

## LIPIIDSETE METABOLIITIDE REFERENTSVÄÄRTUSED EESTI HOLSTEINI TÕUGU LEHMADE VERESEERUMIS

H. Jaakson, K. Ling

**ABSTRACT:** *Blood reference values of some lipid metabolites in Estonian Holstein cows. The objective of the study was to work out reference values of non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, total lipids and total cholesterol. The following five stages of gestation or/and lactation of 109 clinically healthy cows from 3 different farms were under investigation: last two weeks of gestation ( $\leq 2$  NEP), first two weeks of lactation ( $\leq 2$  NPP); 4...6 (4–6 NPP), 9...11 (9–11 NPP) and 15...18 (15–18 NPP) weeks after parturition. T-test was used to evaluate the differences in metabolites concentrations between the stages. Normal or lognormal distribution of the metabolites was decided on lesser skewness of the distribution curve. Average concentrations of the compounds as well as their reference values were calculated separately for each stage. Observed dynamics of the blood parameters characterized the mobilization of body reserves in periparturient period. The shapes of the dynamics curves illustrating differences in the parameters concentrations between the stages as well as the actual concentrations of the compounds were in line with the data of other researchers. The established reference values indicate that in laboratory investigations stage of gestation or/and lactation as a factor affecting the physiological state of the cows must be considered.*

**Keywords:** *reference values, blood metabolites, lipid metabolism, non-esterified fatty acids, triglycerides, total lipids, cholesterol, Estonian Holstein cow.*

Eesti holsteini tõugu lehmade piimatoodang on viimastel aastatel pidevalt suurenenud. Piimatoodangu suurenemisega on seotud ainevahetushaiguste sagenemine, vähene viljakus ja mitmed teised probleemid (Eesti..., 2000, 2001; Rauw jt, 1998), millele lahendustee leidmine eeldab muu hulgas laboratoorsete uuringute läbiviimist. Siit tuleneb vajadus kindla reeglistiku alusel koostatud võrdlus- ehk referentsandmebaaside järele, mille abil uurijad ja praktikud saaksid interpreteerida oma määramistulemusi ning neid omavahel võrrelda.

Metaboliidi referentsväärtused on metaboliidisisalduse tüüpiline vahemik, mis on kindlaks määratud mingit spetsiifilist eesmärki silmas pidades. Kliinilises diagnostikas kasutatakse vere metaboliitidesisalduse referentsväärtusi abivahendina haiguste diagnoosimisel. Patsiendil mõõdetud metaboliidisisalduse võrdlemine selle metaboliidi referentsväärtustega kinnitab haiguse kliinilise pildi alusel pandud diagnoosi või annab veterinaarile lisainformatsiooni, kui kliinilise pildi alusel diagnoosimine on raske või võimatu.

Normaaljaotusele alluva metaboliidi kontsentratsiooni puhul on teada, et katseloomadel määratud metaboliidi kontsentratsioonide osakaal, mis katab vahemiku kahe standardhälbe ulatuses keskmisest mõlemas suunas, on alati 95% ega sõltu katseloomade arvust (Kaneko jt, 1997). Kliinilis-diagnostilisest seisukohast on see oluline – ainult 5%-l normaalsetel loomadel diagnoositakse ekslikult haigus, kui metaboliidi referentsväärtustena on määratud vahemik kahe standardhälbe ulatuses keskmisest kontsentratsioonist.

Ehkki enamik bioloogilisi suurusi, sh vere metaboliitide kontsentratsioonid, alluvad normaaljaotusele (Aruvee jt, 2000; Kaneko jt, 1997; Teinberg, 1978), esineb siiski ka erandeid. On andmeid, et just mitmete ensüümiaktiivsuste jaotuvus võib olla asümmeetriline (Kaneko jt, 1997; Ling, 1988). Sel juhul transformeeritakse jaotuvus naturaallogaritmimisega normaaljaotusele lähedasemaks, seda iseloomustatakse statistiliselt (leitakse keskmine ja standardhälve) ning arvutatakse nn naturaallogaritmilised referentsväärtused. Viimastele rakendatakse eksponentfunktsiooni, millega leitakse algväärtuste referentsvahemik (Kaneko jt, 1997). Teine võimalus asümmeetriliselt jaotuva tunnuse analüüsiks ja referentsväärtuste leidmiseks on jaotusfunktsioonist sõltumatute protsentilide kasutamine (Kaneko jt, 1997; Ling, 1988, 1992; Herrera, 1958).

Aastakümneid on püütud vere metaboliitidesisalduse määramist kasutada ka loomade söötamise ja ainevahetusliku seisundi hindamisel, sel puhul on referentsväärtuste käsitlus kliinilise diagnostikaga võrreldes veidi erinev. Söötmissalaseid uuringuid teostatakse ning ainevahetuslikku seisundit hinnatakse loomarühmades või karjades, kus uuritavad loomad grupeeritakse tõust, soost, vanusest, füsioloogilisest seisundist jne lähtuvalt, et vähendada söötmisest mittetulenevate faktorite mõju metaboliidi kontsentratsioonile (Herdt, 2000).

