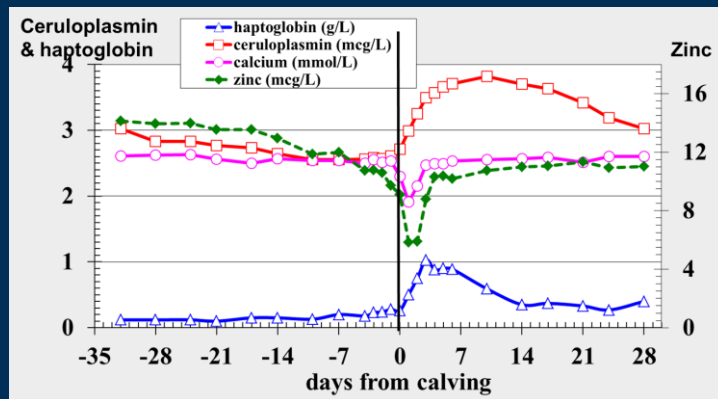


Jak określać reakcję układu odpornościowego krów w okresie okołoporodowym?



Erminio Trevisi

Kierownik Katedry Nauk o Zwierzętach, Żywności i Żywieniu (DIANA)

Università Cattolica del S. Cuore – Piacenza-Cremona - ITALY

1. Punkty krytyczne u krów okołoporodowych

- **Zmienność w parametrach odpornościowych: system wrodzony i nabyty**
- **Zapalenie**
- **Przyczyny zmienionej odpowiedzi zapalnej**

2. Jak interpretować odpowiedź zapalną w okresie wycieleniowym

- **Implikacje na poziomie wątroby**
- **Fizjologiczne vs patologiczne**
- **Jak mierzyć? Obecność czy konsekwencje?**
- **Kiedy mierzyć?**

3. Wskaźniki klasyfikujące nasilenie stanu zapalnego w okresie okołoporodowym

- **LFI (Liver Functionality Index - Wskaźnik Funkcjonalności Wątroby)**
- **Jak go używać?**

4. Perspektywy i implikacje

Przegląd punktów krytycznych w okresie przejściowym

Trevisi & Minuti, 2018; Res Vet Sci 116: 47-54

1. ↓ immunokompetencja

(Goff & Horst, 1997, Lacetera et al., 2005)

2. Stan podobny do zapalnego

(Cappa et al., 1989; Bionaz et al., 2007) również u pozornie zdrowych krów mlecznych

3. Wyraźny UBE mobilizacja tkanki tłuszczowej i mięśniowej

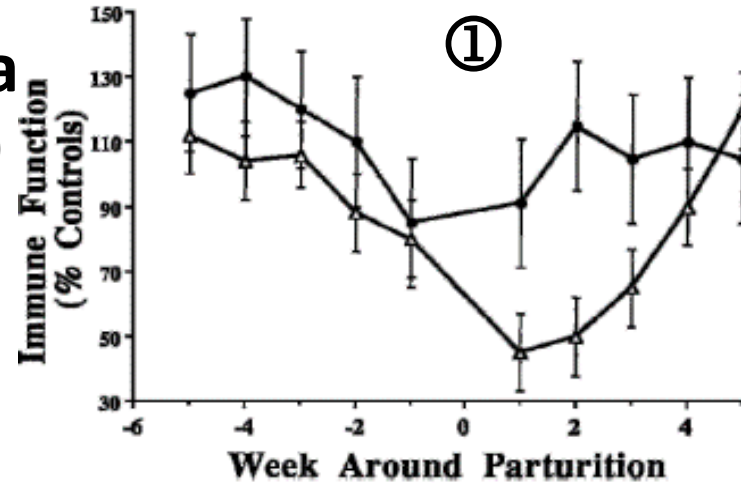
Grummer, 1995; 2007

4. Stres oksydacyjny

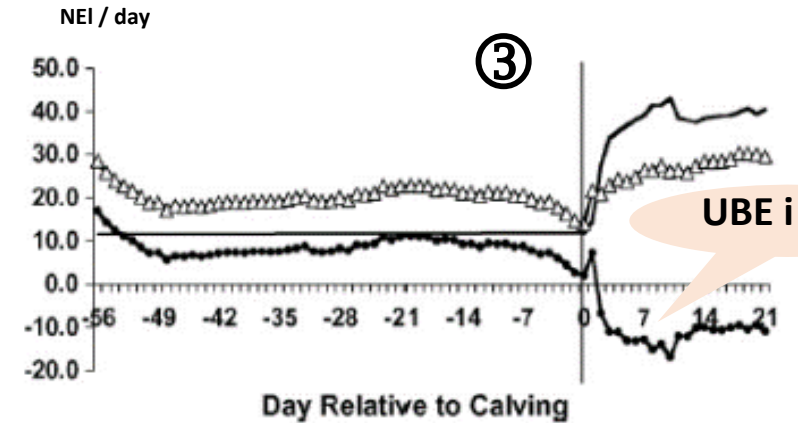
Bernabucci et al., 2005; Bionaz et al., 2007; Sordillo & Aitken, 2009; Celi, 2011

5. Hipokalcemia

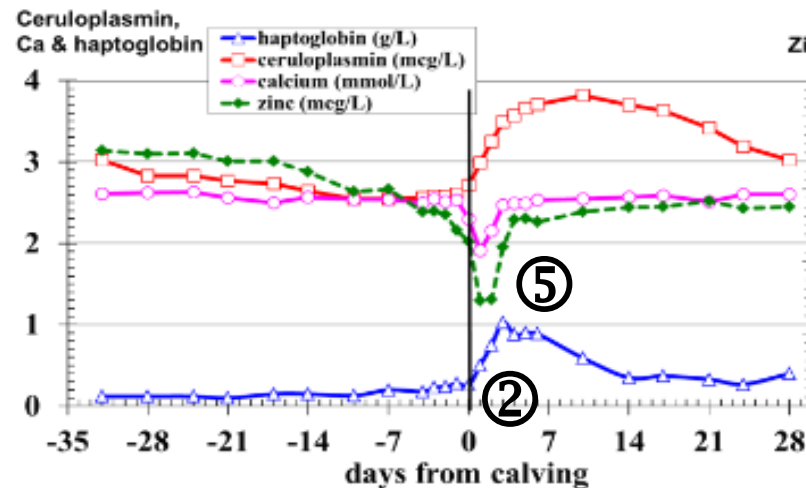
Goff, 2007; DeGaris & Lean, 2009



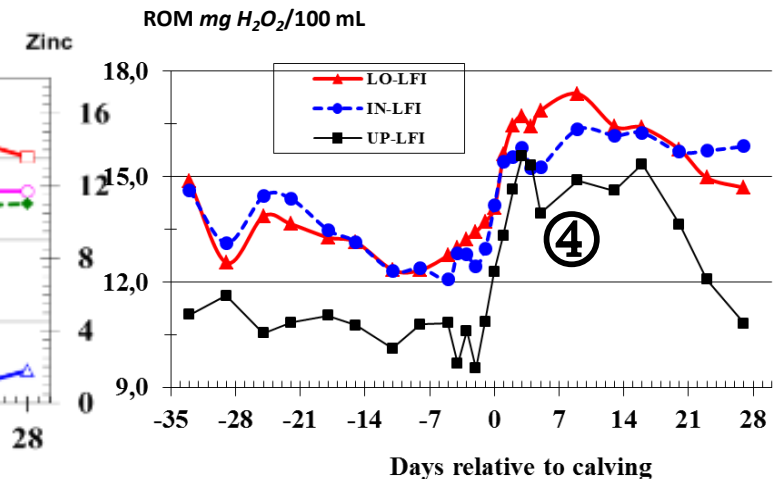
Neutrophil function (iodination; ◐) and lymphocyte function (blastogenesis; ◑) are impaired in TP. (Goff & Horst 1997, JDS 80: 1260-1268)



Energy (NEI/day) required (----), consumed (Δ), and energy balance (•) for cows during TP (Grummer, 2007, Theriogenology S281–S288)



Bertoni & Trevisi, 2013 VET CLIN N AM-FOOD A 29):413–431

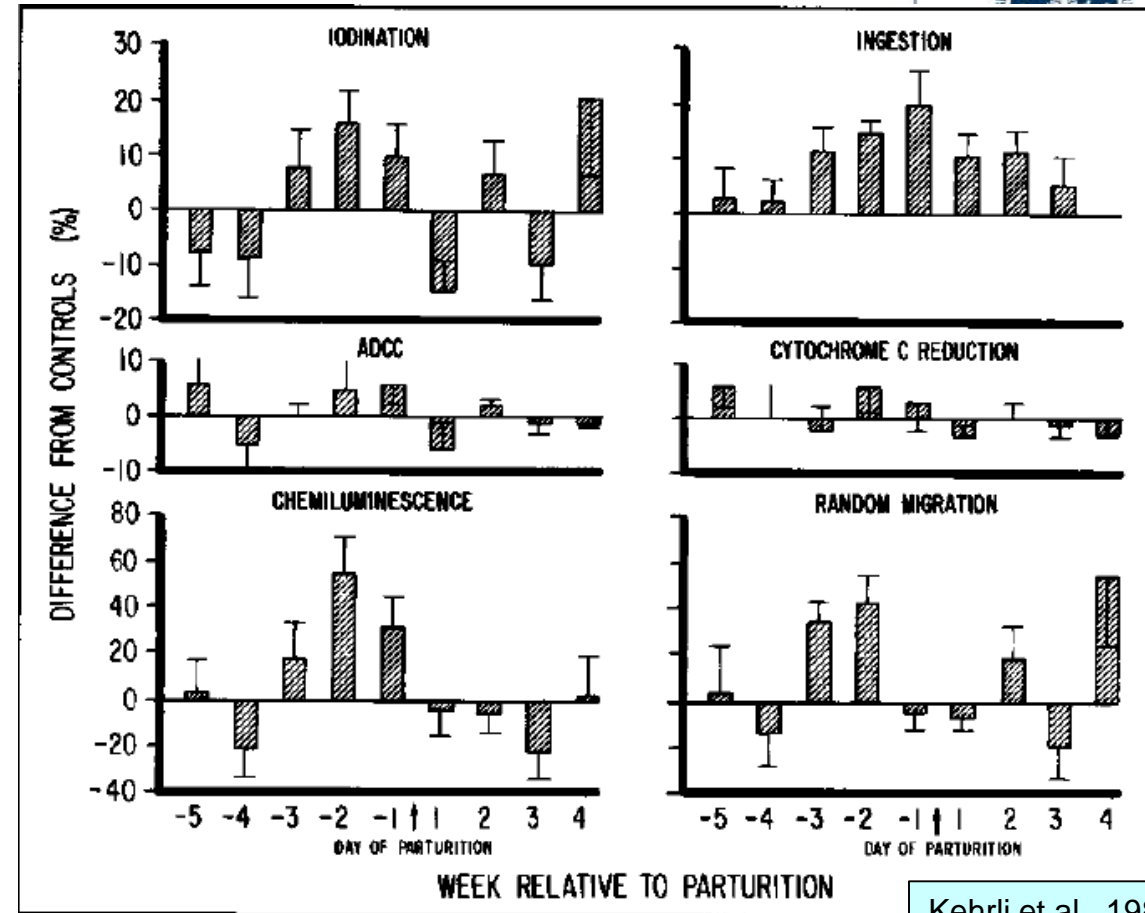
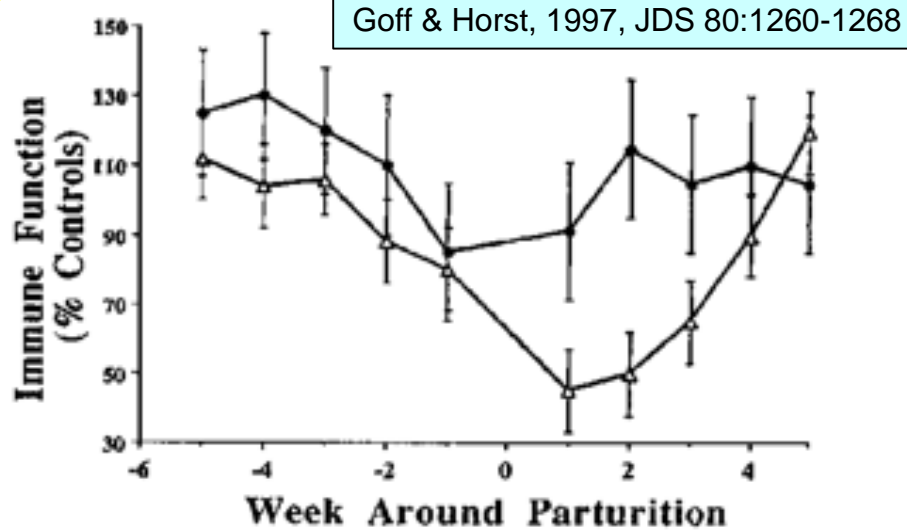
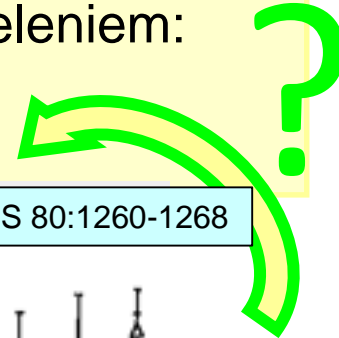


Trevisi et al., 2010 77:310–317

Czy krowy cielne mają obniżoną odporność?

Niektóre funkcje układu odpornościowego ulegają osłabieniu przed wycieleniem:

- ↓ fagocytoza NEU
- ↓ proliferacja LYMPH



Kehrli et al., 1989 AJVR: 50:207

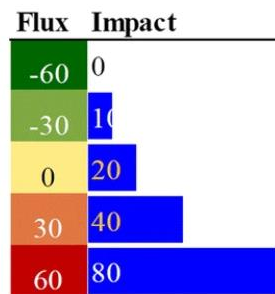
- Jałówki (później w literaturze określane jako wieloródki)
- Korekta danych immunologicznych „populacji opasów”
- „immunosupresja pojawia się po wycieleniu (ale dotyczy tylko niektórych parametrów)”

Immunodepresja: zbytne uproszczenie?

Wpływ funkcji leukocytów w okresie przejściowym na metabolizm



Geny podlegające
różnicowanej ekspresji
(DEG) w
leukocytach

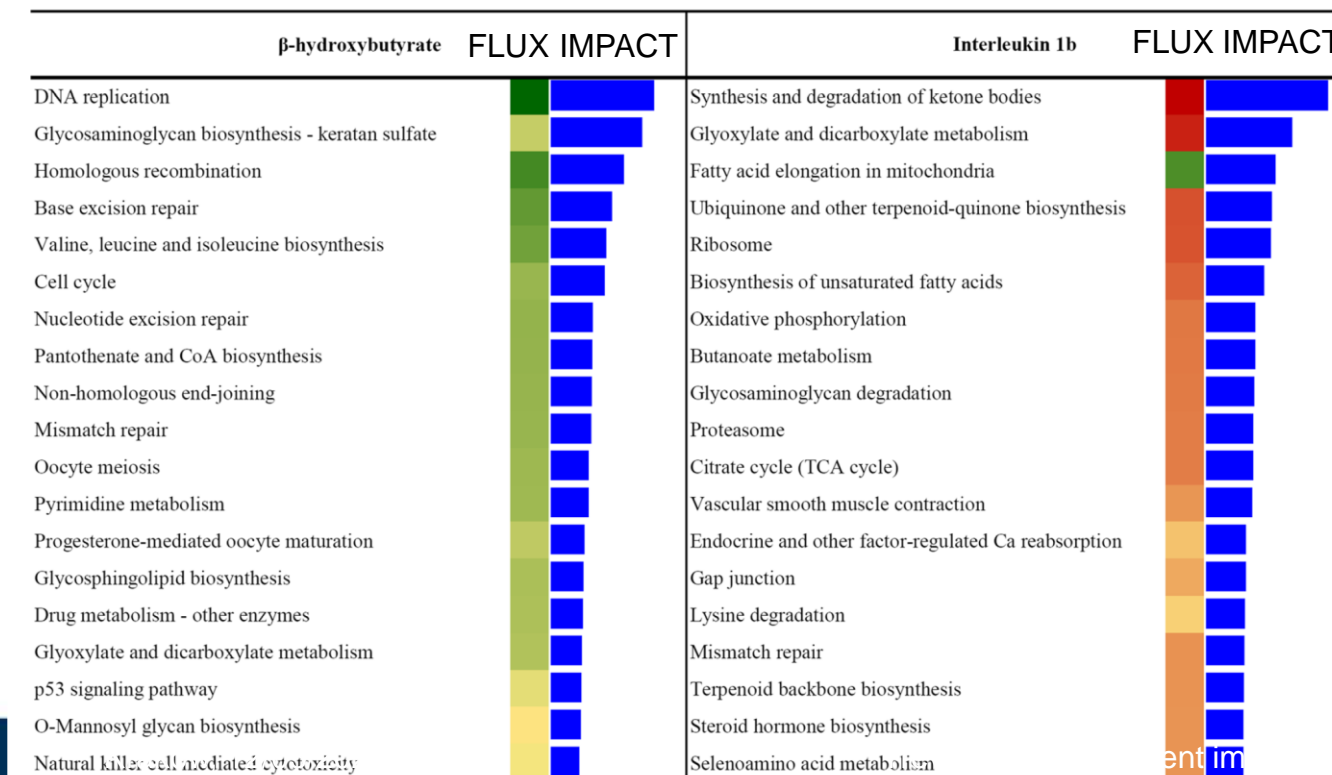


czzerwony = aktywowany;
zielony = zahamowany

	Correlated genes	Negatively correlated	Positively correlated
Glucose	15	1	14
β -Hydroxy butyric acid	271	243	28
Ceruloplasmin	6	4	2
Bilirubin	18	3	15
Haptoglobin	4	0	4
IL-1 β	385	88	297

Zmiany w DEG w leukocytach
(-20 ± 2 , -3 ± 1 , 3, 7 DFP):

- bardziej intensywne po wycieleniu
- Aktywowanie wielu genów:
fagocytoza, migracja, adhezja, wynaczynianie

