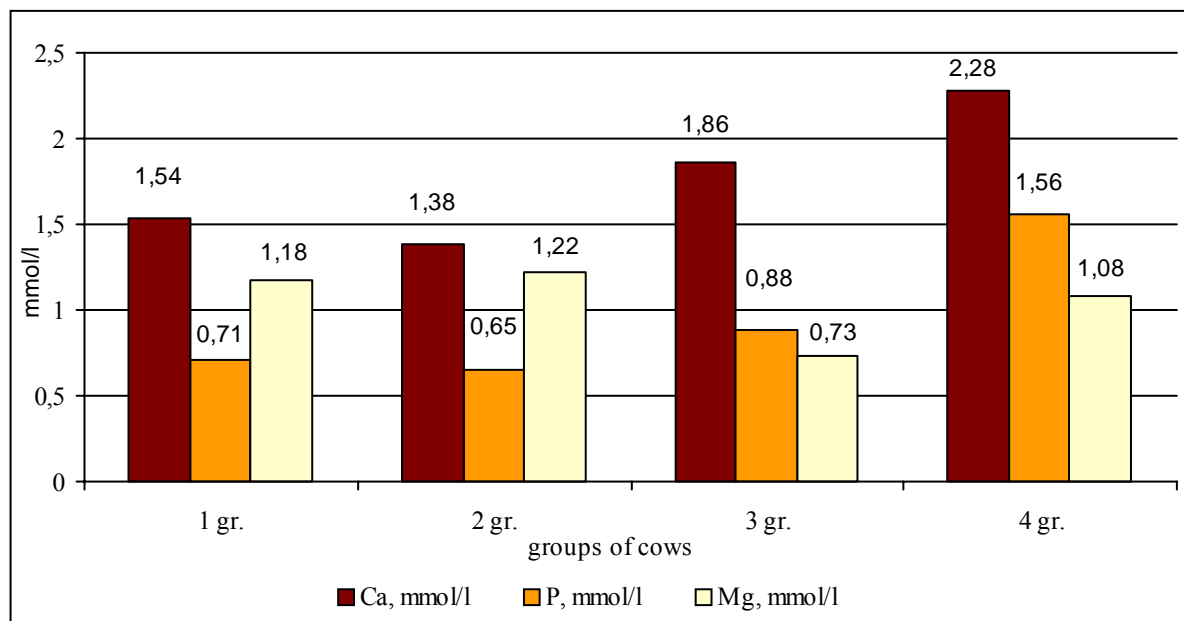
Duomenys statistiškai apdoroti kompiuterinėmis programomis „Prism 3“ ir „Microsoft Excel '97“. Apskaičiuoti statistinių duomenų aritmetiniai vidurkiai (M), absoliuti paklaida (m), koreliacijos koeficientas (r), patikimumo koeficientas (p). Skirtumas patikimas, kai $p < 0,05$.

Tyrimų rezultatai. Tirdami kalcitropinių hormonų, vitamino D ir makroelementų Ca, P, Mg kiekį mastitu sergančių karvių kraujyje nustatėme, kad kalcio kiekis kraujo serume kito neviršydamas žemutinės fiziologinės normos ($2,28 \pm 0,201$), o fosforas ($1,56 \pm 0,123$) bei magnis ($1,08 \pm 0,197$) atitiko normą (1 lentelė). PTH kiekis kito nuo 2,9 iki 4,62 pmol/l, vidutiniškai buvo $3,97 \pm 0,49$ pmol/l. Mastitu sergančių karvių kraujyje PTH kiekis patikimai statistiškai nesiskyrė nuo sveikų karvių ($p > 0,05$). Mastitu sergančių karvių kraujyje kalcitonino ($1,83 \pm 0,49$ pmol/l) buvo labai panašiai kaip ir sveikų karvių kraujyje ($p > 0,05$). Nustatytytas vidutinis vitamino D kiekis ($23,72 \pm 7,193$ nmol/l) buvo patikimai statistiškai mažesnis negu karvių, sergančių osteomaliacija ir pareze po apsiveršavimo ($p < 0,05$). Lyginant su sąlyginai sveikomomis karvėmis tvartiniu laikotarpiu, jo buvo taip pat patikimai statistiškai mažiau ($p < 0,05$).