Eesti lehmade vere mitmete biokeemiliste näitajate referentsväärtused (normaalnäitajad), millele laboratoorsetes uuringutes võiks tugineda, on toodud Eesti Loomakasvatuse ja Veterinaaria Teadusliku Uurimise Instituudi brošüüris "Lehmade ja tiinete mullikate ainevahetus- ja maksatalitlushäirete diagnoosimise ja profülaktika meetodiline juhend" (Raid, 1980). Mõnede ensüümiaktiivsuste referentsväärtused (piirväärtused) on toodud väljaandes "Teaduse saavutusi ja eesrindlike kogemusi põllumajanduses" (Ling, 1985). Suure

piimaanniga lehma iseloomustav intensiivne keharasvade kasutamine (Rukkamsuk, 1999; Herdt, 1988) on suurendanud huvi rasvade ainevahetuse ja lipiidsete metaboliitide vastu. Eeltoodud väljaannetes puuduvad aga andmed esterifitseerumata rasvhapete (NEFA), triglütseriidide, üldlipiidide ja üldkolesterooli sisalduse kohta eesti holsteini lehmade veres. Nimetatud näitajate poegimiseelse ja -järgse dünaamika ning referentsväärtuste leidmine ongi käesoleva töö eesmärgiks.

**Võtmesõnad:** referentsväärtused, vere metaboliidid, rasvade ainevahetus, esterifitseerumata rasvhapped, triglütseriidid, üldlipiidid, kolesterool, eesti holsteini tõugu lehm.

## Materjal ja meetodika

Aastatel 1999–2000 võeti vereproove 33-lt OÜ Piistaoja Katsetalu, 61-lt AS Tartu Agro ja 15-lt Andres Tamme Soone talu eesti holsteini tõugu kliiniliselt tervelt lehmalt, kellest üheksa olid esmaspoegijad. Keskmine piimatoodang nimetatud farmides oli 5916–7932 kg lehma kohta aastas, lehmade söödaratsioonid olid koostatud vastavalt söötmisnormidele.

Vereproovid võeti 3–6 tundi pärast söötmist järgmistes tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumides: 1–2 nädalat enne poegimist (<-2 NEP), 1–2 nädalat pärast poegimist (<2 NPP), 4–6 NPP, 9–11 NPP ja 15–18 NPP. Vereseerumist määrati üldlipiidide kontsentratsioon sulfofosforvaniliin-reaktsiooniga (Knight jt, 1972 ning Zoliner ja Kirsch, 1962, ref. Lutski jt, 1978). Esterifitseerumata rasvhapete (NEFA) sisaldus leiti modifitseeritud Liunggereni-Perasoni (ref. Kondrahhin jt, 1985, ja Lutski jt, 1978) meetodil, triglütseriidide ja üldkolesterooli sisalduste määramiseks kasutati firma Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH analüüsikomplekte. 1999. a kogutud proovides määrati uuritud biokeemiliste näitajate sisaldused -20 °C juures säilitatud seerumist. Kirjandusallikates toodud andmed sügavkülmutamise mõju kohta on vastuolulised (Jaakson, Ling, 2001; Nägele jt, 1985; Shimizu, Yamada, 1985; Siedel jt, 1985; Veterinärmedizinische..., 1985). Seetõttu käesolevas töös seerumi sügavkülmutamisest tingitud võimalikke kontsentratsioonimuutusi arvesse ei võetud.

Kasutatud meetodite täpsuse hindamiseks tehti 20-st paralleelmõõtmisest koosnev mõõtmiste seeria ning leiti meetodite variatsioonikoefitsiendid. Triglütseriidide, üldkolesterooli ja üldlipiidide variatsioonikoefitsiendid (5,7–7,8%) olid piirides, mida humaanmeditsiinis loetakse lubatavateks (Lumsden, 2000). Suurima varieeruvusega (33,8%) oli NEFA määramisel kasutatud meetodika.

Kõigis vereproovides määrati ka glükoosi ja ketokehade sisaldused. Kui proovis oli üheaegselt glükoosisisaldus madalam kui 40 mg/dl ja ketokehade sisaldus kõrgem kui 6 mg/dl, siis loeti lehm ketoosi põdevaks ning seda proovi andmetötluses ei kasutatud (Raid, 1980). Erinevatest farmidest ning eri aastatel kogutud materjali käsitleti ühtse valimina. Kokku kasutati 471 vereproovi analüüsitulemusi, uurimisperiodide keskvaartuste erinevuse olulisust hinnati t-testiga (MS Excel). Referentsväärtuste ( $\bar{x} \pm 2s$ ) leidmisel võrreldi algset ja naturaallogaritmitud variatsioonirida ning lähtuti väikseima asümmeetriakordajaga variatsioonireast kui enam normaaljaotusele vastavast.

## Tulemused ja arutelu

Tabelis 1 ja joonisel 1 on esitatud uuritud metaboliitide sisaldused lehmade vereseerumis erinevates tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumides.