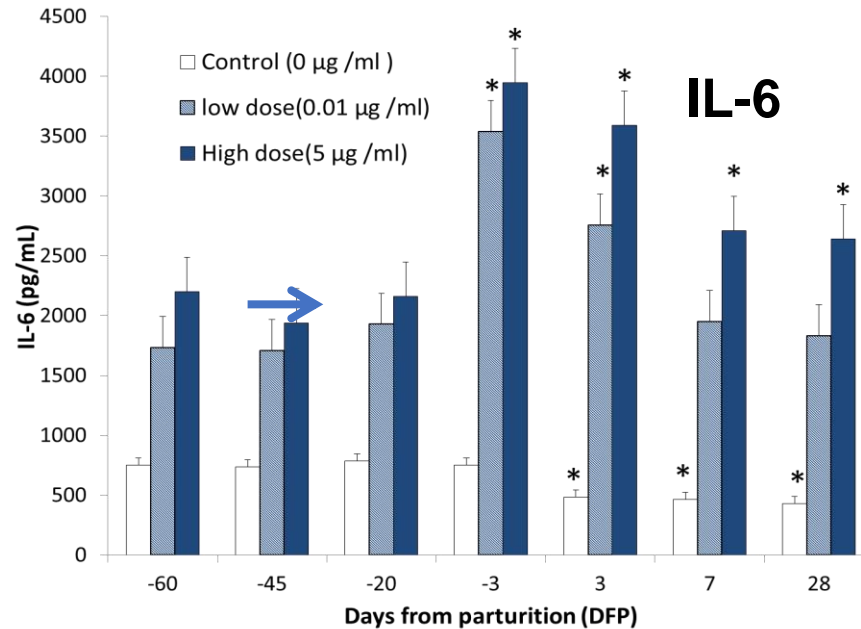
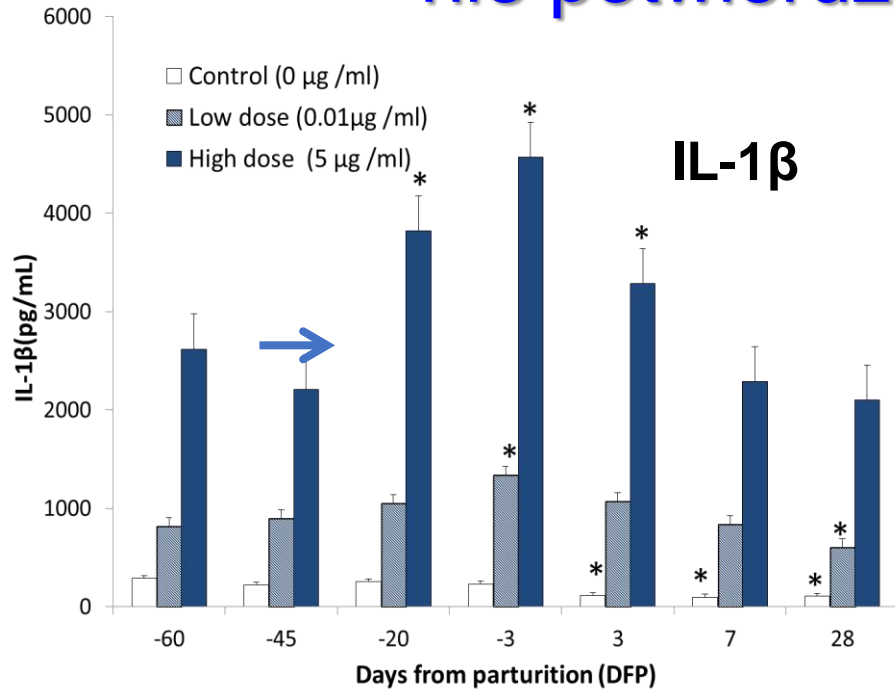


DEG w leukocytach koreluje z:

- BHB, hamuje kilka genów
- IL-1 β aktywuje kilka ścieżek związanych z metabolizmem (głównie energią komórkową)

Minuti et al., Functional & Integrative Genomics 2019 (20):293-305;
doi:10.1007/s10142-019-00720-0

↑ uwolnienia PIC w okresie okołowycieleniowym nie potwierdza immunosupresji



**Test stymulacji
krwi pełnej**
LPS: 0, 0.01 i 5 µg LPS
/ml krwi
Inkubacja (z rotacją):
38°C przez 3.5 h

Jahan et al. 2015.
Vet Imm & Imm 165:119-126

- **Kontrola (brak LPS).** Poziom IL-1β & IL-6: wyższy w okresie zasuszenia w porównaniu z wczesną laktacją
- **Stymulacja LPS**
 - Największa odpowiedź IL-1β ➡ od -20 do 3 dni od wycielenia
 - Największa odpowiedź IL-6 ➡ od -3 do 3 dni od wycielenia
 - Maksymalna odpowiedź IL-6: podobna dla obu dawek LPS

- “Podsumowując”, dane te sugerują **wzrost aktywności i funkcji układu odpornościowego** w krążących leukocytach w okresie przejściowym
- Bezpośredni **kontakt między komórkami odpornościowymi a niektórymi krążącymi cząsteczkami** przed wycieleniem (tj. hormonami, NEFA/lipoproteinami) **może wpływać na ekspresję genów** krążących leukocytów

Zatem funkcje układu odpornościowego mogą być (mniej lub bardziej) rozregulowane w okresie wycielenia, ale nie stłumione

W każdym przypadku, reakcja zapalna wystąpiła po wycieleniu

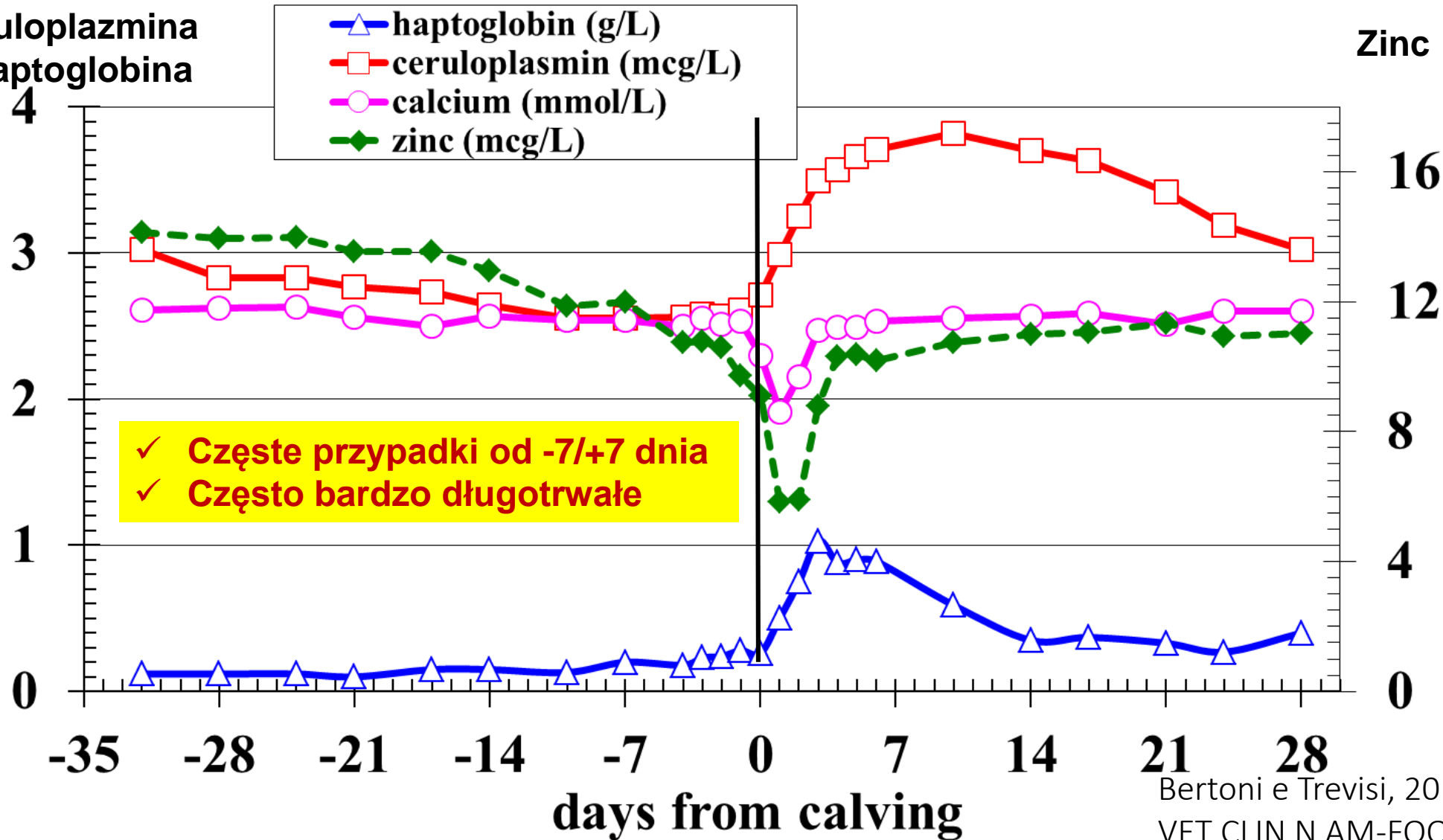
Stan podobny do zapalnego pojawia się po wycieleniu (również u zdrowych krów)

②



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Ceruloplasmina
& haptoglobina



Bertoni e Trevisi, 2013

VET CLIN N AM-FOOD A 29(2):413-431

Zapalenie & okres przejściowy

Iskra: 1989

Cappa V., Trevisi E., Bertoni G. 1989.

Differences in blood parameters and milk production in the first month of lactation in cows with or without postpartum problems *Zoot. Nutr. Anim.*, 15: 645-660

Zaobserwowaliśmy:

- **gorszy stan wątroby w stadzie 2** (tj. niższe stężenie lipoprotein i albumin), co sugerowało możliwą lipidozę

- **przyczyna** nie była związana z ostrym uszkodzeniem wątroby (jak u krów cierpiących na zatrzymanie łożyska), ale ze „**stresującymi**” warunkami okołoporodowymi, które zaburzały metabolizm wątroby (wyższy poziom ceruloplazminy i globuliny)

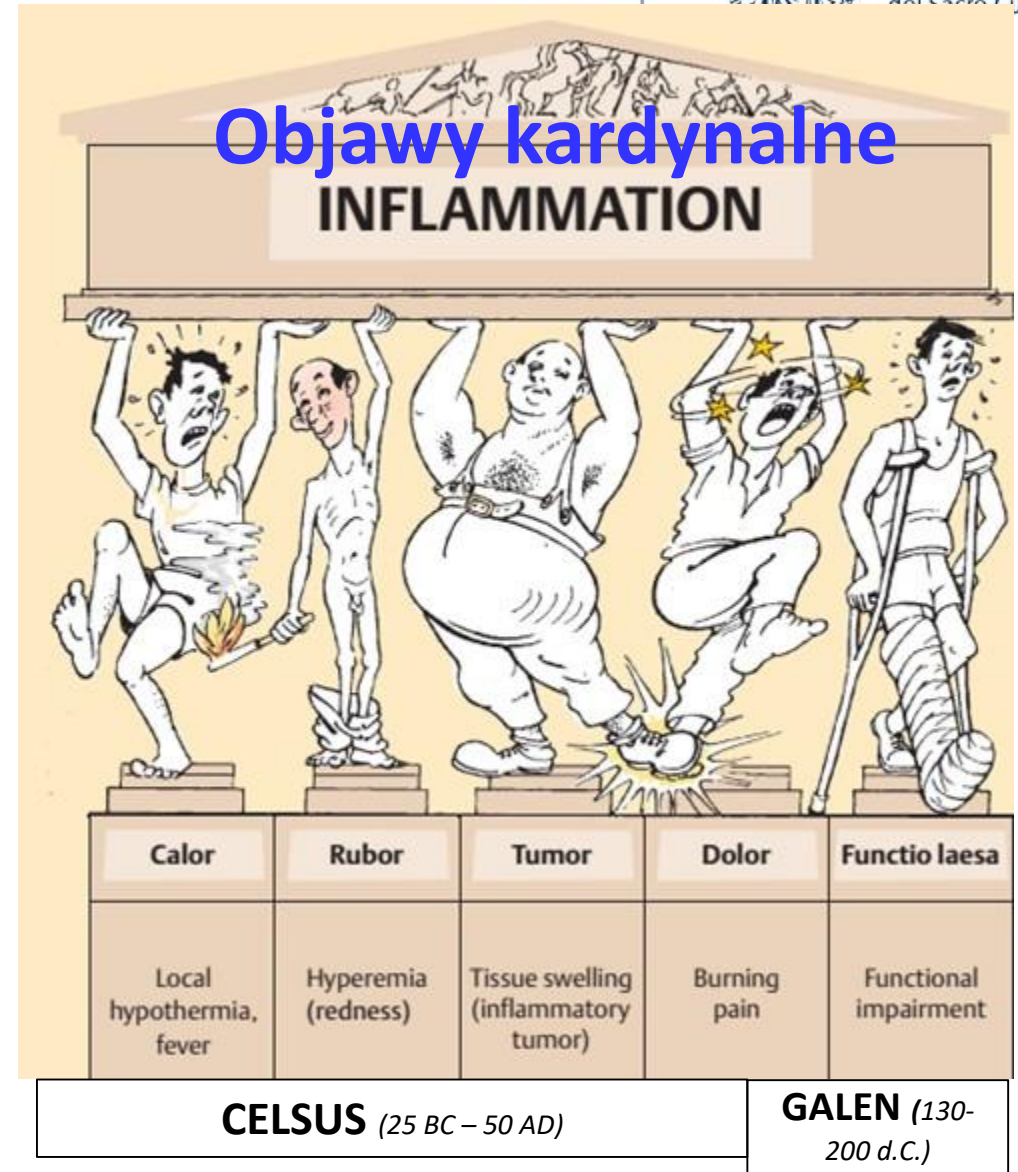
TABLE 9. - Mean values of blood parameters found during the whole experimental period (for herd 2 animals with displaced abomasum are excluded).

Wartości średnie dla pierwszych 30 dni laktacji

Parametro - Parameter		Stalla 1 Herd 1	Stalla 2 Herd 2	Varianza dell'errore Error mean square	Valori di riferimento (1) Reference values (1)
Problemy po wycieleniu		BEZ	Z		
Ematocrito - PCV	l/l	0,33 B	0,31 A	0,0068 E-1	0,25-0,32
Glucosio - Glucose	mmol/l	3,90	3,75	0,2663 E-0	3,30-3,90
Urea - Urea	»	5,47 B	3,39 A	0,1074 E+1	4,00-5,70
Calcio - Calcium	»	2,38 b	2,31 a	0,3708 E-1	2,40-2,80
Fosforo inorg. - Inorg. phosphorus	»	1,37 A	1,54 B	0,8879 E-1	1,30-2,00
Magnesio - Magnesium	»	0,99 B	0,88 A	0,8200 E-2	0,80-1,10
Sodio - Sodium	»	142,28 B	139,11 S	0,5793 E+1	135-142
Potassio - Potassium	»	3,89 A	4,07 B	0,1020 E-0	3,80-5,50
Zinco - Zinc	µmol/l	12,83 B	10,83 A	0,9062 E+1	10,5-17,0
Ceruloplasmina - Ceruloplasmin	»	3,21 A	3,52 B	0,2576 E-0	1,40-2,40
Proteine totali - Total protein	g/l	82,68 B	77,25 A	0,3189 E+2	80-85
Globuline - Globulin	»	40,88 A	49,48 B	0,3819 E+2	40,0-50,0
Albumine - Albumin	»	36,37 B	33,16 A	0,5848 E+1	35,0-40,0
GOT/AST	U/l	99,84	99,20	0,2416 E+3	62,0-83,0
GGT	»	23,09	23,90	0,4910 E+2	18,0-27,0
Colesterolo totale - Total cholesterol	mmol/l	2,52 b	2,34 a	0,2011 E-0	3,4-5,2

Stan zapalny: definicja

- ✓ Szybka i niespecyficzna odpowiedź wrodzonego układu odpornościowego
- ✓ Lokalna reakcja ochronna żywej tkanki ssaków na uszkodzenie spowodowane **dowolnym czynnikiem etiologicznym (biotycznym i abiotycznym)**
- ✓ Reakcja obronna organizmu w celu **wyeliminowania lub ograniczenia rozprzestrzeniania się czynników szkodliwych**
- ✓ 2 podstawowe, nieco nakładające się procesy:
 - **wczesna odpowiedź zapalna**
 - **zdrowienie**