1 lentelė. Sveikų ir sergančių karvių kraujo serumo rodikliai

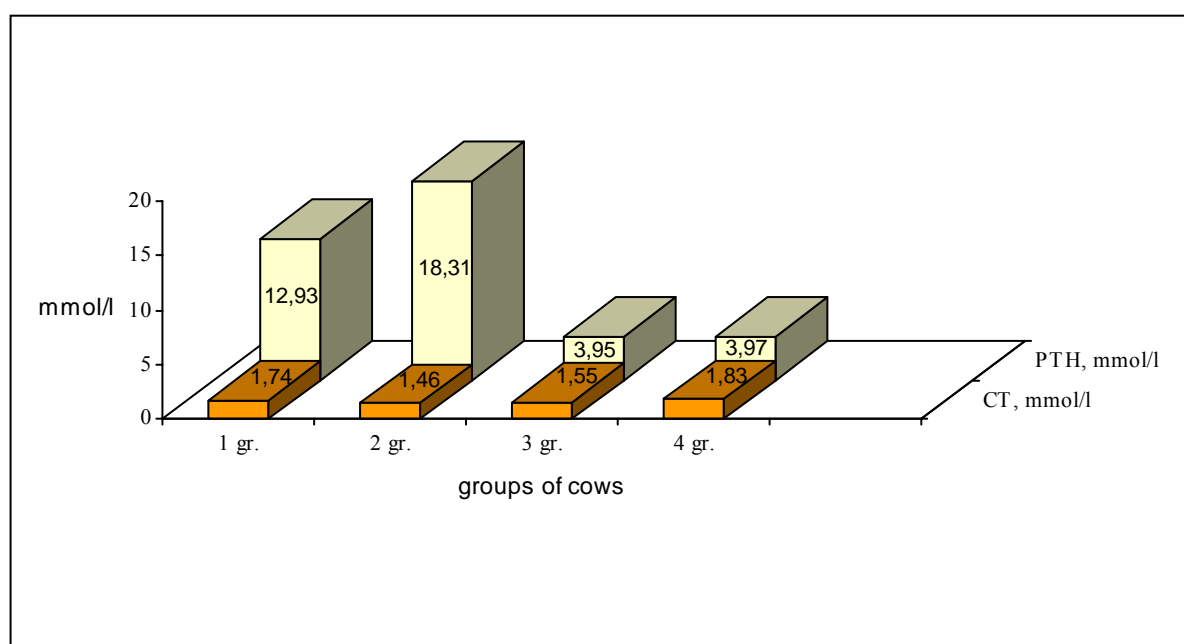
	Kraujo serumo rodikliai					
	PTH, pmol/l	CT, pmol/l	Ca, mmol/l	P, mmol/l	Mg, mmol/l	Vit. D, nmol/l
Kliniškai sveikos 5–7 metų karvės (n=10)						
M± m	4,42±0,57	1,54±1,14	1,97±0,24	1,46±0,25	0,98±0,22	34,1±3,07*
Pareze po apsiveršavimo sergančios karvės, šertos pašarais su mineraliniais priedais (n=10)						
M± m	12,93±2,14	1,74±0,61	1,54±0,61	0,71±0,30	1,18±0,50	43,09±8,16*
Pareze po apsiveršavimo sergančios karvės, šertos pašarais be mineralinių priedų (n=10)						
M± m	18,31±6,18	1,46±0,42	1,38±0,45	0,65±0,23	1,22±0,34	45,84±8,76*
Osteomaliacija sergančios karvės (n=10)						
M± m	3,95±0,60	1,55±0,19	1,86±0,18	0,88±0,19	0,73±0,11	33,97±7,39*
Mastitu sergančios karvės (n=30)						
M± m	3,97±0,50	1,83±0,49	2,28±0,20	1,56±0,12	1,08±0,20	23,72±7,19

Pastaba. *– $p < 0,05$ lyginant bandomos grupės duomenis su kontrolinių grupių duomenimis.