Analüüsitulemuste võrdlemisel ilmnes NEFA keskmise sisalduse erinevus vaid kahe järjestikuse staadiumi, 4–6 ning 9–11 NPP vahel. Kindlalt võib siiski väita, et seerumi NEFA-sisalduse poegimiseelne ning poegimisjärgne tase 4.–6. laktatsiooninädalani on kõrgem kui järgnevat laktatsiooni või/ja tiinuse staadiumides (tabel 1). NEFA keskmise sisalduse selline dünaamika langeb kokku teoreetiliste seisukohtadega kehavarude intensiivsest kasutamisest poegimiseelsel ja -järgsel perioodil. Sel ajal suureneb oluliselt glükoosi- ja energia-tarve, viimane kaetakse põhiliselt rasvkoe triglütseriidide lipolüüsil vabanevate rasvhapete arvel (Bell, 1995; Lean jt, 1992; Herdt, 1988). Et insuliin on lipolüüsi ja glükoneogeneesi inaktiveeriv hormoon, glükagooni toime aga on vastupidine, siis toetab triglütseriidide lipolüüsi insuliinisisalduse langus ja glükagoonisisalduse tõus organismis (Rukkamsuk, 1999; Herdt, 1988; Brockman, Laarveld, 1986). Leitud NEFA-sisalduse dünaamika on kooskõlas ka mitmete uurijate poolt läbi viidud katsetega (Rukkamsuk, 1999; Grum jt, 1996; Ljokjel jt, 1995). Siiski jäi käesolevas uurimuses NEFA-sisalduse muutus kogu katseperioodi lõikes samade kirjandusallikatega võrreldes suhteliselt väikeseks. Erinevus võib olla tingitud söötmistingimuste ning lehmade geneetilise potentsiaali, sh piimajõudluse erinevustest. Teise põhjusena võib arvesse tulla individuaalväärtuste väga suur varieeruvus, mis põhjustab keskmiste ühtlustumist. Viimast võib olla veelgi võimendanud esterifitseerumata rasvhapete määramisel kasutatud meetodikast tulenev suur varieeruvus (meetodi variatsioonikoefitsient 33,8%). Käesolevas uurimuses kasutatud meetodikat hindavad ebatäpselt ka S. Shimizu ja H. Yamada (1985) oma esterifitseerumata rasvhapete määramisele pühendatud meetodilises artiklis. J. Lumsden'i (2000) andmetel aktsepteeritakse humaanmeditsiinis mõningaid määramismeetodeid, mille variatsioonikoefitsient on kuni 25%. Kahjuks ei ole autor toonud andmeid NEFA määramismeetodi kohta.

Esterifitseerumata rasvhapete referentsväärtuste (tabel 2) leidmisel selgus, et staadiumides  $<-2$  NPP ja  $<2$  NPP langeb referentsväärtuste alumine piir alla  $0 \mu\text{mol/l}$ . Selle põhjuseks on NEFA-sisalduse individuaalväärtuste suurest varieeruvusest tingitud suur standardhälve ning individuaalväärtuste lognormaalne jaotuvus, mida iseloomustas väärtuste parempoolne asümmeetrilisus ning nullist erinev positiivset väärtust omav asümmeetriakordaja. Reaalne kontsentratsioon saab aga omada vaid positiivset väärtust või olla minimaalselt null. Individuaalväärtuste naturaallogaritmide asümmeetriline jaotuvus oli ka põhjuseks, miks enamiku tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumide puhul osa NEFA kõrgetest kontsentratsioonidest jäi referentsväärtustena määratletud kontsentratsioonivahemikust välja, ühel juhul (4–6 NPP) aga on NEFA-sisalduse referentsväärtuste hulka loetud ka teatud vahemik kõrgeid kontsentratsioone, mida katseloomadel reaalset ei esinenud. Saadud tulemused lubavad eeldada vere NEFA-sisalduse lognormaalset jaotuvust kõigis uuritud tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumides. Täpsema määramismetoodika ja suuremate andmehulkade puhul ei saa siiski välistada normaaljaotust. Individuaalväärtuste ulatuslikust varieeruvusest on ilmselt tingitud ka referentsväärtuste laiemad piirid võrreldes J. Kaneko jt (1997) ja I. Kondrahini jt (1985) ülevaadetes esitatuga. Täpsema metoodika kasutuselevõtt vähendaks kindlasti varieeruvust ning täpsustaks marginaalseid referentsväärtusi.

Triglütseriidide sisaldus lehmade veres poegimisjärgselt langes (tabel 1, joonis 1), alates 4–6 NPP kuni 15–18 NPP tõusis. Selline triglütseriidide sisalduse dünaamika ühtib kirjanduses toodud andmetega (Blum jt, 2000; Bösö jt, 2000; Pysera, Opalka, 2000) ja on kooskõlas keharasvade mobiliseerimisega intensiivselt lakteerivatel loomadel. Nimelt kaasneb keharasvade kasutamisega rasvkoe triglütseriidide lipolüüs ning seerumi triglütseriidisisalduse langus (Bell, 1995; Herdt, 1988). Samas oli seerumi triglütseriidisisalduse langus lakteerivatel eesti holsteini tõugu lehmadel väiksem ja tõus poegimiseelsele tasemele kiirem kui ülal mainitud autorite katsetes. Sellise erinevuse võimalike põhjustena tulevad arvesse erinevus katseloomade piimatoodangus, söödaratsioonide erinevused ning valimite juhuslikkus. Triglütseriidisisalduse langusele vastab NEFA-sisalduse tõus, mis ilmnes ka käesolevas töös (joonis 1).