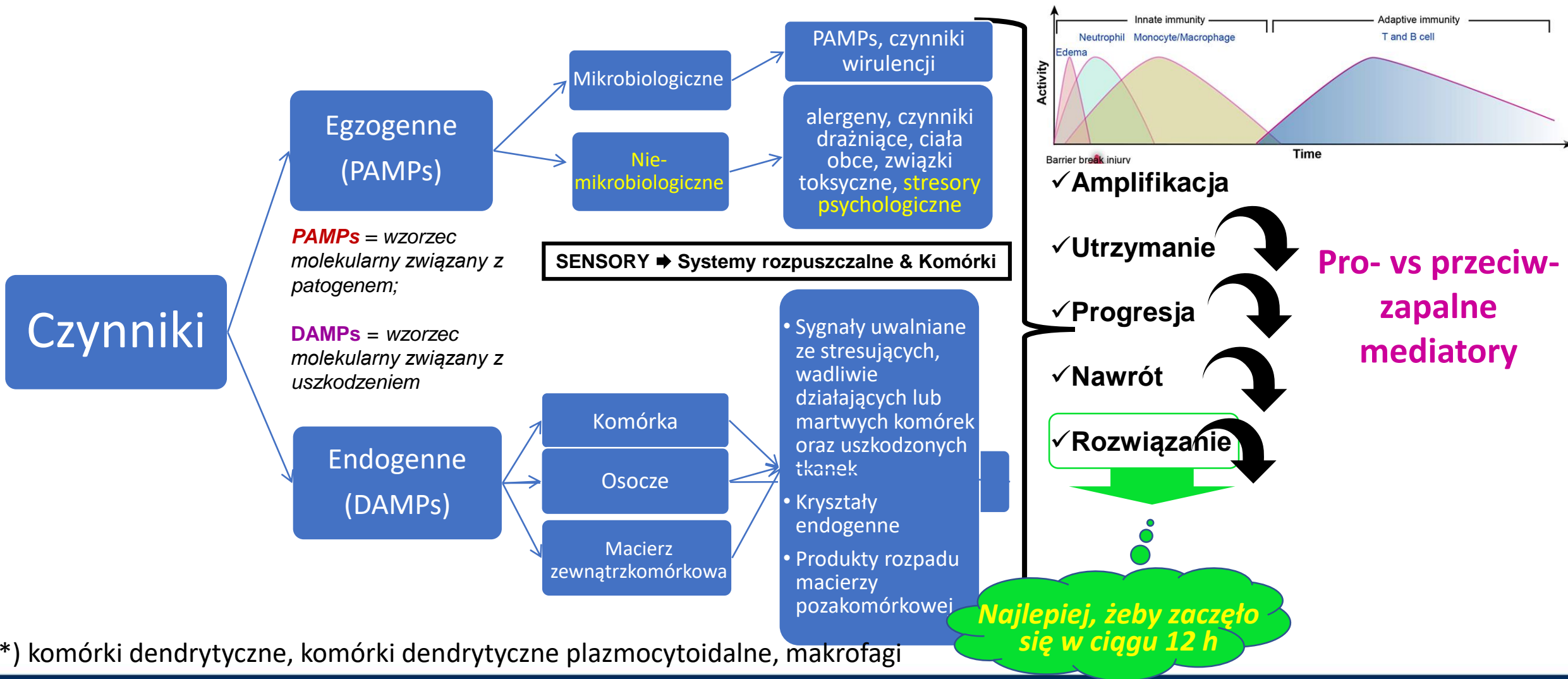


Modified from Mosley, <https://slideplayer.com/slide/11338617/>

Stan zapalny: przyczyny i progresja

(Medzhitov et al, 2008, modified)

INDUKTORY ➔ SENSORY (tj. TLRs) na kom. układu odpornościowego (*) ➔ SYGNAŁY (mediatory) ➔ EFEKTORY



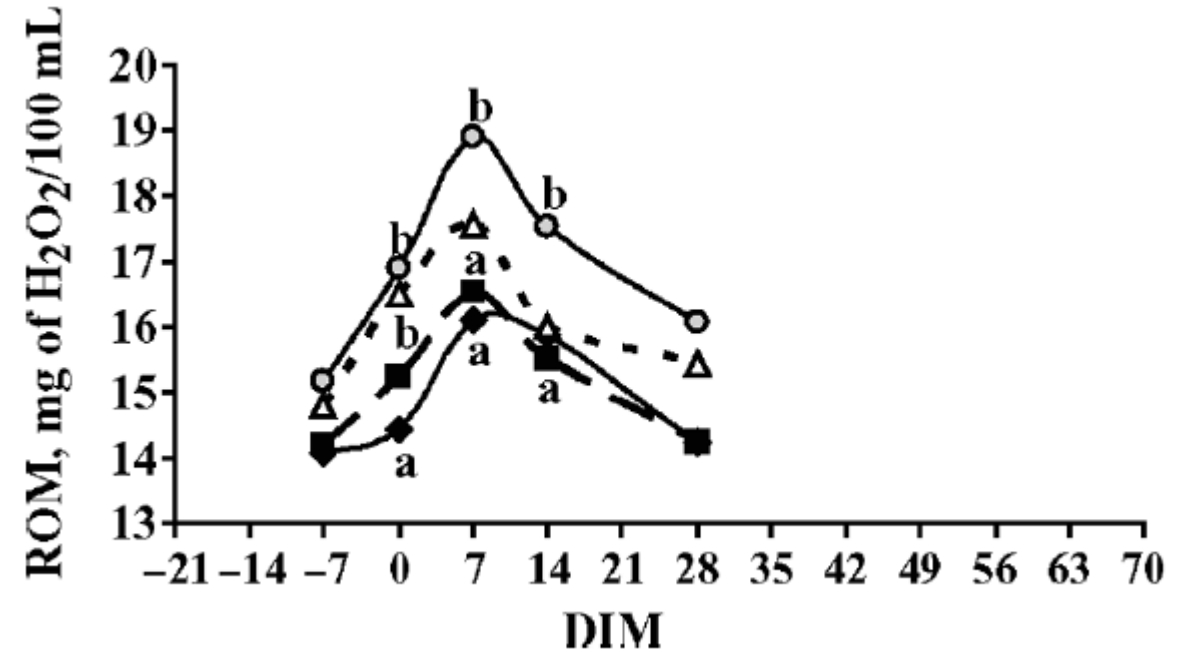
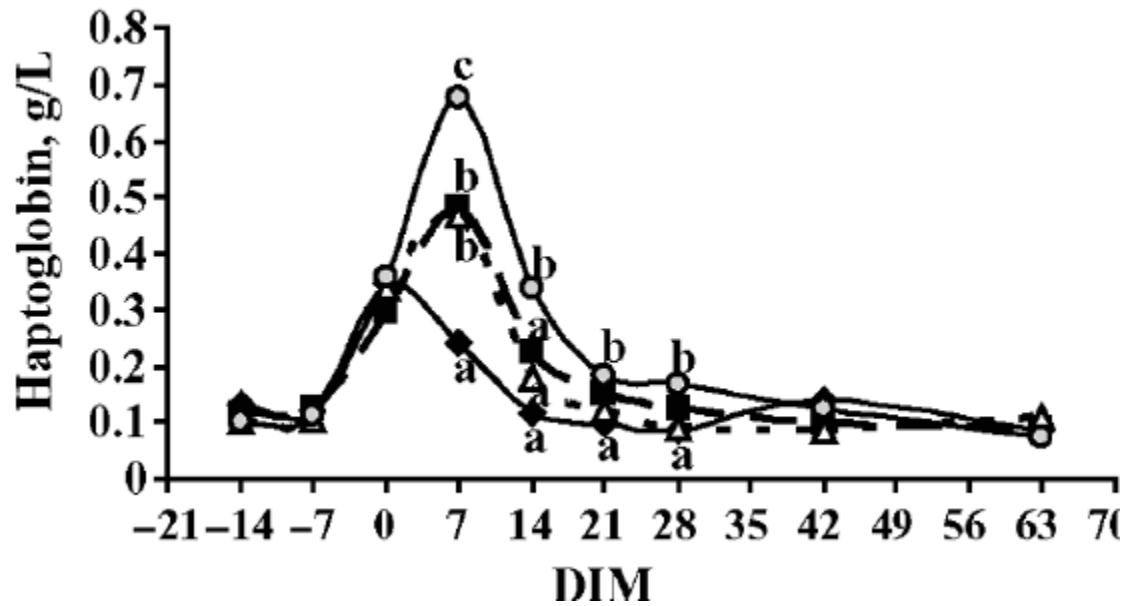
(*) komórki dendrytyczne, komórki dendrytyczne plazmocytoidalne, makrofagi

Stan zapalny i stres oksydacyjny w okresie wycielenia

Bionaz et al. 2007 J. Dairy Sci. 90:1740–1750



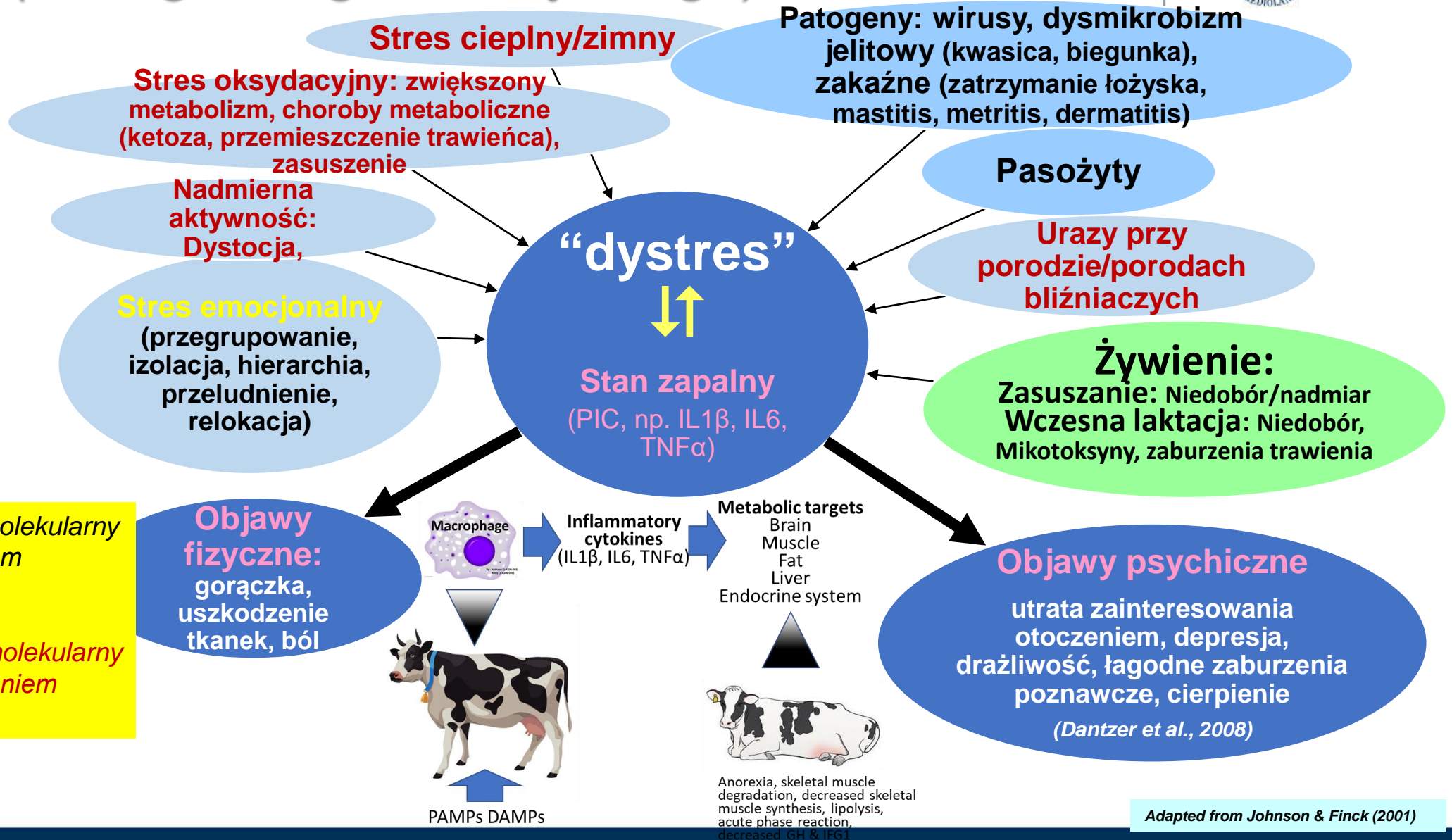
UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore



Stan zapalny występuje u wszystkich krów po wycieleniu, ale jego stopień nasilenia jest różny

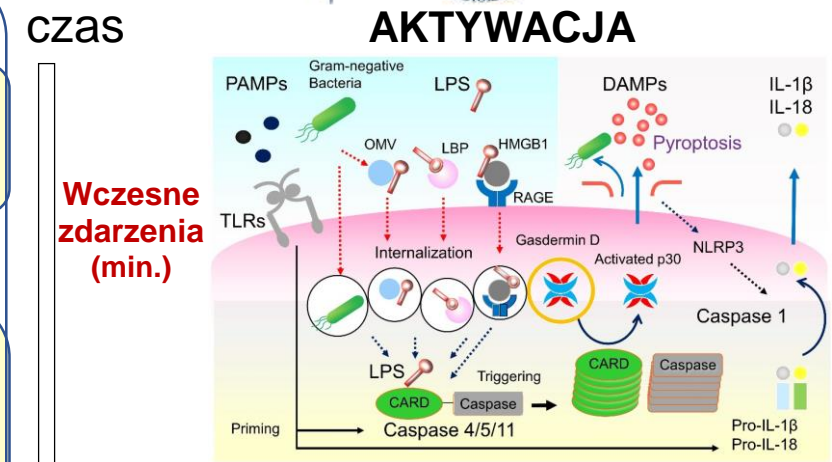
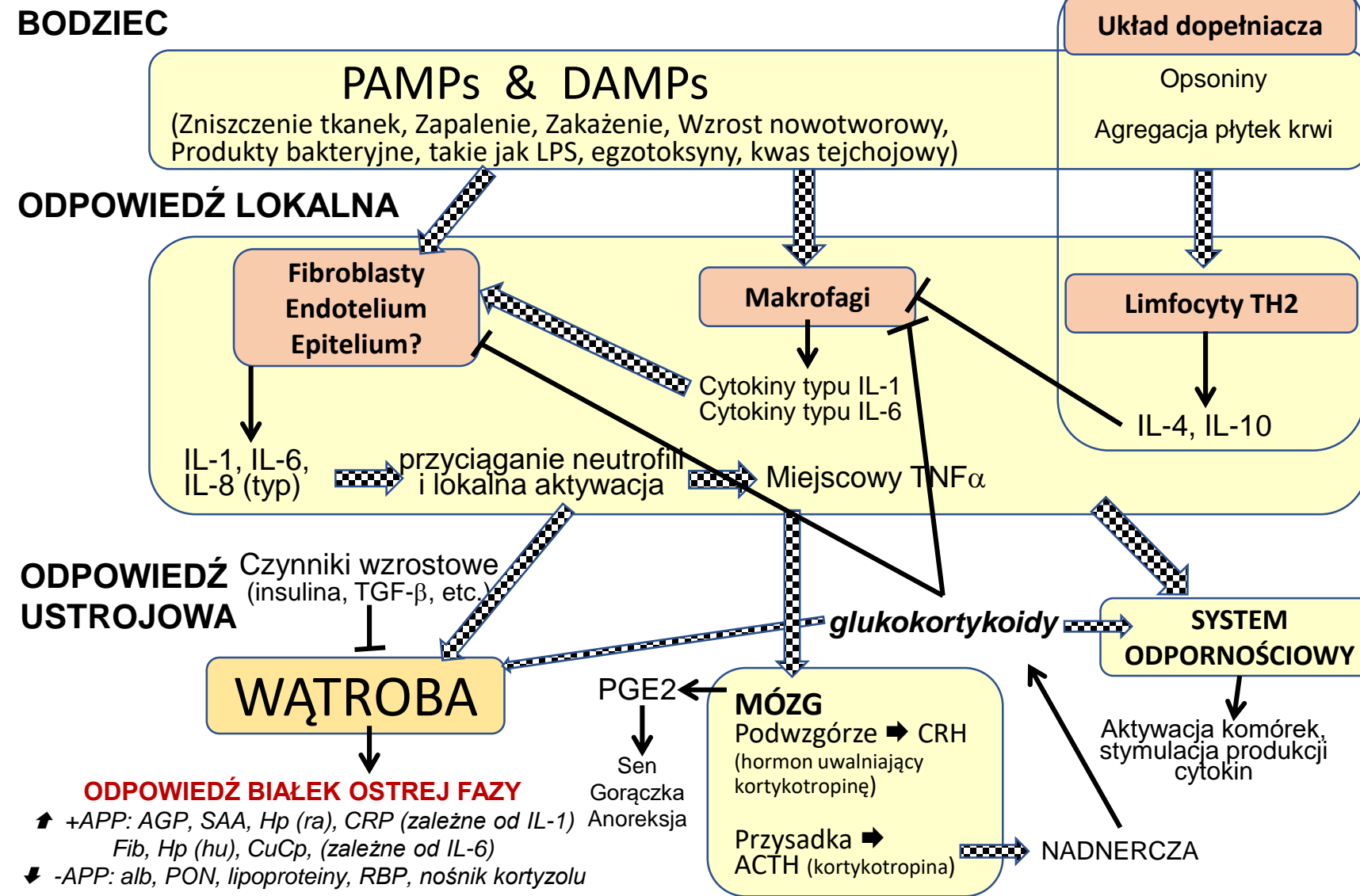
Stres oksydacyjny występuje również w tym samym czasie (lub krótko po)

Czynniki zapalne w okresie przejściowym (od łagodnego do ciężkiego)

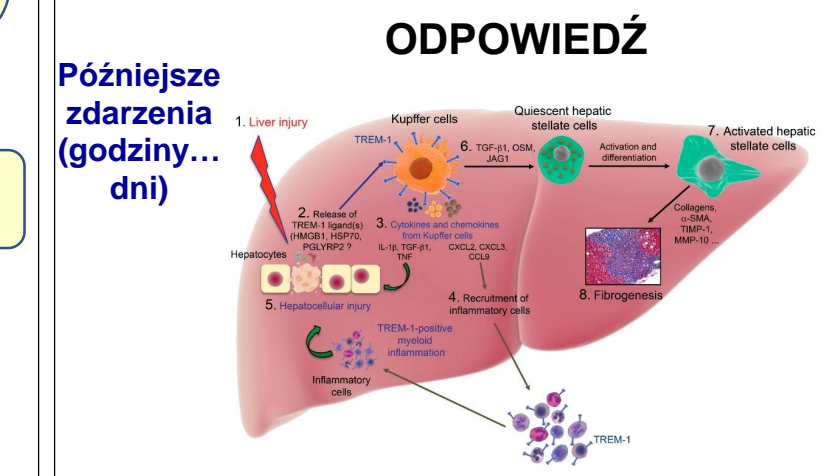


Zapalenie: odpowiedź lokalna i ogólnoustrojowa

(zmodyfikowano z Petersen, 2004)



Moriyama & Nishida 2021. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22(16), 8882; <https://doi.org/10.3390/ijms22168882>



Nguyen-Lefebvre et al., 2018. *J Clin Invest.* 128(11):4870–4883.

ODPOWIEDŹ BIAŁEK OSTREJ FAZY

↑ +APP: AGP, SAA, Hp (ra), CRP (zależne od IL-1)
Fib, Hp (hu), CuCp, (zależne od IL-6)

↓ -APP: alb, PON, lipoproteiny, RBP, nośnik kortyzolu

1. Punkty krytyczne u krów okołoporodowych

- Zmienność w parametrach odpornościowych: system wrodzony i nabyty
- Zapalenie
- Przyczyny zmienionej odpowiedzi zapalnej

2. Jak interpretować odpowiedź zapalną w okresie wycieleniowym

- Implikacje na poziomie wątroby
- Fizjologiczne vs patologiczne
- Jak mierzyć? Obecność czy konsekwencje?
- Kiedy mierzyć?