1 pav. Mastitu ir mineralinės medžiagų apykaitos ligomis sergančių karvių biocheminiai kraujo serumo rodikliai

Karvių grupės: 1 gr. – pareze po apsiveršiavimo sergančios karvės, šertos su mineraliniais papildais; 2 gr. – pareze po apsiveršiavimo sergančios karvės, šertos be mineralinių papildų; 3 gr. – osteomaliacija sergančios karvės; 4 gr. – mastitu sergančios karvės



2 pav. Parathormono ir kalcitonino kiekio kaita sergančių karvių kraujo serume

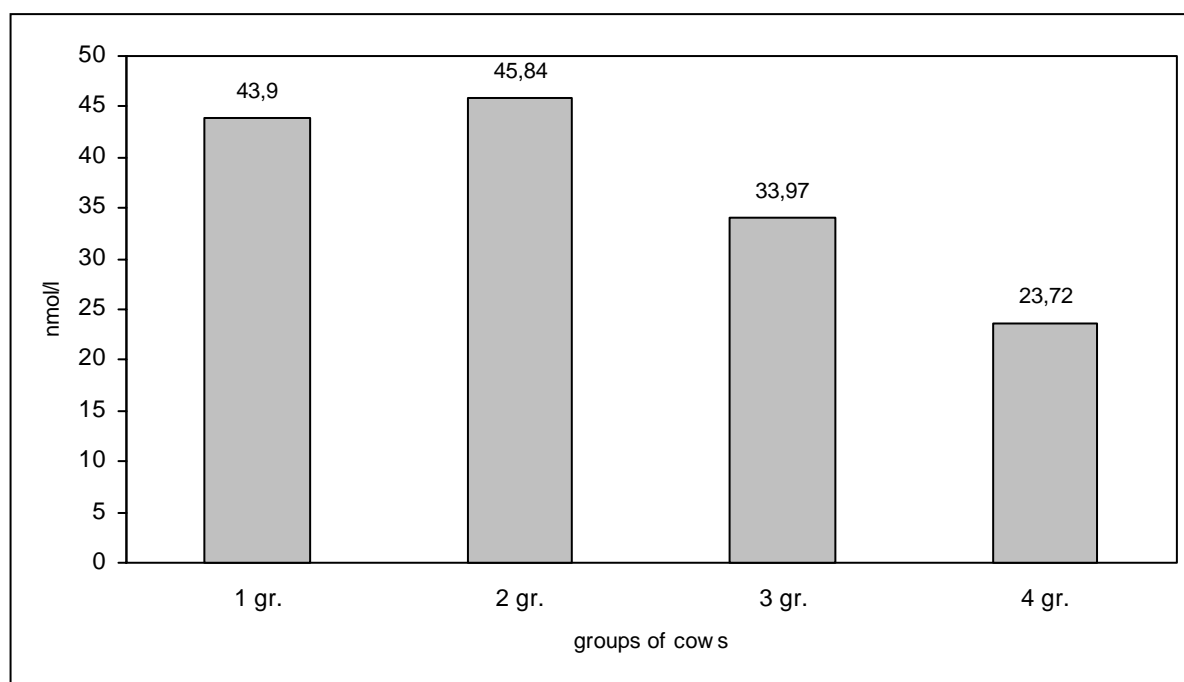
Karvių grupės: 1 gr. – pareze po apsiveršiavimo sergančios karvės, šertos su mineraliniais papildais; 2 gr. – pareze po apsiveršiavimo sergančios karvės, šertos be mineralinių papildų; 3 gr. – osteomaliacija sergančios karvės; 4 gr. – mastitu sergančios karvės

Duomenų aptarimas. Mūsų tirtos karvės mastitu sirgo tvartiniu laikotarpiu, kai pablogėja gyvulių laikymo sąlygos, daugiau pasitaiko medžiagų apykaitos sutrikimų, ima trūkti vitaminų, mineralinių medžiagų. Tirdami kalcitropinių hormonų, vitamino D ir makroelementų Ca,