Seerumi triglütseriidisisalduse referentsväärtused (tabel 2) on leitud nelja esimese tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumi kohta individuaalväärtuste naturaallogaritmide, staadiumi 15–18 NPP kohta aga individuaalväärtuste põhjal (tabel 2), kuna asümmeetriakordajad näitasid individuaalväärtuste lognormaalset jaotuvust neljas esimeses staadiumis ning normaaljaotusele lähedast jaotuvust viimases. Et esimeses neljas staadiumis oli uuritud loomade arv suurem (tabel 1), siis on küllaltki tõenäoline, et seerumi triglütseriidisisaldus võib omada lognormaalset jaotuvust.

Eri autorid annavad seerumi triglütseriidisisalduse referentsväärtusteks kogu tiinuse või/ja laktatsiooni ulatuses väga erinevaid vahemikke. Käesolevas töös leitud triglütseriidisisalduse referentsväärtused mahuvad kõigis vaatlusalustes staadiumides suhteliselt hästi I. Kondrahini jt (1985) poolt toodud vahemikku 20–50 mg/dl; on aga kõrgemad kui J. Kaneko jt (1997) pakutud vahemik 0–14 mg/dl. Ei saa välistada, et viimasel juhul on testitud suhteliselt palju laktatsiooni algul lüpsvaid lehmi, mil seerumi triglütseriidisisaldus on suhteliselt madal, ning see on mõjutanud ka keskmist sisaldust.

Vereseerumi üldlipiidisisalduse dünaamika – poegimisjärgne pidev tõus kuni staadiumini 9–11 NPP (tabel 1, joonis 1) – on kooskõlas kirjandusallikates tooduga (Pysera, Opalka, 2000; Jagdale jt, 1995; Vasiljeva, 1982). Et eri autorid on kasutanud erinevaid määramismetodeid, siis on antud töös leitud üldlipiidisisalduse taset teiste autorite tulemustega küllaltki raske võrrelda. Kõrvutades antud töös leitud seerumi üldlipiidisisalduse dünaamikat ja absoluutseid kontsentratsioone vaatlusalustes tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumides teiste uuritud metaboliitide vastavate näitajatega, torkab silma üldlipiidi- ja üldkolesteroolisisalduse sarnane dünaamika (tabel 1, joonis 1). Et seerumi üldkolesteroolisisaldus on oluliselt kõrgem kui triglütseriidide ja esterifitseerumata rasvhapete summaarne sisaldus, siis on ilmne, et üldlipiidisisalduse dünaamika tuleneb peamiselt üldkolesteroolisisalduse muutustest.

Üldlipiidisisalduse referentsväärtused (tabel 2) leiti individuaalväärtuste jaotuvust iseloomustavatele asümmeetriakordajatele tuginedes teises ja neljandas tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumis (1–2 NPP ja 9–11 NPP) naturaallogaritmide, ülejäänud juhtudel aga individuaalväärtuste põhjal. Meie poolt leitud referentsväärtused on madalamad I. Kondrahini jt. (1985) ülevaates ilma määramismetoodit esitamata toodud “normatiividest”. Samas mahuvad meie tulemused hästi D. Lutski jt (1978) sama meetodiga leitud vahemikku 140–550 mg/dl.

Ka seerumi üldkolesteroolisisalduse dünaamika eesti holsteini tõugu lehmadel (tabel 1, joonis 1) – madal tase poegimisele kõige lähematel perioodidel ja järgnev tõus maksimumiga 9–11 NPP – langeb kokku paljude autorite poolt saadud tulemustega (Blum jt, 2000; Pysera, Opalka, 2000; Bösö jt, 2000; Jagdale jt, 1995; Ruegg jt, 1992). Küll aga märgivad mõned eespool toodud autoritest käesolevas uurimuses leitud ulatuslikumat seerumi üldkolesteroolisisalduse tõusu alates 3.–4. nädalast pärast poegimist (Bösö jt, 2000; Jagdale jt, 1995).