3. Wskaźniki klasyfikujące nasilenie stanu zapalnego w okresie okołoporodowym

- LFI (Liver Functionality Index - Wskaźnik Funkcjonalności Wątroby)
- Jak go używać?

4. Perspektywy i implikacje

WĄTROBA: kluczowa i konfliktowa rola

KRÓTKOTRWAŁE EFEKTY STANU ZAPALNEGO

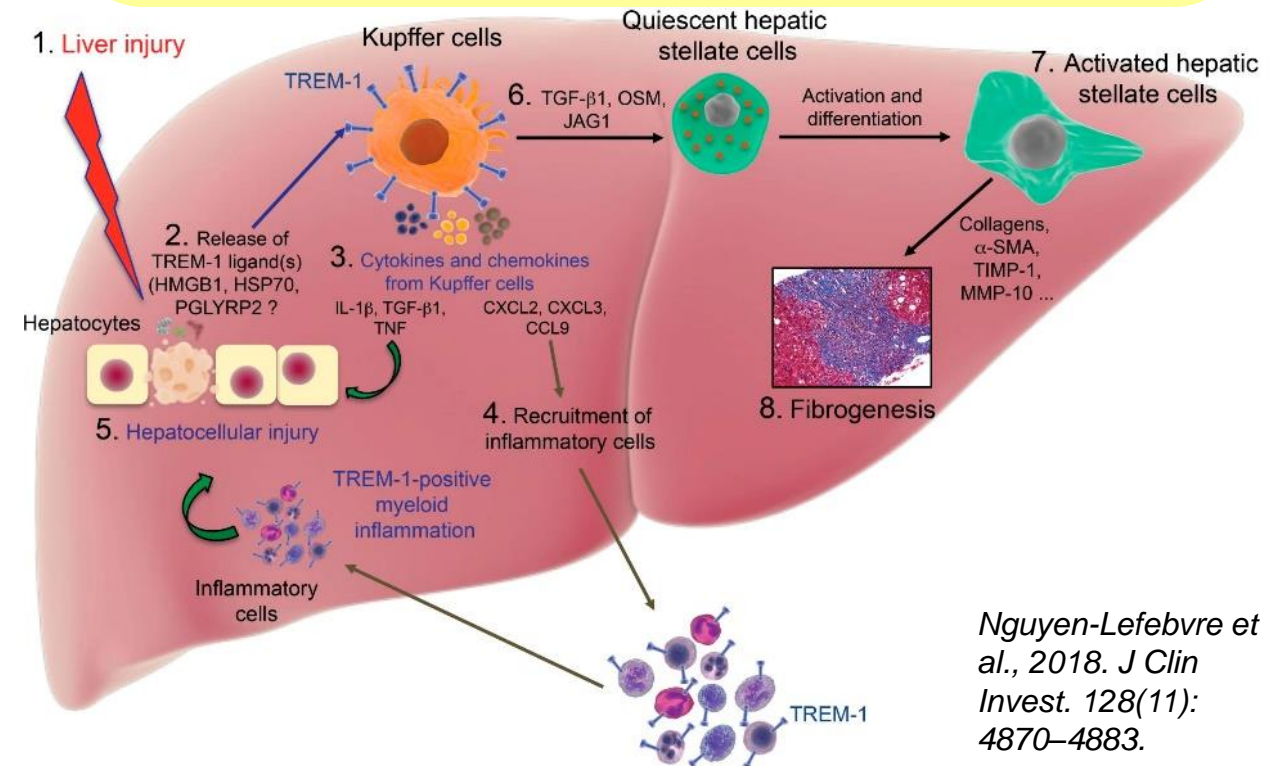
- ✓ Wątroba odgrywa centralną rolę w wielu szlakach metabolicznych
- ✓ W przypadku stanu zapalnego promuje reakcję ostrej fazy (APR) z 2 przeciwnymi konsekwencjami:

- **aktywacja** syntezy białek ochronnych (**pozAPP**) i białek „wychwytyjących” (np. Fe, Zn)
- **upośledzenie** syntezy „zwykłych” białek (mniej **negAPP**)

ale nie jest uszkodzona

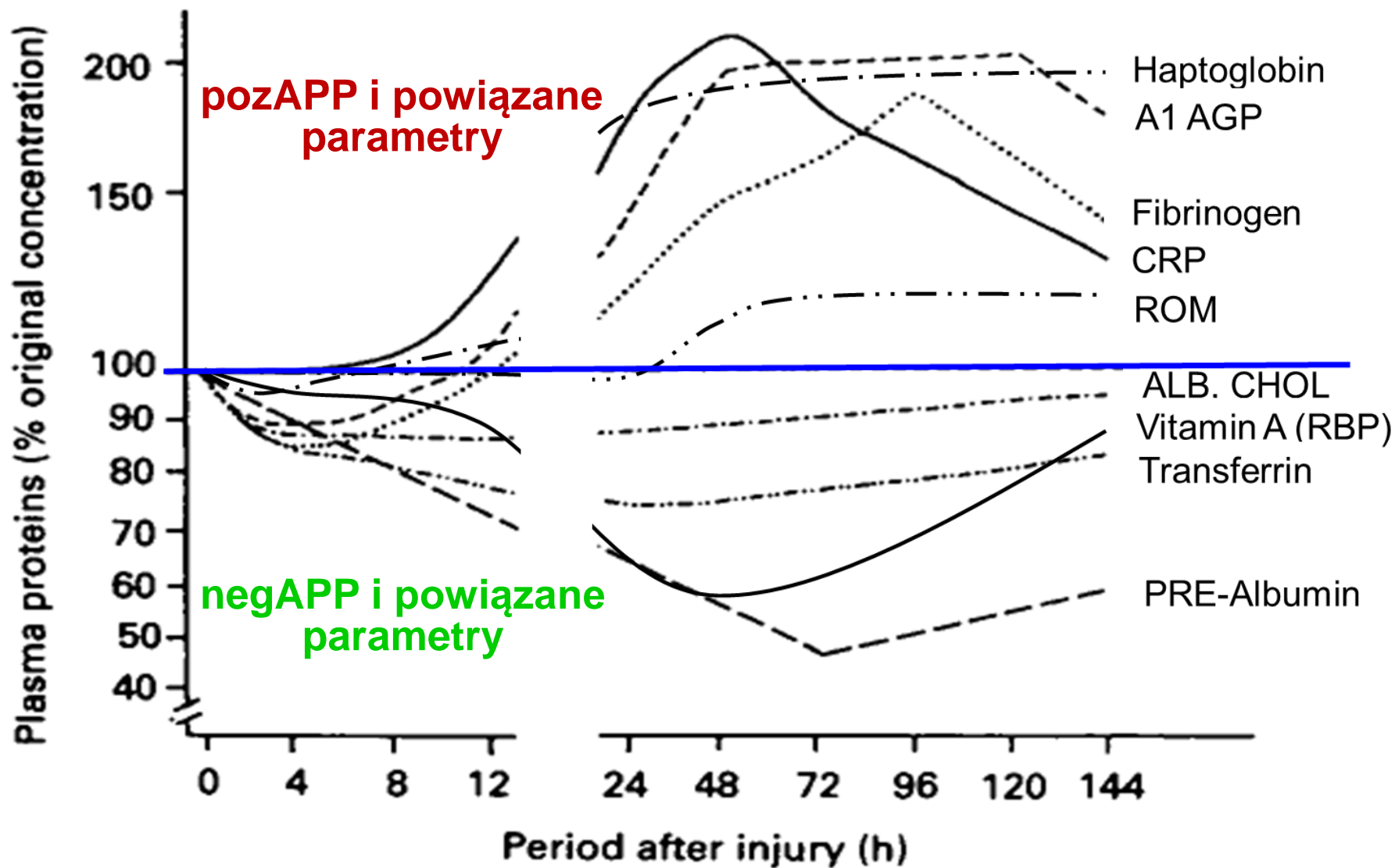
DŁUGOTRWAŁE EFEKTY STANU ZAPALNEGO (PRZEWLEKŁE)

- Uszkodzenie wątroby aktywuje receptor TREM1 na komórkach mieloidalnych
- Wzmacnia stan zapalny wątroby
- Aktywuje komórki gwiazdiste wątroby
- Powoduje choroby wątroby (tj. LIPIDOZA) i ZWŁÓKNIENIE



Nguyen-Lefebvre et al., 2018. *J Clin Invest.* 128(11): 4870–4883.

Wątroba: Odpowiedź Ostrej Fazy (dorosłe zwierzęta)

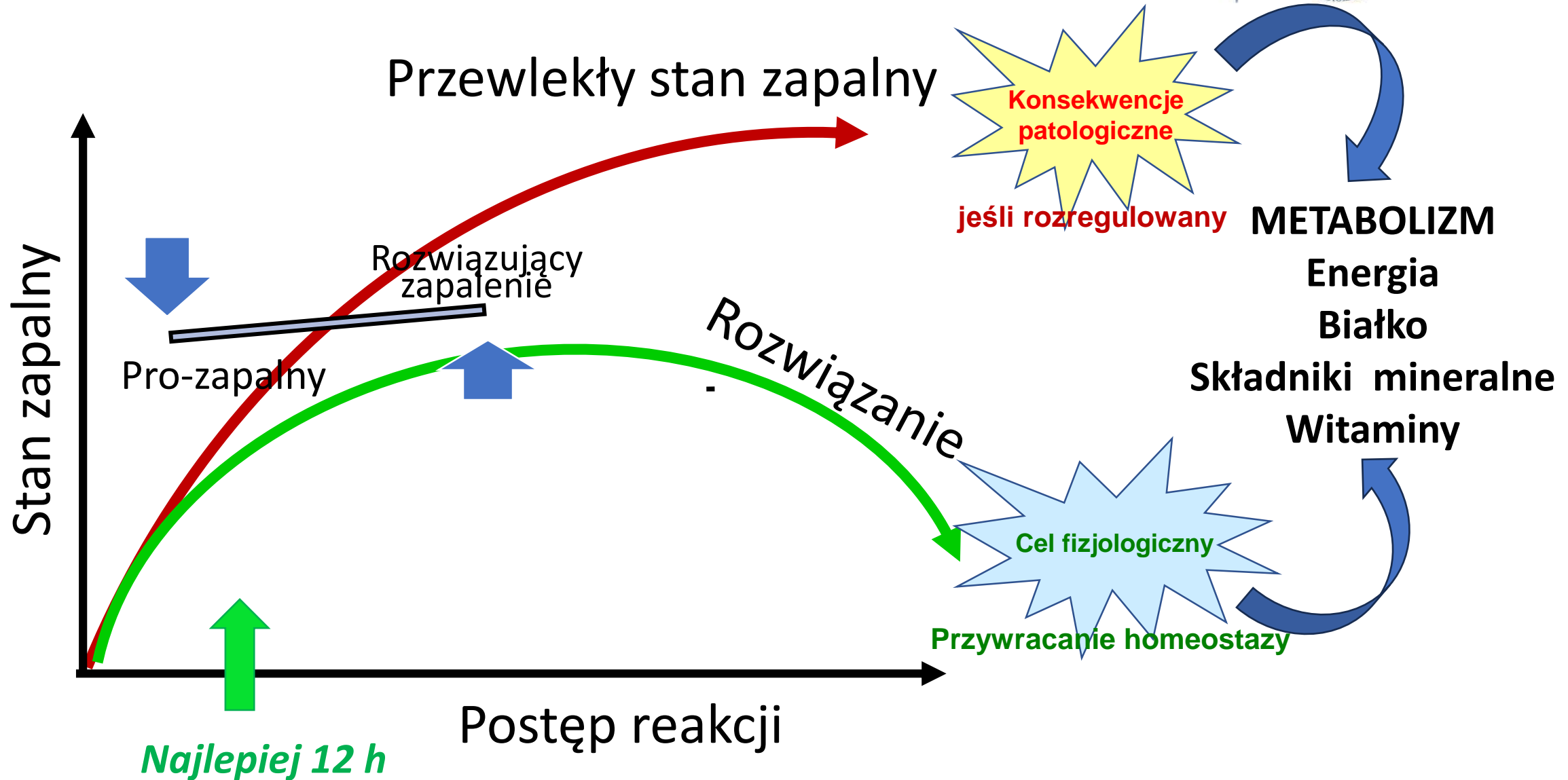


Zmiany stężenia białek osocza po urazie lub zapaleniu

A1 AGP, kwaśna glikoproteina alpha; CRP, białko C-reaktywne; ALB, albumina; ROM, reaktywne metabolity tlenu; CHOL, cholesterol.

Zmiany stężenia CRP i haptoglobiny przedstawiono na skali logarytmicznej (za Fleck, 1989 i Bertoni & Trevisi, 2013)

Czynniki zapalne oddziałują na metabolizm



Reakcja wątroby podczas stanu zapalnego w okresie przejściowym ma kluczowe znaczenie dla wielu aspektów

Problemy to:
nasilenie i
czas trwania
tych reakcji

Zapalenie nie jest procesem negatywnym, ale może budzić obawy, gdy:

1. Nadmierne lub niekontrolowane
2. Powtarzające się
3. Rozwiązywanie jest opóźnione

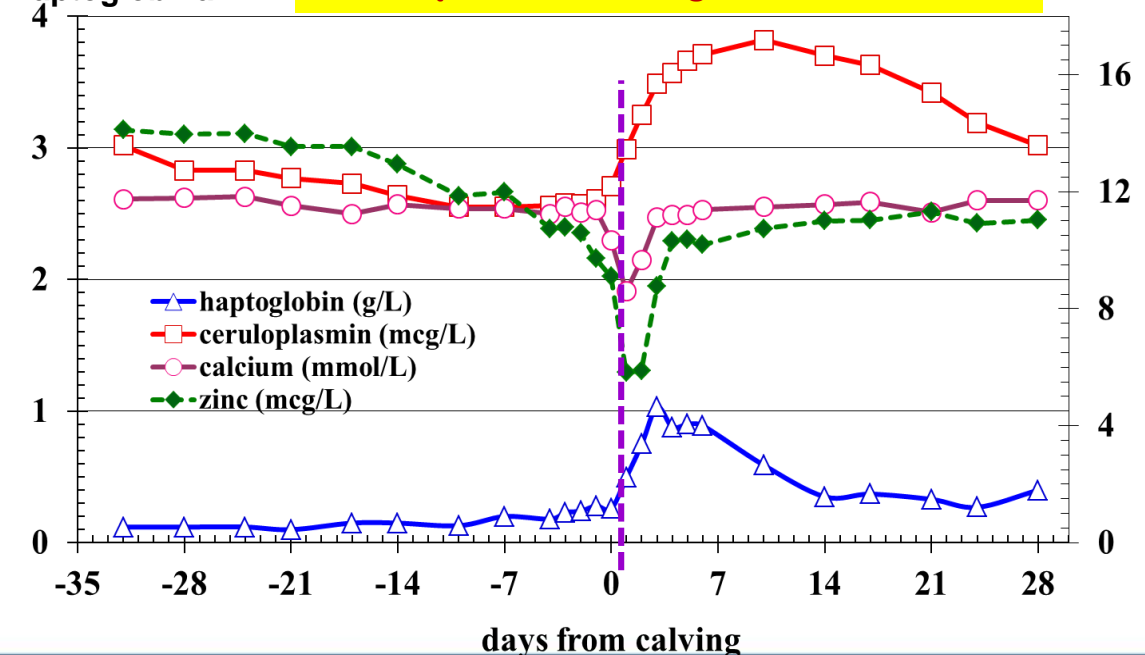
Co mierzyć?

Obecność stanu zapalnego (tj. pozAPP)?

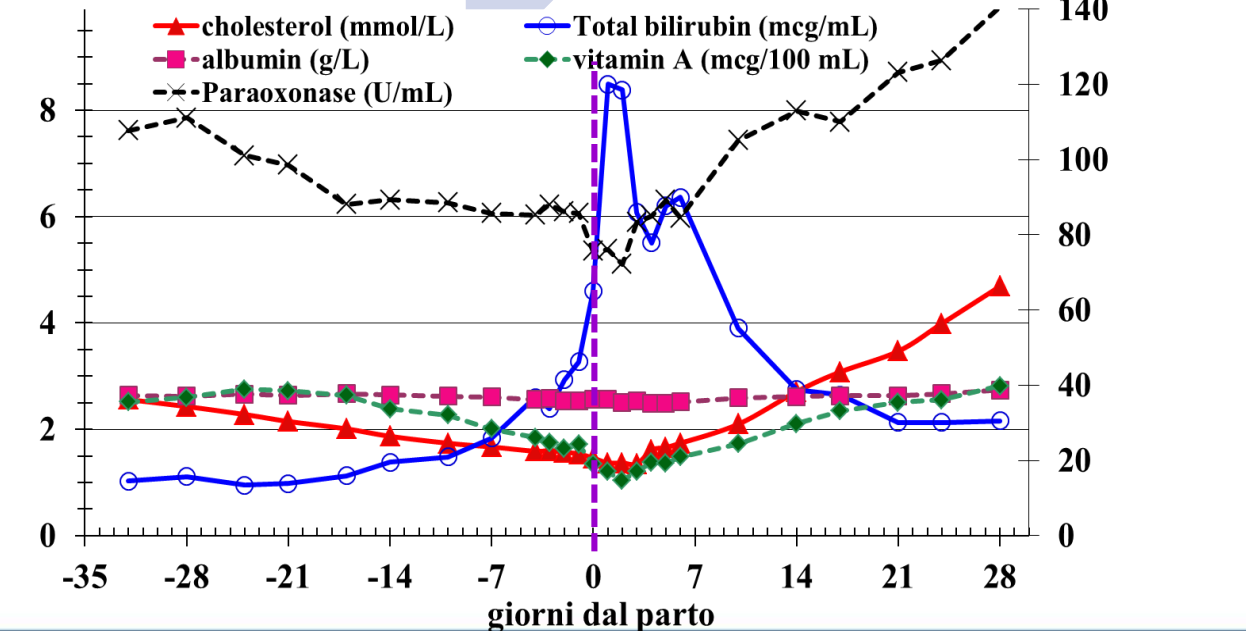
Konsekwencje stanu zapalnego (tj. negAPP)?