P, Mg kieki mastitu sergančių karvių kraujyje nustatėme, kad kalcio kiekis kito neviršydamas žemutinės fiziologinės normos, o fosforo bei magnio – atitiko normą. Kai kurie mokslininkai (Bertoni et al., 1994; Kim, Lee, 2002; Lotthammer et al., 1988) mastitu sergančių

karvių kraujyje nustatė sumažėjusį kalcio kiekį. Jų kraujyje PTH ir kalcitonino kiekis patikimai statistiškai nesiskyrė ($p>0,05$). Literatūros duomenimis, kalcitonino kiekis tiesiogiai priklauso nuo kraujo serume esančio kalcio kiekio (Austin, Heath, 1981; Deftos, Gagel, 2000). Kadangi mastitu sergančių karvių kraujo serume nustatytas kalcio daugis buvo artimas žemutinei fiziologinės normos ribai, kalcitonino kiekis taip pat nėra didelis – artimas sveikoms karvėms nustatytam. Mūsų tyrimais, vitamino D kiekis, nustatytas mastitu sergančių karvių kraujo serume, atvirkščiai koreliuoja su kalcio ($r = -0,75$) ir fosforo ($r = -0,901$) kiekiu. Iš mūsų nustatytų koreliacinių ryšių galima matyti, kaip ilgalaikė

hipokalcemija daro įtaką vitamino D sintezei, kad būtų intensyvinama kalcio ir fosforo rezorbcija iš žarnyno. Mastitu ir osteomaliacija sergančių karvių PTH kiekis labai panašus (atitinkamai $3,97\pm 0,50$ ir $3,95\pm 0,60$ pmol/l; $p>0,05$), tačiau vitamino D kiekis skiriasi (atitinkamai $23,72\pm 7,19$ ir $33,97\pm 11,39$ nmol/l, $p<0,05$). Mūsų tyrimo rezultatai sutampa su Haussler M. R. ir kitų mokslininkų (1998) duomenimis, kurie nustatė, kad vitamino D daugis priklauso ir nuo kalcio, ir nuo fosforo koncentracijos serume, tačiau lyginant su PTH ši sąveika gerokai silpnesnė. Mes tyrimais nustatėme, kad PTH silpnai atvirkščiai koreliuoja su kalcio ($r = -0,303$) kiekiu.



3 pav. 25-OH vitamino D kiekio kaita sergančių karvių kraujo serume

Karvių grupės: 1 gr. – pareze po apsiveršiamo sergančios karvės, šertos su mineraliniais papildais; 2 gr. – pareze po apsiveršiamo sergančios karvės, šertos be mineralinių papildų; 3 gr. – osteomaliacija sergančios karvės; 4 gr. – mastitu sergančios karvės

Išvados.

1. Kalcio kiekis mastitu sergančių karvių kraujo serume kito neviršydamas žemutinės fiziologinės normos ($2,28\pm 0,201$), o fosforo ($1,56\pm 0,123$) bei magnio ($1,08\pm 0,197$) kiekis atitiko normą.

2. Mastitu sergančioms karvėms nustatyta vidutinė neigiama PTH koreliacija su kalciumu ir stipri neigiama – su vitaminu D.

3. Vitamino D kiekis, nustatytas mastitu sergančių karvių kraujo serume, atvirkščiai koreliuoja su kalcio ($r = -0,75$) ir fosforo ($r = -0,901$) kiekiu.

4. Mastitu sergančių karvių kraujyje kalcitonino kiekis buvo labai artimas nustatytam sveikų karvių kraujyje ($p>0,05$).

Literatūra

- Allen M. J. Biochemical Markers of Bone Metabolism in Animals: Uses and Limitations. *Vet Clin Path.* 2003. 32(3). P. 101–113.
- Amizuka N., Karaplis A. C., Henderson H. E. Haploinsufficiency of parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) results in abnormal postnatal bone development. *Dev Biol.* 1996. 175. P. 166–170.
- Austin L., Heath H. Calcitonin; physiology and pathophysiology. *New Engl J Med.* 1981. 304. P. 269–278.
- Bertoni G., Trevisi E., Cappelli F. P., Cappa V., Piccioli-Cappelli F., Trenti F. Variation in blood parameters with mastitis of different severity in dairy cows. *Proceeding 18th World Buiatrics Congress, Bologna, Italy.* 1994. 2. P. 1427–1430.
- Bruder J. M., Guise T. A., Mundy G. R. Mineral Metabolism. In: *Endocrinology & Metabolism, Fourth Edition*, P. Felig and L. A. Froman (eds.). 2001. Chapter 22. P. 1079–1159.
- Chester-Jones H., Fontenot J. P., Veit H. P., Webb K. E. Physiological and pathological effects of feeding high levels of magnesium to steers. *J Anim Sci.* 1990. 68. P. 4400–4413.
- Deftos J. Immunoassays for PTH and PTHrP In: *The Parathyroids, Second Edition*, J. P. Bilezikian, R. Marcus and A. Levine (eds.). 2001. Chapter 9, P. 143–165.