**Tabel 1.** Esterifitseerumata rasvhapete (NEFA), triglütseriidide, üldlipiidide ja kolesteroolisisaldus eesti holsteini tõugu lehmade vereseerumis sõltuvalt tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumist

**Table 1.** Non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, total lipids and cholesterol content in blood serum of Estonian Holstein cows in different stages of gestation or/and lactation

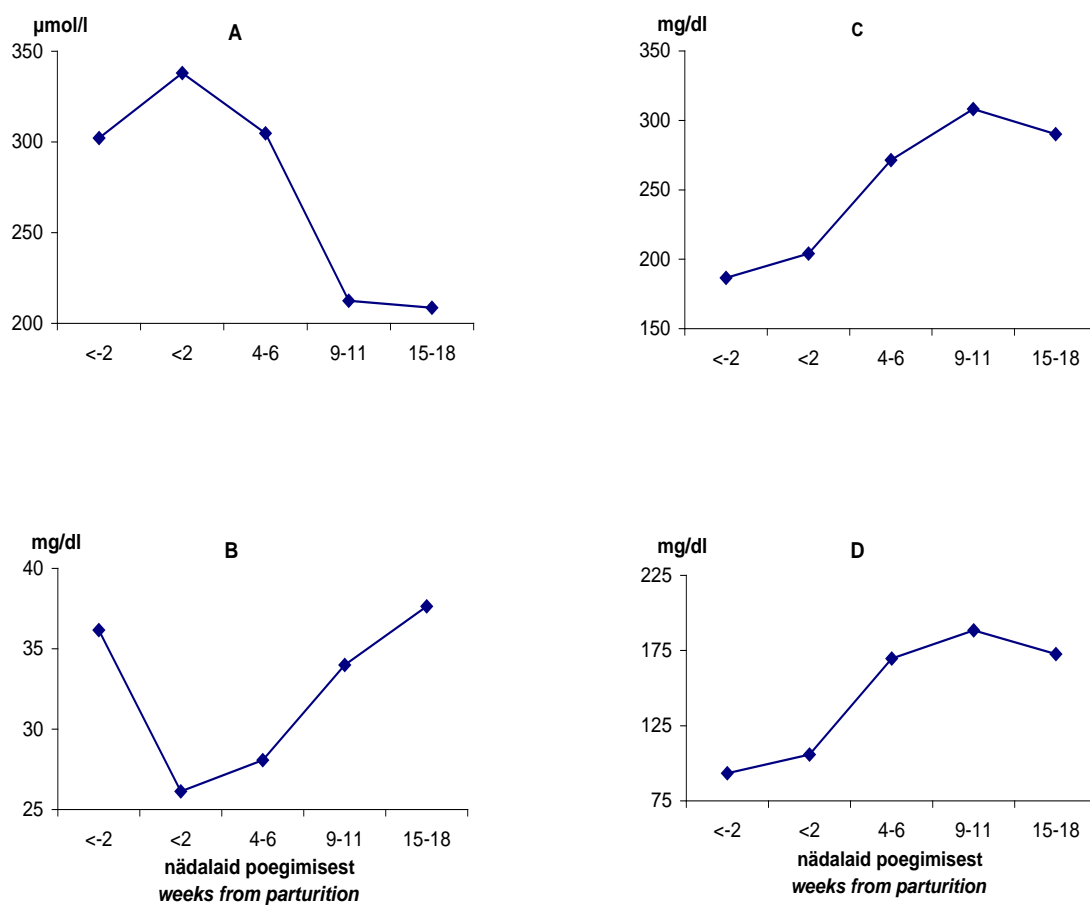
Näitaja Item	Tiinuse või/ja laktatsiooni staadium Stage of gestation or/and lactation	$\bar{x} \pm s$	N	Keskiste vahe Difference of the means			
				1–2 NPP	4–6 NPP	9–11 NPP	15–18 NPP
NEFA $\mu\text{mol/l}$	1–2 NEP <sup>1</sup>	302±200	97	36	3	–89***	–93***
	1–2 NPP <sup>2</sup>	338±189	97		–33	–125***	–93***
	4–6 NPP	305±182	101			–92***	–96***
	9–11 NPP	213±114	111				–4
	15–18 NPP	209±97	64				
Triglütseriidid Triglycerides mg/dl	1–2 NEP	36±12	91	–10***	–8***	–2	2
	1–2 NPP	26±12	95		2	8***	2***
	4–6 NPP	28±10	97			6***	10***
	9–11 NPP	34±14	102				4*
	15–18 NPP	38±9	62				
Üldlipiidid Total lipids mg/dl	1–2 NEP	187±46	96	17*	84***	121***	103***
	1–2 NPP	204±54	95		67***	104***	86***
	4–6 NPP	271±80	102			37***	19
	9–11 NPP	308±77	111				–18
	15–18 NPP	290±48	64				
Üldkolesterool Total cholesterol mg/dl	1–2 NEP	93±31	88	13**	77***	95***	80***
	1–2 NPP	106±32	94		64***	82***	67***
	4–6 NPP	170±59	92			18*	3
	9–11 NPP	188±54	107				–15*
	15–18 NPP	173±34	63				

Keskiste erinevuse olulisus / Significance of the differences of the means: \* – P<0,05; \*\* – P<0,01; \*\*\* – P<0,001.

<sup>1</sup> – NEP = nädalat enne poegimist / weeks before parturition; <sup>2</sup> – NPP = nädalat pärast poegimist / weeks after parturition.