✓ Często przypadki od -7/+7 dnia laktacji
✓ Często bardzo długotrwałe

Ceruloplazmina & haptoglobina



Cholesterol & bilirubina



Jak ocenić ciężkość przypadków występowania stanów zapalnych w okresie przejściowym?

- **Punkt odniesienia biometrycznego** (progowe/fizjologiczne zakresy NEFA; BHB; Hp w różnych stadiach) (*Kervin et al., 2021 JDS 105:5327; Premi et al., 2021, Animals 11:1714*)
 - mocne punkty: łatwa identyfikacja krowy zagrożonej
 - słabe punkty: brak konsensusu co do zakresów referencyjnych; czasochłonne, kosztowne

- **Wskaźniki złożone:**
 - **LAI** (wskaźnik aktywności wątroby; *Trevisi et al., 2001; Bertoni et al., 2008, JDS91:3300*)
 - **LFI (wskaźnik funkcjonalności wątroby;** *Bertoni et al., 2006; Trevisi et al., 2012 RVS 93:695*)
 - **PIRI** (wskaźnik reakcji zapalnej po wycieleniu; *Trevisi et al., 2016 IJAS 12(s1):58*)
 - mocne punkty: grupuje krowy/stada wskazując zagrożone (subkliniczne)
 - słabe punkty: czasochłonne, kosztowne, opóźniona reakcja

1. Punkty krytyczne u krów okołoporodowych

- Zmienność w parametrach odpornościowych: system wrodzony i nabyty
- Zapalenie
- Przyczyny zmienionej odpowiedzi zapalnej

2. Jak interpretować odpowiedź zapalną w okresie wycieleniowym

- Implikacje na poziomie wątroby
- Fizjologiczne vs patologiczne
- Jak mierzyć? Obecność czy konsekwencje?
- Kiedy mierzyć?

3. Wskaźniki klasyfikujące nasilenie stanu zapalnego w okresie okołoporodowym

- LFI (Liver Functionality Index - Wskaźnik Funkcjonalności Wątroby)
- Jak go używać?

4. Perspektywy i implikacje

LFI = wskaźnik funkcjonalności wątroby

Bertoni et al., 2006 57th EAAP Meeting, 17-20 Sept, Antalya, Turkey, pp 325

Bertoni & Trevisi 2013. Vet. Clin. North Am. Food Anim. 29(2):413–431



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

param
etry

3 biomarkery osocza rutynowo syntetyzowane przez wątrobę:

albuminy

cholesterol (= lipoproteiny)

bilirubina całkowita (= pośredni pomiar enzymów niezbędnych do oczyszczenia)

oblicza
nie

- **2 pomiary w pierwszym miesiącu laktacji** (3 i 28 dzień laktacji)
- I krok: indeks każdego biomarkera: dla albuminy i cholesterolu = 50% VI + 50% I; dla bilirubiny = 67% VI + 33% R (VI = wartość w 3 dniu laktacji; I = wzrost od 3 do 28 dnia; R = spadek od 3 do 28 dnia)
- II krok: **Normalizacja wskaźników** uzyskanych w etapie I, z **wartościami odniesienia** ($X \pm SD$) uzyskanymi od **krów zdrowych i o dobrej wydajności** (Bertoni et al., 2008)

$$LFI = \frac{\text{albumins index} - 17,71}{1,08} + \frac{\text{cholesterol index} - 2,57}{0,43} - \frac{\text{bilirubin index} - 6,08}{2,17}$$

wynik

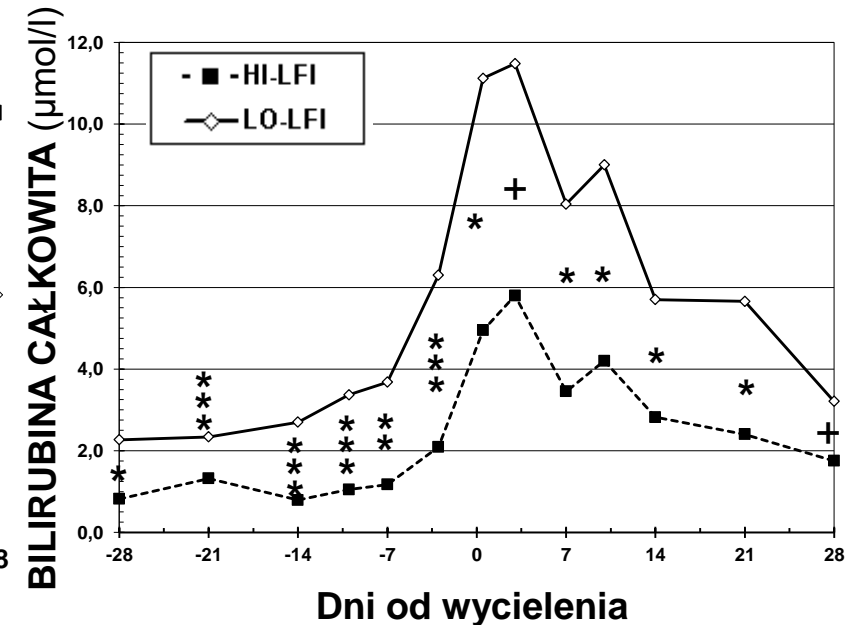
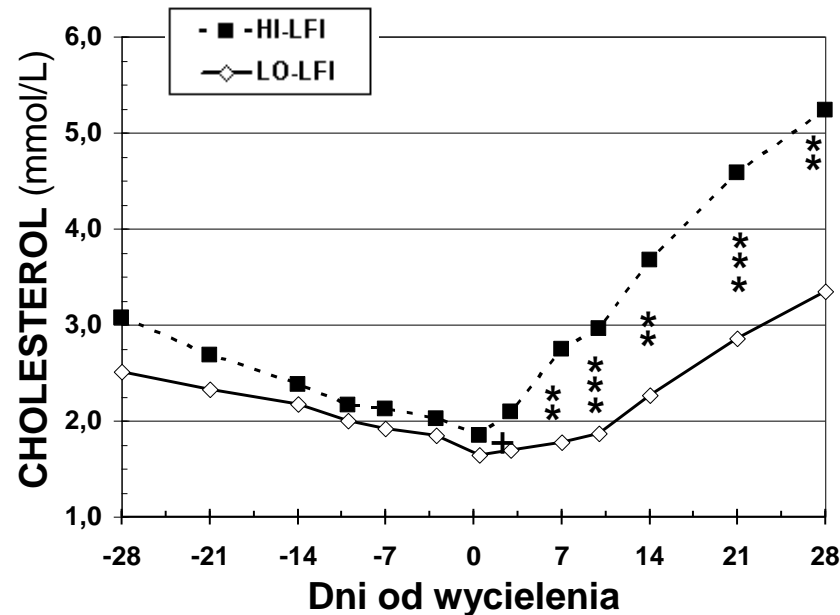
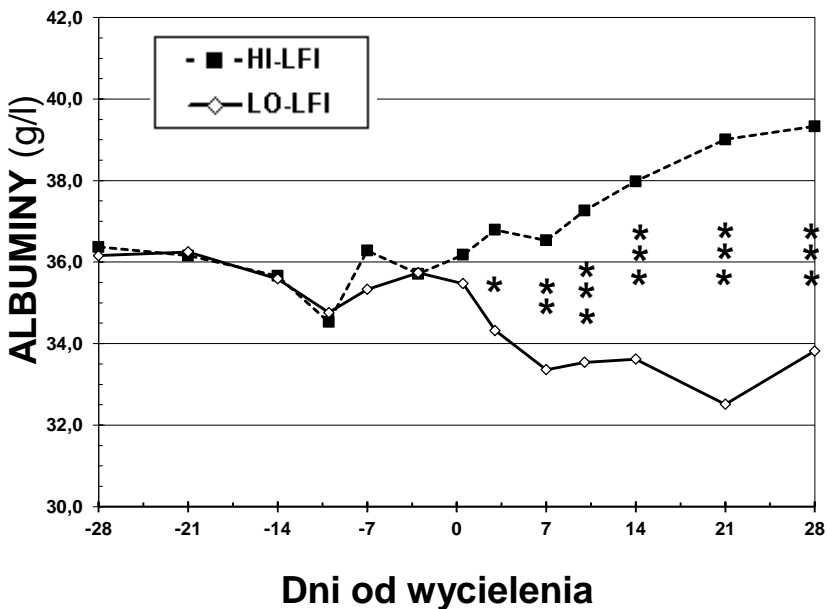
- **Końcowy wynik każdej krowy to suma znormalizowanych wskaźników**
- Wartość indywidualną można porównywać w obrębie stada (grupowanie krów), między stadami (ranking gospodarstw)...
- **Im wyższy wynik LFI, tym lepsza adaptacja** (z mniejszymi konsekwencjami z powodu stanu zapalnego)

LAI e LFI: $r = 0.87$; $P < 0.001$ (Trevisi et al., 2010)

LFI = wskaźnik funkcjonalności wątroby

(poziomy i ewolucja biomarkerów w okresie przejściowym)

Bezpośrednie (albuminy, cholesterol) i pośrednie (bilirubina) wskaźniki negatywnej odpowiedzi APP w próbkach osocza krów w okresie okołoporodowym z wysokim (**HILFI**) i niskim (**LOLFI**) LFI (Trevisi et al., 2012 Res Vet Sci 93:695-704)

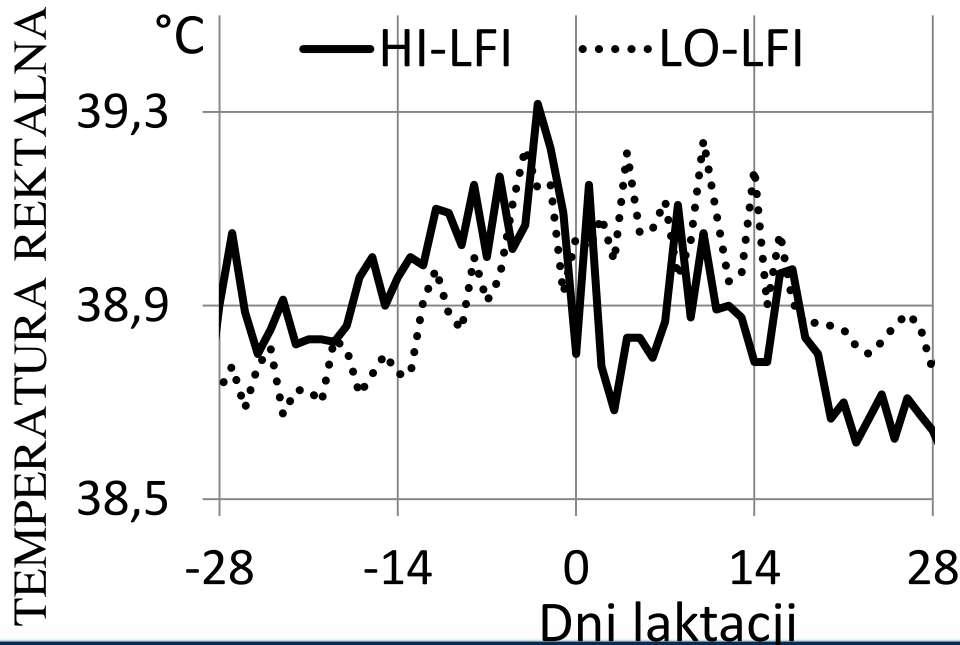
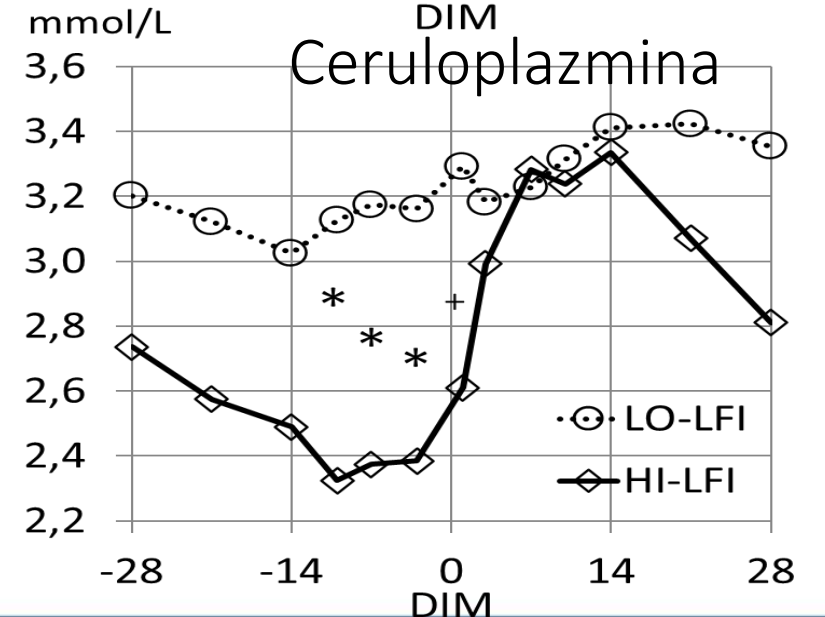
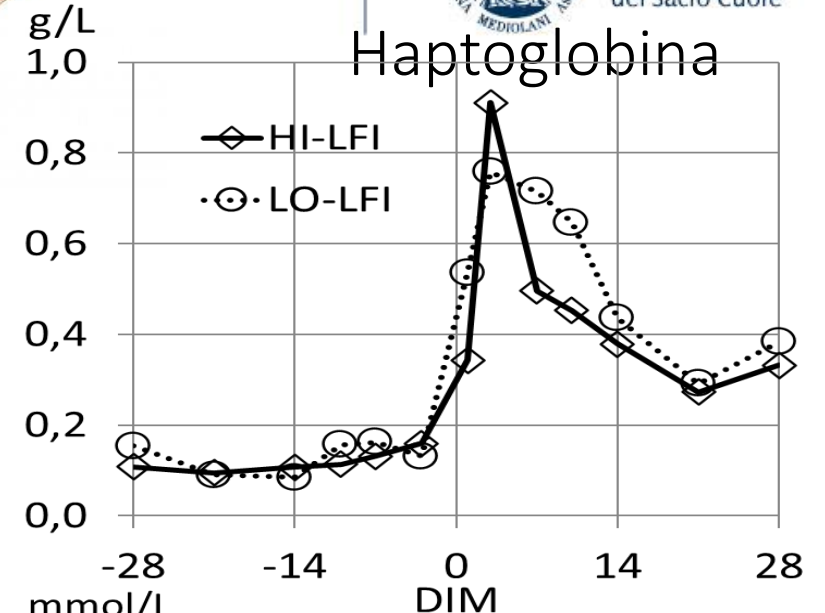


Stan zapalny a temperatura rektalna

Trevisi et al., 2010 - 3rd EAAP ISEP - Parma

Krowy z niskim vs wysokim LFI:

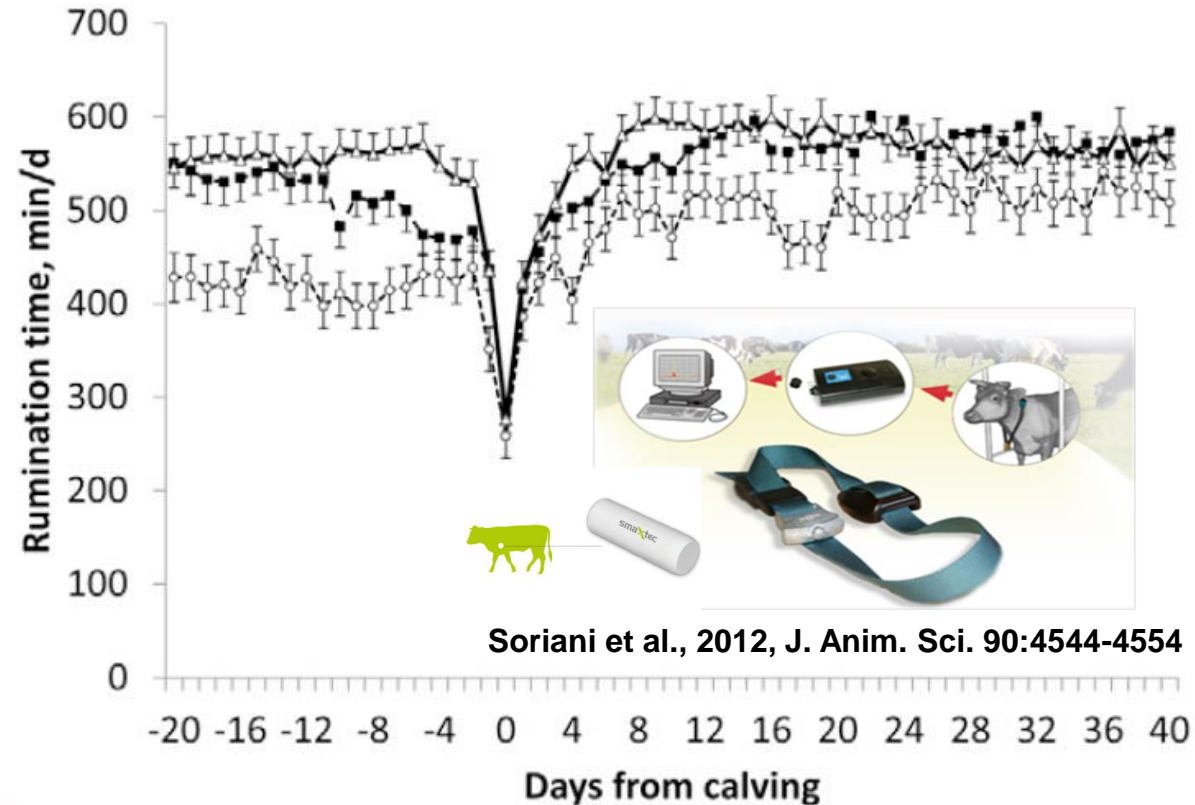
- Większa częstość występowania chorób
- Wyższa temperatura ciała we wczesnej laktacji
- Wyższe CuCp przed wycieleniem i wolniejszy powrót do fizjologicznych poziomów +APP w okresie poporodowym