8. Deftos L. J., Gagel R.. Calcitonin and Medullary Thyroid Carcinoma In: Cecil Textbook of Medicine, Twentieth First Edition, J. B. Wyngarden and J. C. Bennett. 2000. Chapter 265, P. 1406–1409.
9. Garel J. M. Hormonal control of calcium metabolism during the reproductive cycle in mammals. *Physiol Rev.* 1987. 67. P. 1–66.
10. Goff J. P., Horst R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci.* 1997. Vol. 80. P. 1260–1268.
11. Hardeng F., Edge V. L. Mastitis, Ketosis, and Milk Fever in 31 Organic and 93 Conventional Norwegian Dairy Herds. *J Dairy Sci.* 2001. 84. P. 2673–2679.
12. Haussler M. R., Whitfield G. K., Haussler C. A. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res.* 1998. 13. P. 325–349.
13. Heringstad B., Chang Y. M., Gianola D., Klemetsdal G. Genetic Analysis of Clinical Mastitis, Milk Fever, Ketosis, and Retained Placenta in Three Lactations of Norwegian Red Cows. *J Dairy Sci.* 2005. 88. P. 3273–3281
14. Horst R. L., Goff J. P., Reinhardt T. A. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 1994. 77. P. 1936–1951.
15. Katholm J., Andersen P. H., Haubro-Andersen P. Acute Coliform mastitis in dairy cows: Endotoxin and biochemical changes in plasma and colony-forming units in milk. *Vet Rec.* 1992. 131. P. 513–514.
16. Kehrli M., Goff J. P., Harp J. A., Thurston J. R., Norcross N. L. Effects of preventing periparturient hypocalcemia in cows by parathyroid hormone administration on hematology, conglutinin, immunoglobulin, and shedding of *Staphylococcus aureus* in milk. *J Dairy Sci.* 1990. 73 (8). P. 2103–2111.
17. Kim Sung-Sun, Lee Kyoung-Kap. Comparison of Blood Biochemical Values between High and Low Producing Holstein Cows. *J Vet Clin.* 2002. 19 (4). P. 391–396.
18. Kovacs C. S., Kronenberg H. M.. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium, and lactation. *Endocr Rev.* 1997. 8. P. 832–872.
19. Kremer W. D., Noordhuizen-Stassen E. N., Grommers F. J., Schukken Y. H., Heeringe R., Brand A., Burvenich C. Severity of experimental *Escherichia coli* mastitis in ketonemic and nonketonemic dairy cows. *J Dairy Sci.* 1993. 76. P. 3428–3436.
20. Lacey D. L., Timms E., Tan H. L. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998. 93. P. 165–176.
21. Liesegang A., Eicher R., Sassi M., Risteli K., Kraenzlin J., Riond J., Wanner M. Biochemical Markers of Bone Formation and Resorption Around Parturition and During Lactation in Dairy Cows with High and Low Standard Milk Yields. *J Dairy Sci.* 2000. 83. P. 1773–1781.
22. Lotthammer K. H., Boehnke H. J., Morawietz M. Relationships between different blood parameters as criteria for metabolic disorders and somatic cell count in dairy cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1988. 95. P. 379–384.
23. Oltenacu P. A., Ekesbo I. Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle. *Vet Res.* 1994. 25:208-12
24. Ruat M. Pharmacology of the extracellular calcium ion receptor. *Therapie.* 2003. 58 (5). P. 395–401.
25. Tordoff M. G., Hughes R. L., Pilchak D. M. Calcium intake by rats: influence of parathyroid hormone, calcitonin, and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Am J Physiol.* 1998. 274. P. 214–231.
26. Tryfonidou M. A., Holl M. S., Vasterburg M., Oosterlaken-Dijksterhuis M. A., Birkenhäger-Frenkel D. H., van den Brom W. E., Hazewinkel A. W. Hormonal regulation of calcium homeostasis in two breeds of dogs during growth at different rates. *J Anim Sci.* 2003. 81. P. 1568–1580.