Seerumi üldkolesteroolisisalduse ja seega ka üldlipiidisisalduse taset lehmade veres reguleerib kolesterooli sünteesi aktiveeriva insuliini ja inhibeeriva glükagooni kontsentratsioon. Samas tuleneb kolesteroolisisalduse madal tase poegimiseelisel ja -järgsel perioodil väga madala tihedusega lipoproteiinide (VLDL) ja madala tihedusega lipoproteiinide (LDL) kui oluliste kolesterooli transportijate taseme alanemisest veres (Pysera, Opalka, 2000; Kaneko jt, 1997). VLDL-sisalduse vähenemine on omakorda seotud glükagooni inhibeeriva mõjuga selle lipoproteiini sünteesile (Zilmer jt, 1999; Kaneko jt, 1997). LDL-sisalduse vähenemise põhjused on ebaselged. On viiteid, et LDL sekretsiooni vähenemine võib olla seotud maksakahjustustega (Pysera, Opalka, 2000).

Kolesterooli kui steroidhormoonide prekursorimolekuli sisalduse tõus laktatsiooni käigus on mitmete autorite andmetel seotud steroidhormoonide intensiivse sünteesiga sel perioodil (Bösö jt, 2000; Pysera, Opalka, 2000). Samade autorite andmetel võib üldkolesteroolisisaldus veres jääda madalaks lehmadel, kel esineb ainevahetusprobleemidest tingitud maksakahjustusi ning on pärsitud LDL süntees maksas. Selle tulemusena häirub nii kolesterooli transport neerupealistesse ja sugunäärmetesse kui ka steroidhormoonide süntees. Viimane omakorda on seotud viljatusprobleemidega (Larson jt, 1997; Villa-Godoy jt, 1988).



**Joonis 1.** Esterifitseerumata rasvhapete (A), triglütseriidide (B), üldlipiidide (C) ja üldkolesterooli- (D) sisalduse dünaamika eesti holsteini tõugu lehmade vereseerumis

**Figure 1.** Dynamics of non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, total lipids and cholesterol contents in blood serum of Estonian Holstein breed cows

**Tabel 2.** Esterifitseerumata rasvhapete (NEFA), triglütseriidide, üldlipiidide ja üldkolesterooli referentsväärtused eesti holsteini tõugu lehmade vereseerumis

**Table 2.** Non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, total lipids and cholesterol reference values in blood serum of Estonian Holstein breed cows

Tiinuse või/ja laktatsiooni staadium Stage of gestation or/and lactation	NEFA $\mu\text{mol/l}$	Triglütseriidid Triglycerides $\text{mg/dl}$	Üldlipiidid Total lipids $\text{mg/dl}$	Üldkolesterool Total cholesterol $\text{mg/dl}$
1–2 NEP <sup>1</sup>	<702	17...67 <sup>3</sup>	95...279	47...169 <sup>3</sup>
1–2 NPP <sup>2</sup>	<717	11...55 <sup>3</sup>	119...329 <sup>3</sup>	57...102 <sup>3</sup>
4–6 NPP	62...990 <sup>3</sup>	14...50 <sup>3</sup>	111...432	82...315 <sup>3</sup>
9–11 NPP	59...570 <sup>3</sup>	17...62 <sup>3</sup>	179...498 <sup>3</sup>	103...318 <sup>3</sup>
15–18 NPP	14...403	19...56	195...385	105...240

<sup>1</sup> – NEP = nädalat enne poegimist / weeks before parturition;

<sup>2</sup> – NPP = nädalat pärast poegimist / weeks after parturition;

<sup>3</sup> – referentsväärtused on leitud naturaallogaritmilise variatsioonirea põhjal / reference values have been established using natural logarithms of the data.

Üldkolesteroolisisalduse jaotuvus osutus lognormaalseks kõigis vaatlusalustes tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumides, va viimane. D. Lutski jt (1978), I. Kondrahhin jt (1985) ja J. Kaneko jt (1997) annavad tiinuse või/ja laktatsiooni staadiumi täpsustamata võrreldes antud töö hilisemates laktatsioonistaadiumides leitudga madalamad referentsväärtuste ülempiirid, poegimisele lähemal seevastu on meie poolt toodud alampiirid nimetatud autorite omadest madalamad. Parima kokkulangevusega on meie andmed ja laktatsioonistaadiumi arvestavad referentsväärtused (Veterinärmedizinische..., 1985). Siiski ületavad meie hilisemate, viidatud käsi-raamatus puuduvate laktatsioonistaadiumide referentsväärtused kirjanduses toodud.

Kokkuvõtvalt võib ülaltoodud võrdluste alusel nentida, et tiinuse või/ja laktatsiooni staadium mõjutas lipiidsete metaboliitide sisaldust lehmade vereseerumis ja selle arvestamine võimaldas esitada kitsamaid referentsväärtusi. Leitud referentsväärtused võiksid olla esmaseks võrdlusmaterjaliks, millele tugineda söötmiss- ja ainevahetusalastes uuringutes ning kliinilises diagnostikas.

Autorid tänavad OÜ Piistaoja Katsetalu, AS Tartu Agro ja Andres Tamme Soone talu, kust on kogutud töös kasutatud uurimismaterjal ning Eesti Teadusfondi (grant 3708), kelle rahalisel toel töö toimus. Autorid on tänulikud ka kõigile, kes olid abiks materjali kogumisel, proovide analüüsimisel ning andmete läbitöötamisel.