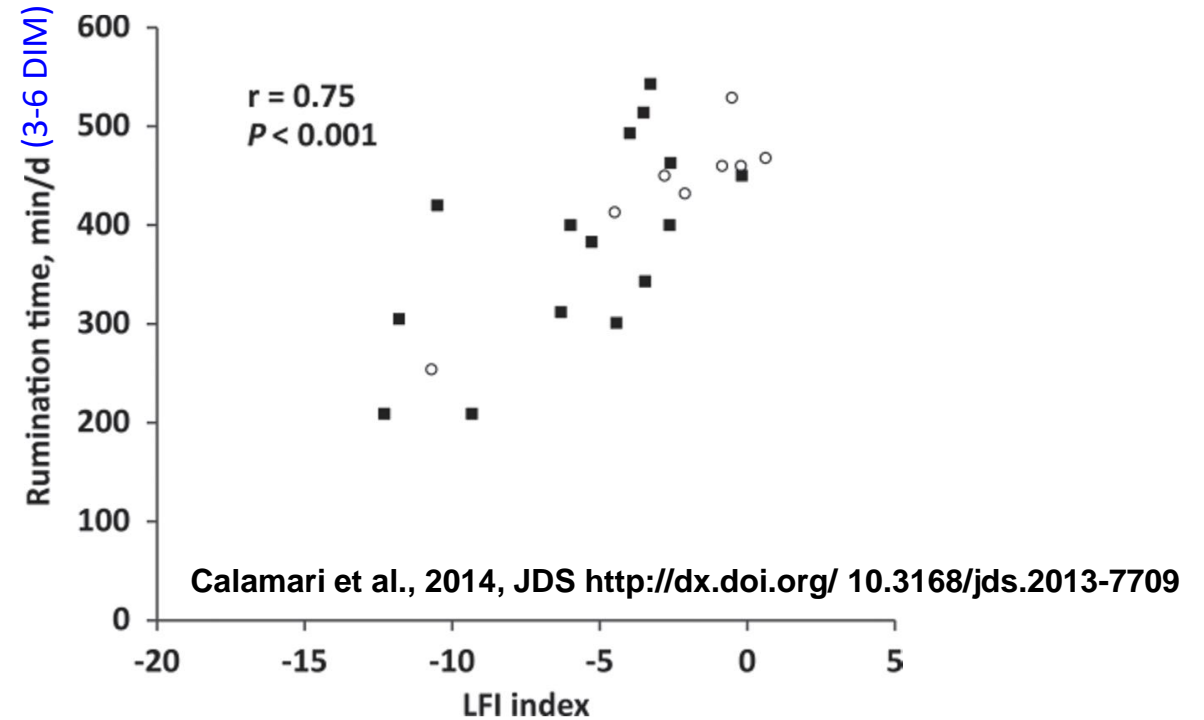
Stan zapalny a czas przeżuwania

Codzienne zachowanie związane z czasem przeżuwania w okresie przejściowym u krów sklasyfikowanych według czasu przeżuwania przed wycieleniem

(linia kropkowana z pustymi kółkami: krótki czas przeżuwania; linia przerywana z pełnymi kwadratami: średni czas przeżuwania; linia ciągła z pustymi trójkątami: długi czas przeżuwania).



Czas przeżuwania w okresie okołoporodowym koreluje negatywnie z wynikiem LFI



Zatem: krótkie przeżuwanie (< 450 min/d) w okresie okołoporodowym i/lub jego znaczne skrócenie są ściśle powiązane z warunkami immunometabolicznymi i może być zapowiedzią słabej wydajności we wczesnej laktacji

Stan zapalny w czasie wycielenia a płodność

Bertoni et al., 2008 - JDS, 91:3300-3310



Grupa UP-LAI (bardziej produktywna) wykazała najlepszą płodność

Item	UP n = 19	INUP n = 20	INLO n = 19	LO n = 19
Services per pregnancy* (n°)	1.65±1.3 ^a	2.04±1.6 ^{ab}	2.68±1.5 ^b	2.01±1.5 ^{ab}
Open Days* (DIM)	92.9±48 ^a	132.5±89 ^b	138.8±89 ^b	110.5±55 ^{ab}
Conception rate at 1 st service (%)	52.6	45.0	21.0	36.8
Repeat breeders (at least 3 services)	21.0	45.0	57.9	31.6

*after logarithmic transformation

**Stan zapalny
(kliniczny lub
subkliniczny) wpływa
na płodność**

Mniej niż 50% krów w grupach LO/INLO wykazało objawy kliniczne

Stężenia APP są bardziej odpowiednie do identyfikacji zaburzeń metabolicznych na wczesnym etapie laktacji

Stan zapalny opóźnia wznowienie cykli u krów

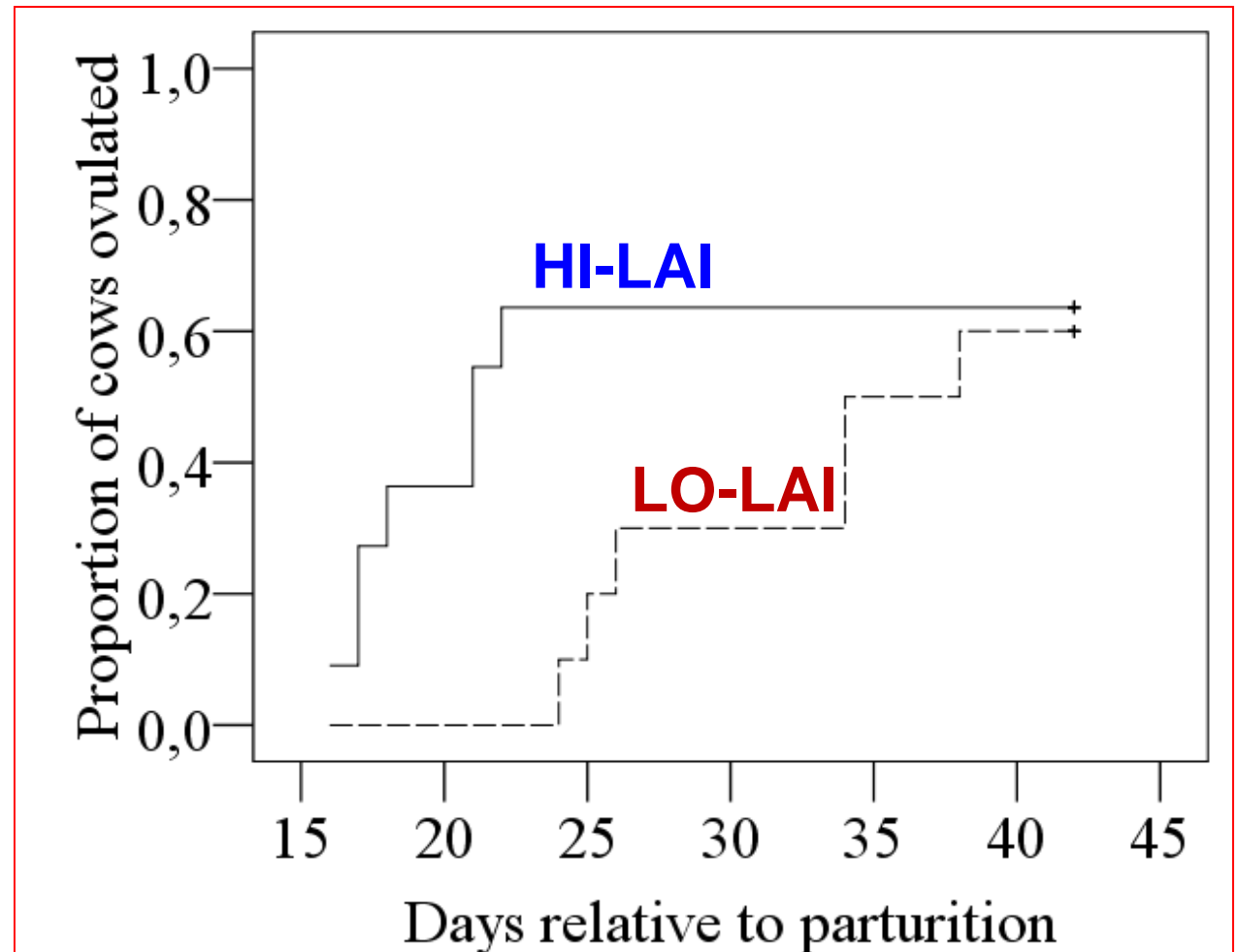
(30.0 ± 2.5 vs 18.4 ± 0.8 dni laktacji w LO i HI-LAI)



Wykres przeżywalności skumulowanej przedstawiający odsetek 21 wysoko wydajnych krów mlecznych, które owulowały w ciągu pierwszych 42 dni laktacji.

Krowy zostały sklasyfikowane według ich LAI:

grupa 1 (LO-LAI), linia przerywana; N = 10) miała niższą wartość indeksu, co sugeruje bardziej wyraźny stan zapalny, w porównaniu do **grupy 2 (HI-LAI)**, linia ciągła; N = 11).

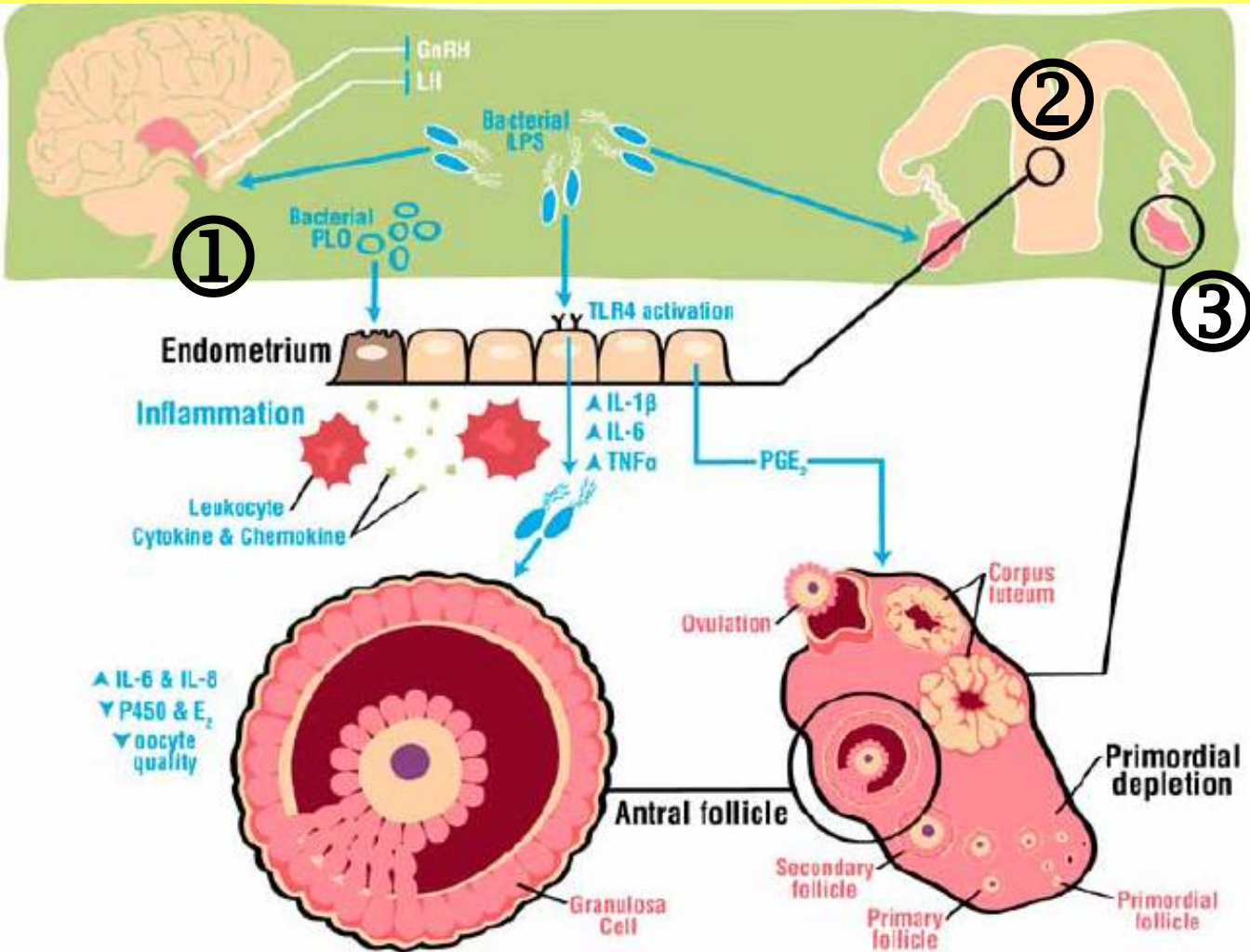


Obserwacje dotyczące krów, Bossaert et al.,
Vet. J. 2011, 192(2):222-225

Zależność: stan zapalny (LPS), macica i jajniki

Bromfield et al., *J. Anim. Sci.* 2015.93:2021–2033

Schematyczne przedstawienie infekcji macicy i jej wpływu na układ rozrodczy (autor: Stacey Jones, Univ. Florida)



➤ **Infekcja bakteryjna macicy powoduje wchłanianie LPS**

➤ LPS inicjuje odpowiedź zapalną: aktywację TLR-4, ↑ cytokin, chemokin i produkcję PGE₂. Co wpływa na:

1. **Sygnalizację neuroendokrynną.**

W mózgu: ↓ GnRH i LH

2. **Zdrowie macicy. W endometrium**

bakteryjna piolizyna powoduje uszkodzenie komórek przez lizę osmotyczną.

3. **Funkcje jajników. W jajniku rezerwa**

pęcherzyków pierwotnych zostaje zmniejszona, wzrost pęcherzyków jest opóźniony, a faza lutealna wydłużona. Komórki ziarniste jajnika reagują na bakteryjny LPS w sposób zależny od TLR4, zwiększając mediatory zapalne, zmniejszając aktywność aromatazy i poziom estradiolu, a także obniżając kompetencję oocytów.

DANE POMIAROWE

Krowy z wysokimi (w porównaniu z niskimi) wartościami LFI



Praktyczne wykorzystanie LFI

- **Wskaźnik adaptacji krów** podczas okresu przejściowego: **identyfikuje subtelne problemy hodowlane** (*wynikające z nieodpowiednich warunków od zaszuszenia do 30. dnia laktacji*)
- **W obrębie stada:**
 - **Identyfikuje osobniki z subklinicznymi problemami** (w 30. dniu laktacji), które:
 - ✓ nadal wymagają uwagi i opieki
 - ✓ są w większym stopniu narażone na niepłodność
 - klasyfikuje krowy na różnych etapach laktacji
- **Pomiędzy stadami:**
 - **Klasyfikuje gospodarstwa od „dobrego” do „słabego”** pod względem sukcesu okresu przejściowego
 - **Monitorowanie stanu zdrowia i dobrostanu** podczas okresu przejściowego

1. Punkty krytyczne u krów okołoporodowych

- Zmienność w parametrach odpornościowych: system wrodzony i nabyty
- Zapalenie
- Przyczyny zmienionej odpowiedzi zapalnej

2. Jak interpretować odpowiedź zapalną w okresie wycieleniowym

- Implikacje na poziomie wątroby
- Fizjologiczne vs patologiczne
- Jak mierzyć? Obecność czy konsekwencje?
- Kiedy mierzyć?