## Kirjandus

- Aruvee, E., Engstrand, U., Olsson, U. Matemaatiline statistika. Põhimõisted. Tartu: Eesti Põllumajandusülikool, 2000. – 111 lk.
- Bell, A. W. Regulation of Organic Nutrient Metabolism During Transition from Late Pregnancy to Early Lactation. – J. Anim. Sci., vol. 73, p. 2804...2819, 1995.
- Blum, J. W., Bruckmaier, R. M., Vacher, P. Y., Münger, A., Jans, F. Twenty-Four Hour Pattern of Hormones and Metabolites in Week 9 and 19 of Lactation in High-Yielding Dairy Cows Fed Triglycerides and Free Fatty Acids. – J. Vet. Med., vol. 47, p. 43...60, 2000.
- Brockman, R. P., Laarveld, B. Hormonal Regulation of Metabolism in Ruminants: A Review. Livestock Production Science, 14, p. 313...334, 1986.
- Bösö, A. R., Saukko, T. M., Tesfa, A. T., Lindberg, L.-A. Fat Infiltration in Liver and Activity of Lecitin: cholesterol acyltransferase in Serum of Dry and Lactating Dairy Cows. Research in Veterinary Science, 68, p. 169...173, 2000.
- Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 1999. Elmatar, 2000.
- Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 2000. Elmatar, 2001.
- Grum, D. E., Drackley, J. K., Hansen, L. R., Cremin, J. D., JR. Production, Digestion and Hepatic Lipid Metabolism of Dairy Cows Fed Increased Energi from Fat or Concentrate – J. Dairy Sci., vol. 79, p. 1836...1849, 1996.
- Herd T. H. Fuel homeostasis in the ruminant. The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 4, p. 213...231, 1988.
- Herd, T. Variability Characteristics and Test Selection in Herd-Level Nutritional and Metabolic Profile Testing. The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, p. 387...403, 2000.
- Herrera, L. The Precision of Percentiles in Establishing Normal Limits in Medicine. – Journal of Laboratory and Clinical Medicine 52, 1, p. 34...42, 1958.
- Jaakson, H., Ling, K. Andmeid külmutamise mõjust veiste vereseerumi üldkolesterooli, triglütseriidide ja vabade rasvhapete sisaldusele. – Akademiilise Põllumajanduse Seltsi toimetised 14, lk 53...56, 2001.
- Jagdale, D. S., Talvelkar, B. A., Mantri, A. M., Deshmukh, B. T. Studies in Lipid Profile in Crossbreed Cows. Indian Journal of Dairy Science, 48, 1, p. 89...91, 1995.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, 1997. – 932 p.
- Kondrahhin, I. P., Kurilov, N. V., Malahov, A. G., Arhipov, A. V., Belov, A. D., Beljakov, I. M., Blinov, N. I., Korobov, A.V., Frolova, L. A., Sevastjanova, N. A. Kliiniline laboratoorne diagnostika veterinaarias. Moskva: Agropromizdat, 1985. – 289 lk (vene keeles)
- Larson, S. F., Butler, W. R., Currie, W. B. Reduced Fertility Associated With Low Progesterone Postbreeding and Increased Milk Urea Nitrogen in Lactating Cows. – J. Dairy Sci., vol. 80, p. 1288...1295, 1997.
- Lean, I. J., Bruss, M. L., Baldwin, R. L., Troutt, H. F. Bovine Ketosis: A review. II. Biochemistry and Prevention. Veterinary Bulletin, 62, 1, p. 1...14, 1992.
- Ling, K. Percentiles in establishing local reference intervals. – Intern. conf. of laboratory medicine, Tartu, Feb. 02–05, p. 15...16, 1992.
- Ling, K. Tervete ja indutseeritud hepatiidiga lehmade vereseerumi ja maksa ensüümspekter. – Kandidaadidissertatsioon. Tartu, 1988. – 179 lk (vene keeles).