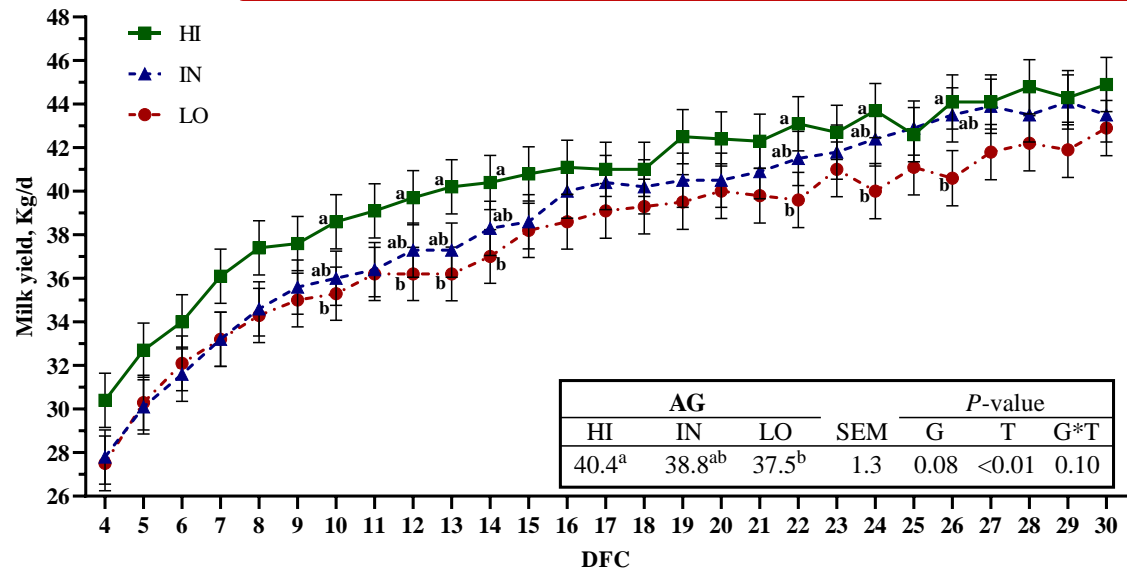
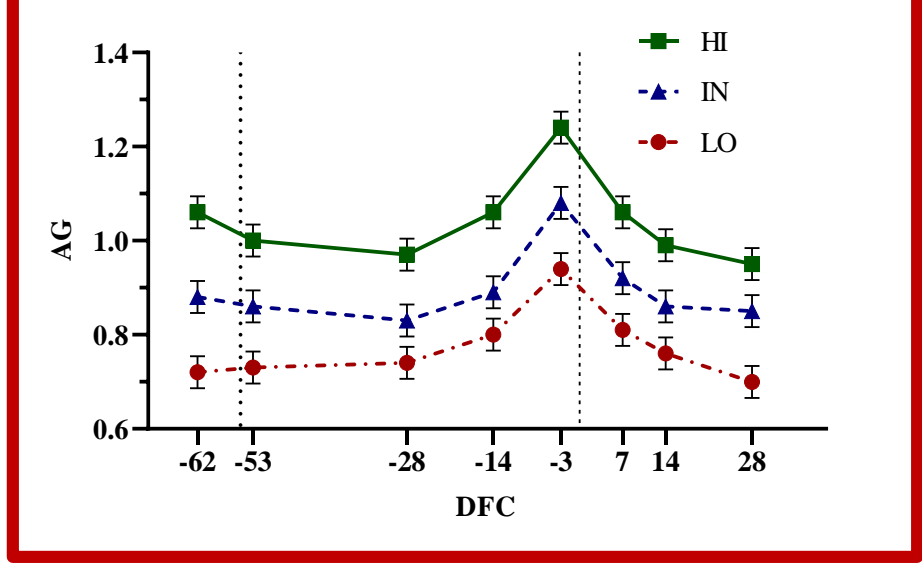
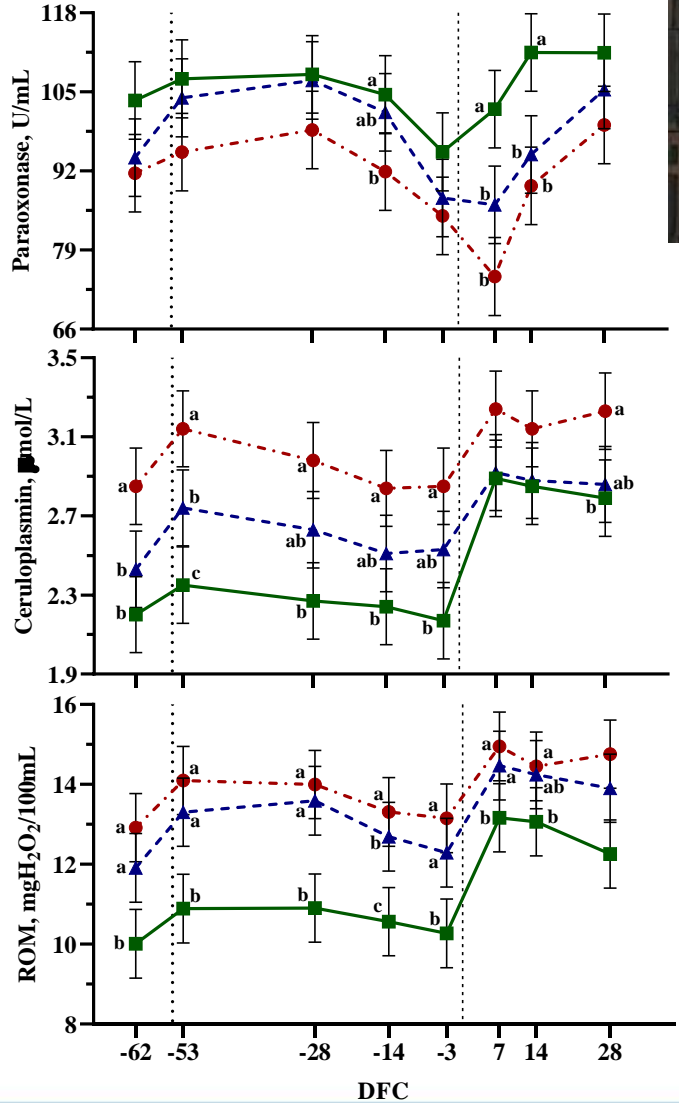
3. Wskaźniki klasyfikujące nasilenie stanu zapalnego w okresie okołoporodowym

- LFI (Liver Functionality Index - Wskaźnik Funkcjonalności Wątroby)
- Jak go używać?

4. Perspektywy i implikacje

1. Czy inne wskaźniki są lepsze niż LFI?
2. Główne przyczyny stanu zapalnego w czasie wycielenia
3. Czy przydatne jest przeciwstawianie się stanowi zapalnemu w czasie wycielenia ?

1a: Stosunek albumin do globulin (AG) przed zasuszeniem jako potencjalny wskaźnik stanu zapalnego i wydajności w kolejnej laktacji u krów mlecznych (Cattaneo et al, 2021 JDS 104(7): 8228-8242)



Wydarzenia zachodzące podczas laktacji/życia modyfikują immunometabolizyczny stan krów

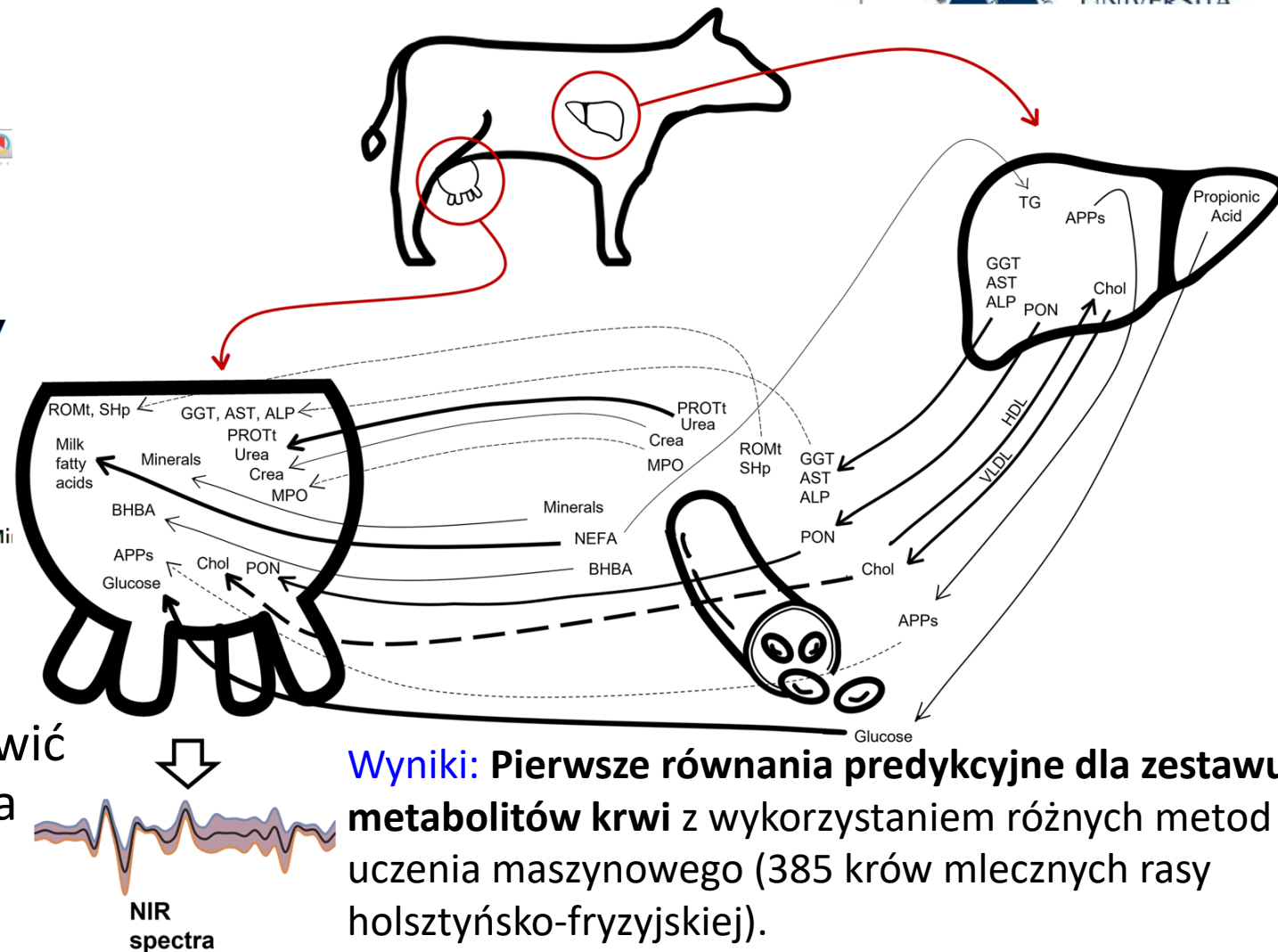
Niektóre warunki mogą sprzyjać wywołaniu silniejszej odpowiedzi zapalnej podczas nowych wyzwań...

scientific reports

(2022) 12:8058 | <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11799-0>

OPEN In-line near-infrared analysis of milk coupled with machine learning methods for the daily prediction of blood metabolic profile in dairy cattle

Diana Giannuzzi^{1✉}, Lucio Flavio Macedo Mota¹, Sara Pegolo¹, Luigi Gallo¹, Stefano Schiavon¹, Franco Tagliapietra¹, Gil Katz², David Fainboym², Andrea Mi Erminio Trevisi³ & Alessio Cecchinato¹



Cel: przewidywanie metabolitów krwi na podstawie próbek mleka. Może to umożliwić ciągłe monitorowanie parametrów zdrowia i dobrostanu zwierząt w celu optymalizacji żywienia i wydajności przez całą laktację.

Narzędzie PLF: Widma bliskiej podczerwieni mleka zbierane za pomocą urządzenia **AfiLab**

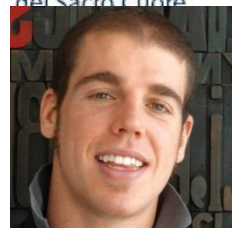
Wyniki: Pierwsze równania predykcyjne dla zestawu metabolitów krwi z wykorzystaniem różnych metod uczenia maszynowego (385 krów mlecznych rasy holsztyńsko-fryzyjskiej).

Wiele umiarkowanych korelacji (r) między parametrami osocza a pikami widma mleka.

Obiecujące narzędzie

2a. Przed vs zasuszenie

Mezzetti et al 2020 Ital. J. Anim. Sci. 19(1):51–65



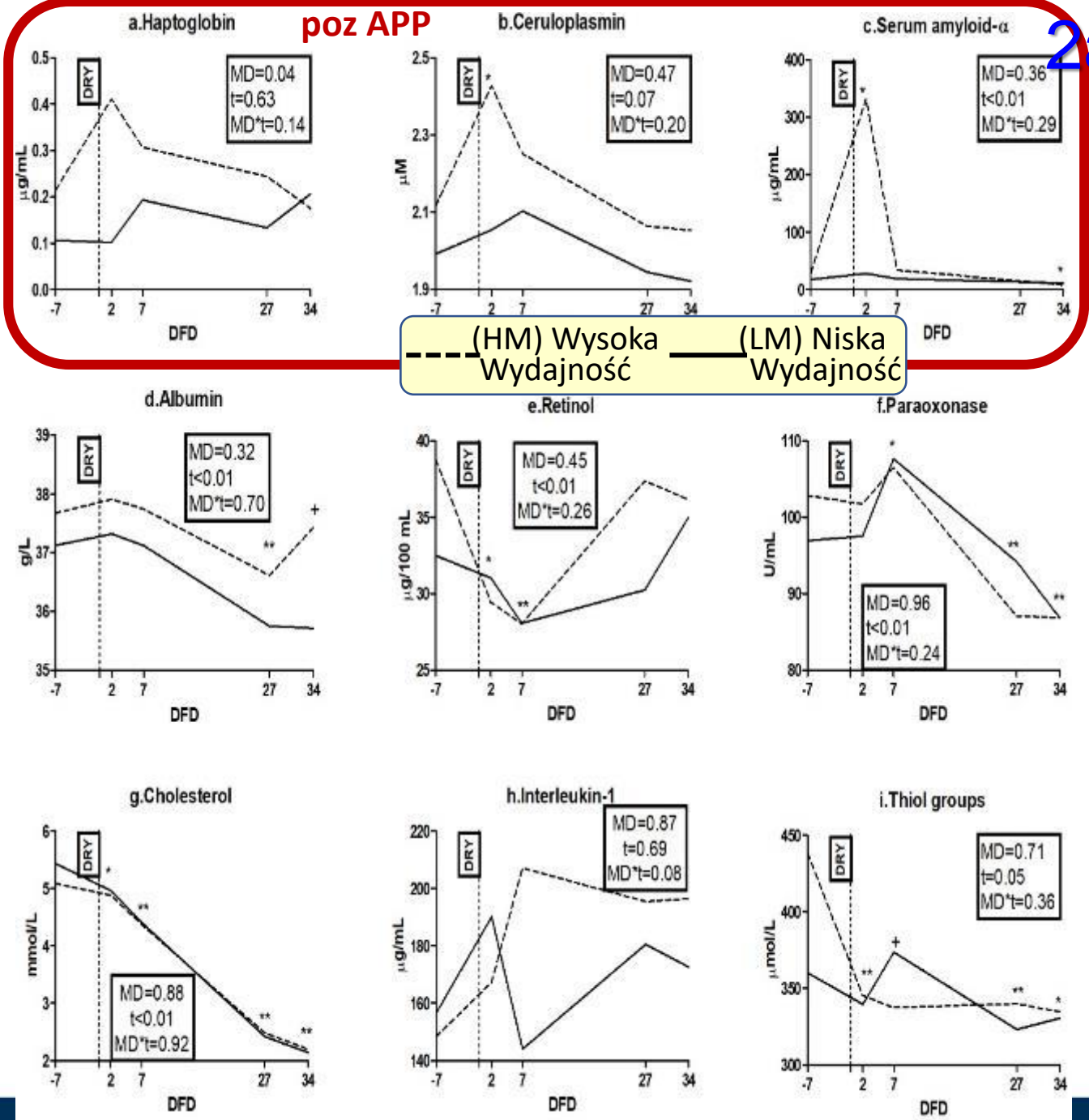
Przed vs po zasuszeniu:

- **↑ CuCp i SAA** (2 dni po zasuszeniu (DFD))
- Stopniowy **↓ Albumin** do 27 DFD
- **↓ Retinol** 2-7 DFD i **PON** ($P < 0.05$)
- **↓ Cholesterol i SHp**

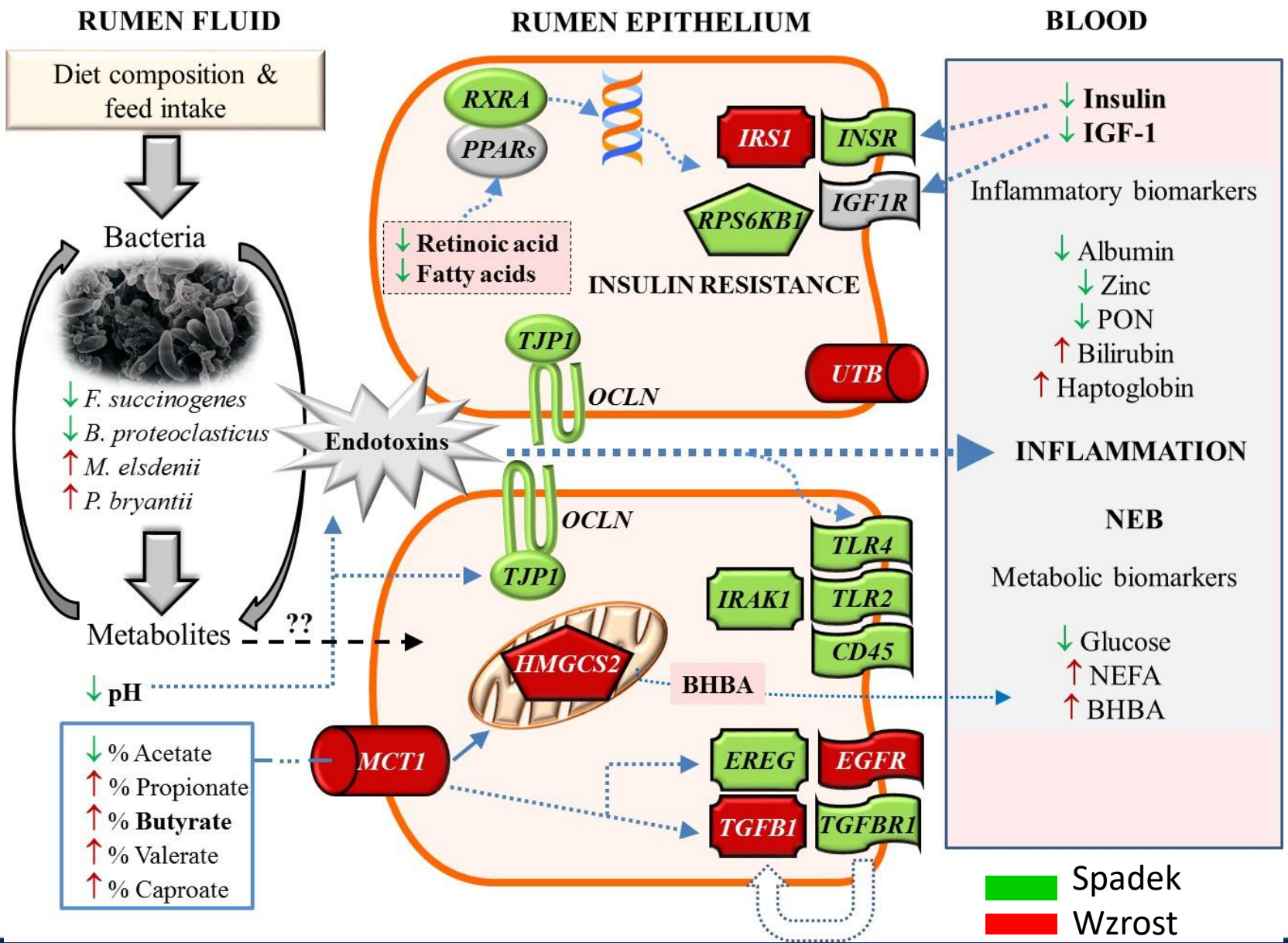
↑ +APP i ↓ -APP

Po zasuszeniu: ogólnoustrojowy
STAN ZAPALNY
(tj. aktywacja odpowiedzi
immunologicznej)

**HM (produkcja mleka < 15 kg/d) vs
LM: silniejsza reakcja zapalna**



2b. Zmiany w żwaczu podczas okresu przejściowego i stanu zapalnego



Minuti et al., *JDS* 2015, 98:8940-8951

Ekspresja genów (EG) w nabłonku żwacza (Po vs Przed – wycieleniem):

- ↓ EG białek połączeń ścisłych
- ↑ Przepuszczalność
- ↓ EG wielu funkcji odpornościowych
- ↓ Ochrona nabłonka
- ↓ EG wychwyty glukozy
- Insulinooporność

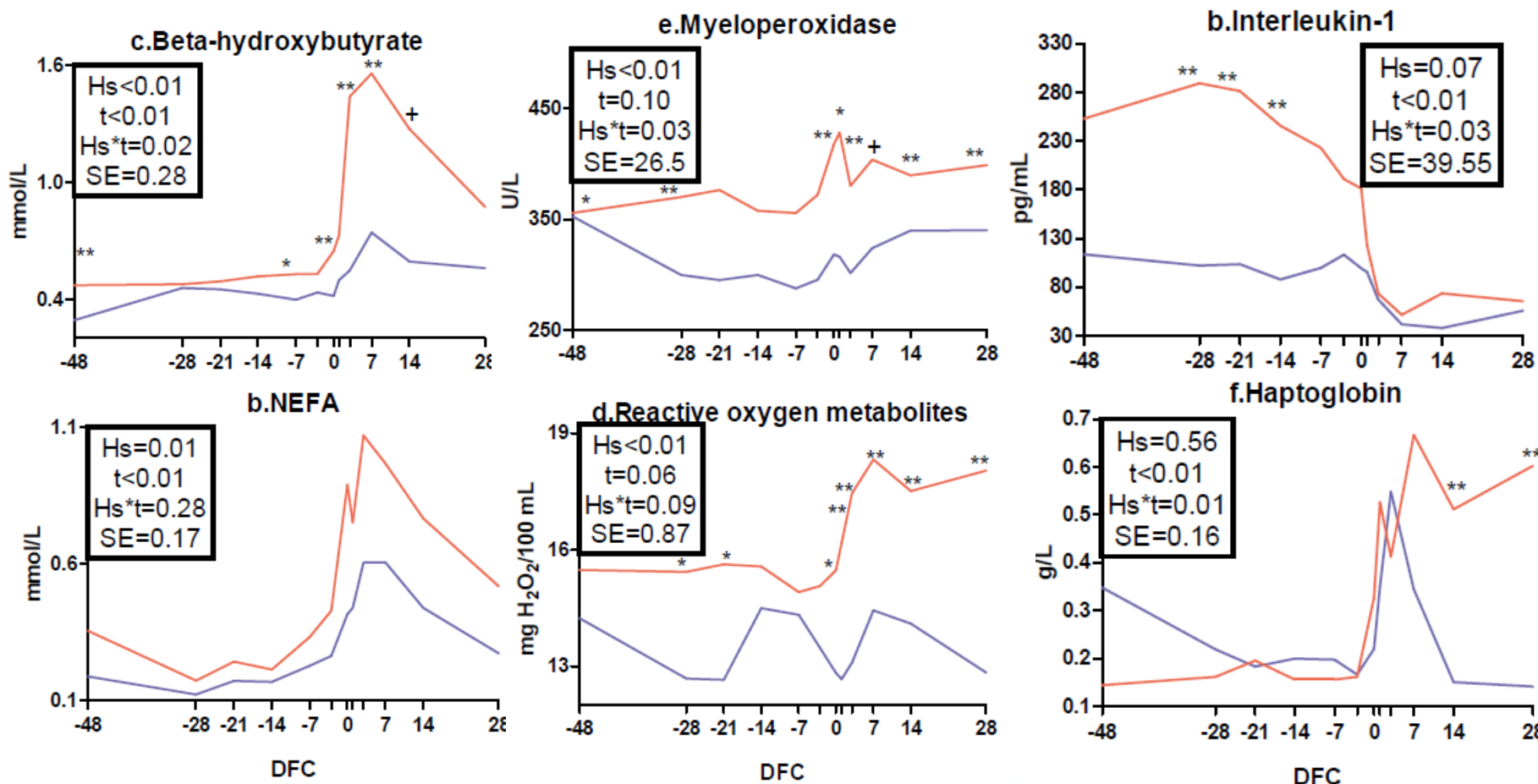
2c. Rozregulowanie przed wycieleniem.

Czy ketozę poprzedza aktywacja układu odpornościowego?

Mezzetti et al. (2019), JDS 102:9241-9258



Ketożowe Zdrowe



Krowy z ketożą wykazywały zaburzenia regulacji układu odpornościowego w późnej ciąży: wysoki poziom cytokin prozapalnych (PIC), mieloperoksydazy (MPO), reaktywnych form tlenu (ROM) (i IFN γ)

Ten stan sprzyja:

- mniejszemu pobraniu paszy
- większemu stanowi zapalnemu w okresie okołoporodowym

Oba stany sprzyjają wystąpieniu klinicznej ketozy

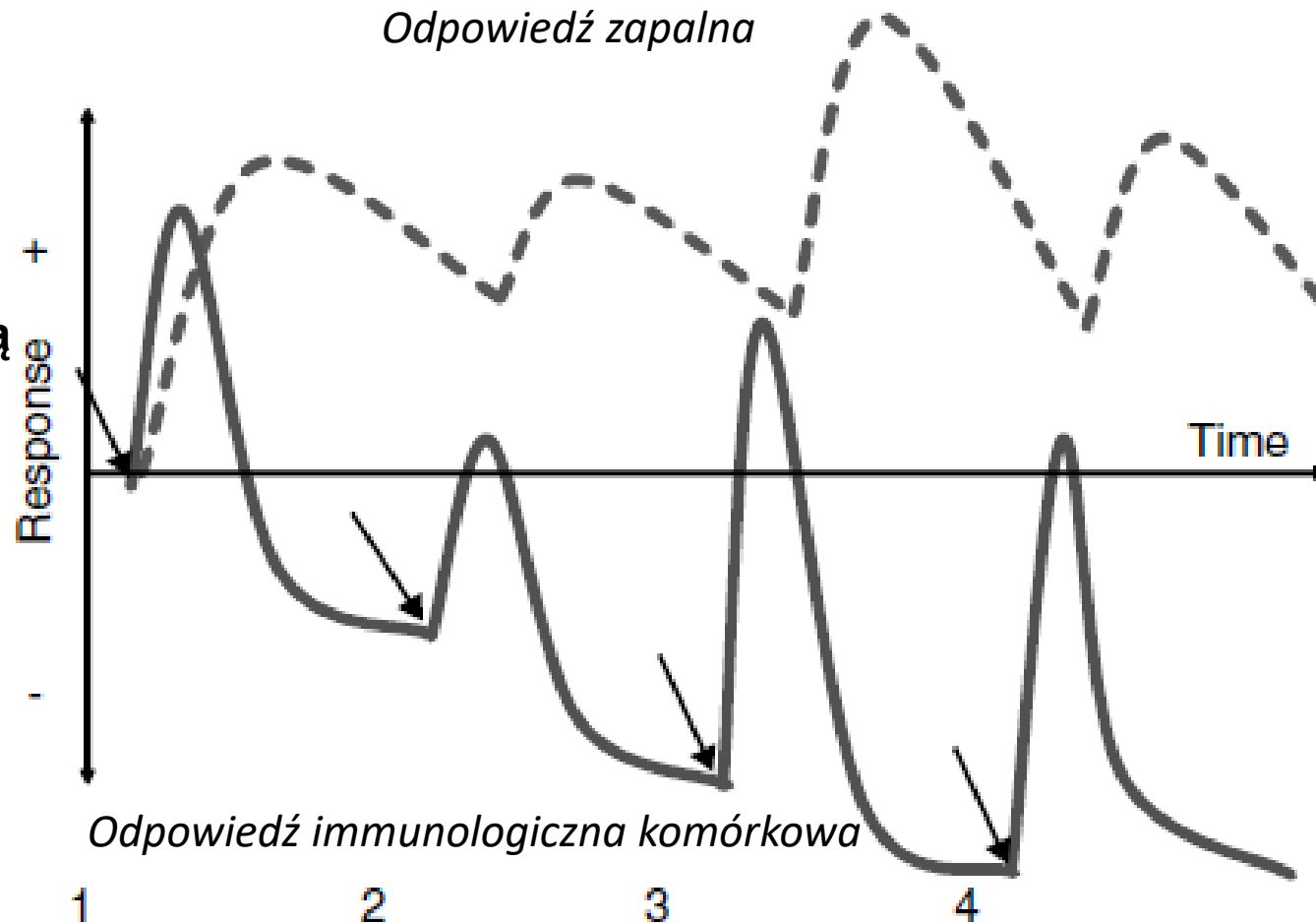
Wpływ powtarzających się wyzwań na odpowiedź zapalną i odpowiedź komórek odpornościowych (NEU)

Zależność

pomiędzy komórkową odpowiedzią immunologiczną (—) a ustrojową odpowiedzią zapalną (---) w odpowiedzi na wielokrotne bodźce.

+ , Pozytywne
- , Negatywne

Heyland et al., Proc Nutr Soc. 2006



...wyzwalana odpowiedź obronna komórki jest zjawiskiem dwufazowym:

- z początkową fazą hiperaktywności, która może przekroczyć wymaganą odpowiedź,
- po której następuje depresja funkcji obronnej komórki

**Wynik: niektóre właściwości są pogorszone, jak fagocytoza, migracja
Brak równowagi pomiędzy mediatorami pro- i przeciwzapalnymi?**

3. Przeciwwstawianie się stanowi zapalnemu

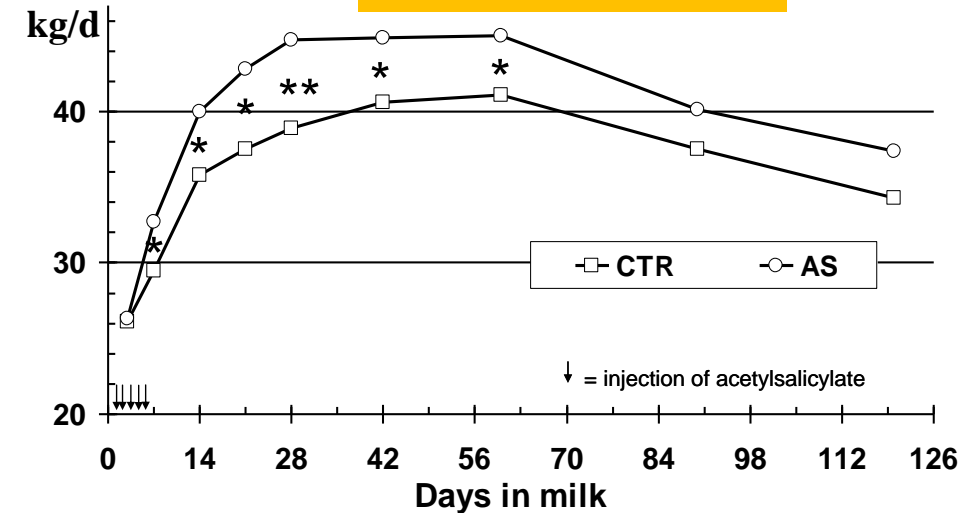
Kiedy **stan zapalny jest nadmierny** (pozAPP i negAPP), ma to wpływ na metabolizm krwi, co sprzyja chorobom metabolicznym oraz infekcjom

Z tego powodu przeprowadziliśmy **pierwszy eksperyment, aby złagodzić stan zapalny** (również subkliniczny) bezpośrednio po wycieleniu...

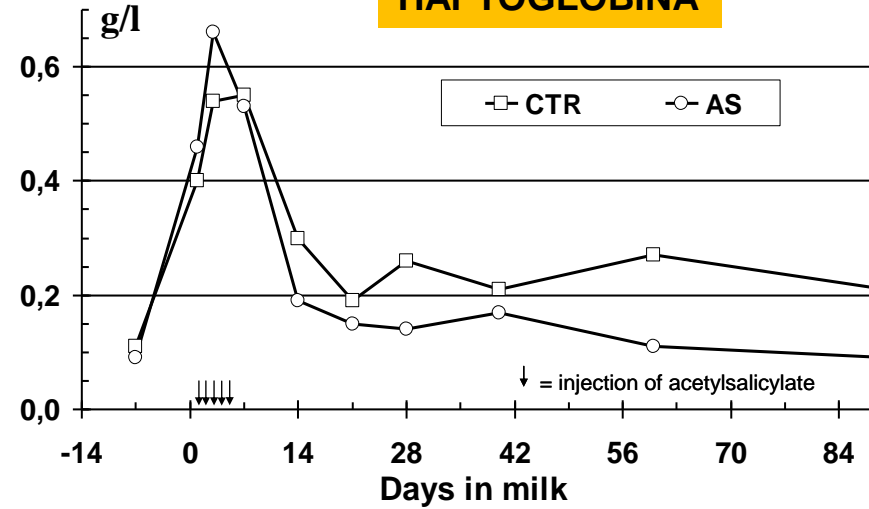
Model „NLPZ”: zdolny do złagodzenia stanu zapalnego w okresie przejściowym

Trevisi et al., 2003. 54 EAAP Meeting 8:258; Bertoni et al 2004 Vet. Res. Comm. 28(S1):217-219; Trevisi et al., 2008 J. It. Ass. Buiatrics 3:61-6; Trevisi et al., 2010 14 ICPD Meeting:165-166

WYDAJNOŚĆ MLEKA



HAPTOGLOBINA

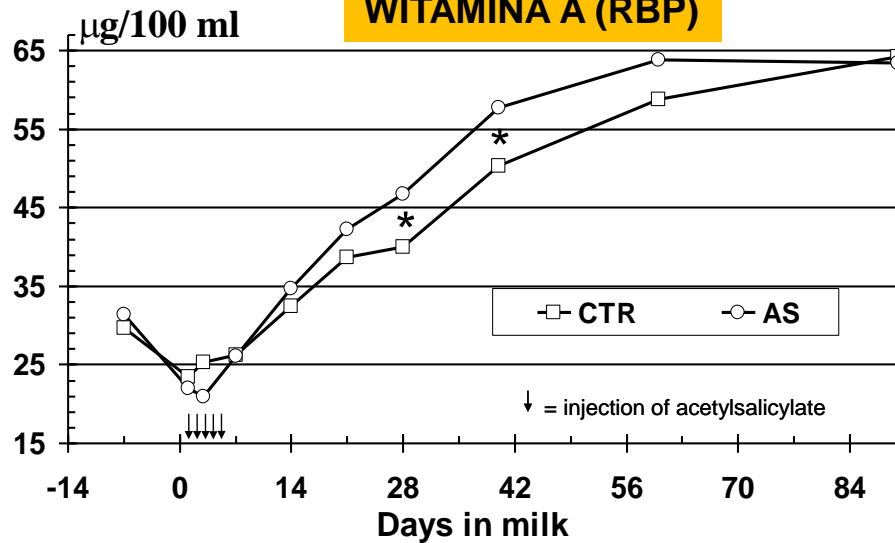


AS = codzienne podawanie domięśniowo **acetylosalicylanu lizyny** (15 g/d w 1,2,3 dniu laktacji i 7.5 g/d w 4,5 dniu laktacji)

CTR = kontrola

Trevisi e Bertoni (2008) In "Aspirin and health research progress", Nova Science Publishers. pp 23-37

WITAMINA A (RBP)



ROZRÓD

group	CTR	AS
COWS	22,0	23,0
culled cows	15,8	9,5
pregnant cows	86,4	91,3
pregnant at 1 st insemination	21,1	52,4
repeat breeders	36,8	28,6
services per pregnancy (§)	2,68	2,38
open days (§)	131,8	106,3
Fertility Status Index (FSI) (@)	12,6	61,8

LEGEND: (§) after logarithmic transformation; (@) Esslemont and Eddy (1977).

- ▲ **Wyniki „modelu aspirynowego” potwierdzają znaczenie złagodzenia stanu zapalnego bezpośrednio po wycieleniu** (*np. lepsza zdrowotność, wydajność, płodność i mniejszy stres*)
- ▲ Dawkowanie i czas podawania są naprawdę ważne
- ▲ Aspiryna działa w szczególny sposób: **„angażuje mechanizmy rozwiązywania stanu zapalnego”**, ale większość NLPZ nie jest w stanie zapewnić pełnego ustąpienia stanu zapalnego
- ▲ **NLPZ mają również skutki uboczne:** zwiększają przepuszczalność jelit
- ▲ Aspiryna jest lekiem i nie może być stosowana regularnie, ale inne cząsteczki (nutraceutyki) mogą naśladować większość jej efektów

Stan wiedzy i perspektywy

- układ odpornościowy (UO) jest jedynym układem wykazującym wyraźną zmianę w okresie przedwycieleniowym
- UO jest rozregulowany, ale nie stłumiony
- Czynniki rozregulowujące prawdopodobnie zaczynają działać od momentu zaszuszenia
- Reakcja zapalna jest zmieniona w okresie przejściowym, co może pomóc odróżnić krowy odporne od subklinicznych
- negAPP to najskuteczniejsze parametry terminowego wykrywania przypadków subklinicznych

- Wysiłki mające na celu zrozumienie przyczyn zaburzeń funkcji odpornościowych i przesadnej odpowiedzi zapalnej
- Strategie dostrajania/ modulowania stanu zapalnego w okresie okołoporodowym
- Immunożywienie jest odpowiednią strategią optymalizacji działania UO
- Redukcja stresorów społecznych (również niezbędna dla zapewnienia wysokiego dobrostanu)

Bardzo dziękuję za uwagę



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

Prof. G. Bertoni (Unicatt, emeritus)

Prof. L. Calamari (Unicatt, †)

Prof. A. Cecchinato (UNIPD)

Prof. M. Bionaz (Oregon Univ.)

Dr V. Lopreiato (UNIME)

Dr Z. Zhou (Michigan Univ.)

Prof. Ajmone Marsan (Unicatt)

Prof. J. Drackley (Illinois Univ)

Prof. J.J. Loor (Illinois Univ.)

Dr. J. Osorio (Virginia TechUniv.)

Dr. M. Amadori (IZLER, retired)



Università Cattolica del Sacro Cuore – Piacenza (ITALY)



PYTANIA?

Dr Luca
Cattaneo



Dr Matteo
Mezzetti



Dr Andrea Minuti



Dr Fiorenzo
Piccioli-
Cappelli