- Ling, K. Ensüümide aktiivsuse piirväärtused veiste vereseerumis. – Teaduse saavutusi ja eesrindlikke kogemusi põllumajanduses, 15. Tartu, lk 8...12, 1985.
- Ljokjel, K., Klemetsdal, G., Prestlokken, E., Ropstad, E. The effect of Energy Balance on Ovarian Activity in a Herd of Norwegian Cattle. – *Acta vet, scand.*, 36, 4, p. 533...542, 1995.
- Lumsden, J. H. Laboratory Test Method Validation. – *Revue Med. Vet.* 151, 7, p. 623...630, 2000.
- Lutski, D. J., Sarov, A. V., Siskov, V. P., Selenskaja, Z. M., Samohin, V. T., Kondrahin, I. P. Kõrgetoodanguliste lehmade ainevahetushaigused. Moskva: Kolos, 1978. – 384 lk (vene keeles)
- Nägele, U., Wahlefeld, A., Ziegenhorn, J. Triglycerides. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Editor-in-Chief: Bergmeyer, H. U. Weinheim; Deerfield Beach, FL: VCH. Vol. 8. Metabolites, p. 3...18, 1985.
- Pysera, B., Opalka, A. The Effect of Gestation and Lactation of Dairy Cows on Lipid and Lipoprotein Patterns and Composition in Serum During Winter and Summer Feeding. – *Journal of Animal and Feed Sciences*, vol. 9, p. 411...424, 2000.
- Raid, H. (toim.). Lehmade ja tiinete mullikate ainevahetus- ja maksatalitlushäirete diagnoosimise ja profülaktika metoodiline juhend. Tartu: Eesti Loomakasvatuse ja Veterinaaria Teadusliku Uurimise Instituut, 1980. – 20 lk.
- Rauw, W. M., Kanis, E., Noordhuizen-Stassen, E. N., Grommers, F. J. Undesirable side effects of selection for high production efficiency on farm animals: a review. – *Livestock Production Science*, vol. 56, p. 15...33, 1998.
- Ruegg, P. L., Goodger, W. J., Holmberg, C. A., Weaver, L. D., Huffman, E. M. Relation Among Body Condition Score, Milk Production, and Serum Urea Nitrogen and Cholesterol Concentrations in High-producing Holstein Dairy Cows in Early Lactation. – *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1, p. 5...9, 1992.
- Rukkwamsuk, T. Negative Energy Balance in Postparturient Dairy Cows: Consequences and Adaptations. Doctoral thesis. Utrecht University, 1999. – 167 p.
- Shimizu, S., Yamada, H. Free Fatty Acids. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Editor-in-Chief: Bergmeyer, H. U. Weinheim; Deerfield Beach, FL: VCH. Vol. 8, p. 19...34, 1985.
- Siedel, J., Rollinger, W., Röschlau, P., Ziegenhorn, J. Total Cholesterol, End-point and Kinetic Method. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Editor-in-Chief: Bergmeyer, H. U., Weinheim; Deerfield Beach, FL: VCH, Vol. 8. Metabolites, p. 139...148, 1985.
- Zilmer, M., Karelson, E., Vihalemm, T. Meditsiiniline biokeemia 2. Tartu, 1999. – 338 lk.
- Teinberg, R. Põllumajandusloomade geneetika. Tallinn: Valgus, 1978. – 376 lk.
- Vasiljeva, J. A. Põllumajandusloomade kliiniline biokeemia. Moskva: Rosselhozizdat, 1982. – 254 lk (vene keeles).
- Veterinärmedizinische Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, 1985. – 251 S.
- Villa-Godoy, A., Hughes, T. L., Emery, R. S., Chapin, L. T., Fogwell, R. L. Association Between Energy Balance and Luteal Function in Lactating Dairy Cows. – *J. Dairy Sci.*, vol. 71, p. 1063...1066, 1988.

## Blood Reference Values of Some Lipid Metabolites in Estonian Holstein Cows

H. Jaakson, K. Ling

### Summary

Reference values of blood metabolites are used in veterinary clinical diagnosis and in the assessment of nutritional status when non-nutritional sources of variation, e.g. breed, sex, stage of lactation and gestation, are minimised. Mobilisation of body reserves and intensive lipolysis in periparturient period of high producing cows as well as growing milk yield of Estonian Holstein cows has lead to an increased interest in lipid metabolism. Therefore the objective of the study was to work out blood reference values of non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, total lipids and total cholesterol.

The following five stages of gestation or/and lactation of 109 clinically healthy cows from 3 different farms were under investigation: last two weeks of gestation ( $\leq 2$  NEP); first two weeks of lactation ( $\leq 2$  NPP), 4...6 (4–6 NPP), 9...11 (9–11 NPP) and 15...18 (15–18 NPP) weeks after parturition. Coccygeal vein blood serum was used to analyse the following metabolites: non-esterified fatty acids (NEFA), analysed according to a modification of Liunggeren-Perason (ref. Kondrahin et al., 1985 and Lutski et al., 1978); total lipids, analysed with sulphophosphorvaniline reaction (Knight et al., 1972 and Zoliner and Kirsch, 1962, ref. Lutski et al., 1978);

triglycerides and total cholesterol, determined by using enzymatic-colorimetric end-point method (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH test kits).

T-test was used to evaluate the differences in metabolites' concentrations between the stages. Normal or lognormal distribution of the metabolites was decided on lesser skewness of the distribution curve. Average concentrations of the compounds (Table 1) as well as their reference values (Table 2) were calculated separately for each stage.

Observed dynamics of the blood parameters characterised the mobilisation of body reserves in periparturient period (Table 1, Figure 1). The content of non-esterified fatty acids was up in periparturient period and decreased gradually afterwards. The concentration of triglycerides was relatively high before parturition but decreased after parturition and increased slowly afterwards. Concentration of total cholesterol and total lipids was down in immediate periparturient stages and increased later. The shapes of the dynamics curves illustrating the differences in the parameters concentrations between the stages as well as the actual concentrations of the compounds were in line with the data of other researchers. The established reference values (Table 2) indicate that in laboratory investigations the stage of gestation or/and lactation as a factor affecting the physiological state of the cows, must be considered.

Established reference values are not final, they still provide preliminary reference information on lipid metabolites in Estonian Holstein cows.