

# BLODSOCKERHALT OCH HORMONFRISÄTTNING UNDER MJÖLKNEDSLÄPP HOS MJÖLKKOR

## BAKGRUND

I samband med mjölkning sker många fysiologiska omställningar i kons kropp. Det första steget är inducering av frisättning av oxytocin från hypofysen. Från stimulering av juvret eller annan nervös stimulering till dess att oxytocin frisätts tar det normalt ca 60 sekunder. Frisättningen av oxytocin är väl beskriven och man vet att mjölkflödet är nära kopplat till oxytocinfrisättningen. Det är även väl känt att hormonerna prolaktin och kortisol frisätts under mjölkning. Eftersom kortisol även frisätts i situationer då korna är stressade har kortisolnivåerna under mjölkning ibland använts som ett mått på kornas välfärd under mjölkning. En viktig funktion hos kortisol är att höja blodsockerhalten i kroppen och det är därför oerhört viktigt att veta om frisättningen av kortisol i samband med mjölkning är kopplat till en förändring i blodsockerhalten under mjölkning. Om användningen av glukos hastigt ökar i samband med mjölkning skulle det kunna leda till en tillfällig sänkning av blodsockerhalten, vilket i så fall skulle kunna inducera en kortisolfrisättning. Variation i blodsockerhalt under mjölkning har inte studerats tidigare, hos någon djurart.

Syftet med studien var att ta reda på om blodsockerhalten förändras då juvret töms, och om detta i så fall förklarar den kortisolfrisättning man har sett i samband med mjölkning (Wagner & Oxenreider, 1972; Gorewit *et al.*, 1992; Bruckmaier *et al.*, 1993; Tančin *et al.*, 1995; Tančin *et al.*, 2000; Wredle 2005). Det är viktigt att ta reda på vad kortisolfrisättningen beror på, för att kunna bedöma om kortisolfrisättning i samband med mjölkning går att använda som indikator på skillnader mellan olika mjölkningsrutiner med avseende på djurens välfärd, vilket indikerats i tidigare studier (Johansson *et al.*, 1999). Kunskap om vad som orsakar kortisolfrisättningen i samband med mjölkning är dessutom en viktig pusselbit i förståelsen för hur mjölkningen påverkar djurets fysiologi och välbefinnande.

## MATERIAL OCH METODER

Studien har omfattat material från två olika försök med SRB-kor på Kungsängens forskningscentrum. Det ena försöket (A) genomfördes inom ramen för detta projekt. Under projektets gång inleddes ett samarbete med Ewa Wredle som hade intressant material från ett försök som utförts tidigare (B), och även detta material har nyttjats i projektet. Under genomförandet av försöken stod korna i uppbundet stall och mjölkades två gånger per dag. Blod- och mjölkprover togs endast i samband med morgonmjölkning.

### Försök A

I försöket användes fem förstakalvare i laktationsvecka 6 med daglig mjölkavkastning på 23,7 till 29,5 kg. Korna mjölkades två gånger per dag, med Alfa-Laval DuoVac liner maskiner, med 45kPa respektive 33kPa som hög- respektive lågvakuumnivå. Prover togs vid tre på varandra följande morgonmjölkningar. Förstimulering av juvret pågick i 30 sekunder, därefter drogs några strålar mjölk ur från varje spene. Mjölkningssmaskinen sattes på exakt en minut efter det att förstimuleringen började. Mjölkflödet registrerades var 30:e sekund och mjölkningen avslutades då mjölkmaskinen gick ned på lågvakuum. Samma person mjölkade vid varje mjölkning i försöket.

Representativa mjölkprover togs ut med Tru-Tester teknik (GM Tru-Test, Dk-2840 Holte, Danmark) för bestämning av mjölkens fett-, protein- och laktoshalt samt celltal (MilkoScan FT 120 Foss Electric, Hilleröd, Danmark). Dessutom togs prover på residualmjölk efter mjölkning, för fetthaltsbestämning.

Korna försågs med permanentkateter i jugularvenen dagen innan första provtagningen. Blodprover togs från jugularvenen med Sarstedts monovette rör vid -15, -1, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30 och 60-62 minuter i förhållande till mjölkning, där tiden -1 var den tidpunkt då förstimuleringen av juvret började och 0 var den tidpunkt då mjölkningsmaskinen sattes på juvret. Vid varje provtagning togs 4,9 ml blod i rör preparerat med EDTA och Trasylol® (400 IU/ml; Bayer Leverkusen, Germany). Dessutom togs 5 ml prover ur svans- och mammarvenen med vacutainerteknik vid tiden -15 och 60 minuter.

### **Försök B**

I detta försök ingick 12 kor i laktation 1-4 och laktationsvecka 9-24 med en daglig mjölkproduktion på 26-43 kg vid försökets början. Försöket omfattade fyra olika behandlingar under mjölkning; ingen behandling, kraftfodergiva under mjölkning, borstning under mjölkning samt både kraftfodergiva och borstning under mjölkning. Varje behandling gavs under tre dagar, provtagning skedde enbart vid morgonmjölkning dag tre med respektive behandling.

Representativa mjölkprover togs ut med Tru-Tester teknik (GM Tru-Test, Dk-2840 Holte, Denmark) för bestämning av mjölkens fett-, protein- och laktoshalt samt celltal (MilkoScan FT 120 Foss Electric, Hilleröd, Danmark). Dessutom togs prover på residualmjölk efter mjölkning, för fetthaltsbestämning.

Korna utrustades med permanentkateter för blodprovstagning ur jugularvenen fyra dagar innan första provtagningen. Blodprov togs vid -15, -1, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 30 och 60 minuter i förhållande till mjölkning, där tiden -1 var den tidpunkt då förstimuleringen av juvret började och 0 var den tidpunkt då mjölkningsmaskinen sattes på juvret. Vid varje provtagning togs 10 ml blod i vacutainerrör preparerat med EDTA och Trasylol® (400 IU/ml; Bayer Leverkusen, Germany)

### **Gemensamt för försök A och B**

Alla blodprover ställdes på is direkt efter blodprovstagning och centrifugerades (10 min vid 1800 × g) inom en timme. Plasman förvarades i -20°C fram till analys. Bestämning av oxytocin gjordes enligt Schams (1983) i samarbete med Professor Rupert Bruckmaier i Schweiz. Proverna från försök B analyserades även för kortisol i Schweiz (Sauerwein et al., 1991) medan proverna från försök A analyserades för kortisol på institutionen för husdjurens utfodring och vård i Uppsala. Där utfördes även bestämning av glukoshalten i samtliga prover. Proverna från Försök B var analyserade för oxytocin och kortisol tidigare, därför gjordes enbart glukosbestämningar (GOD-PAP method, Human®) i denna studie. I proverna från försök A bestämdes även insulinhalten, det gjordes vid institutionen för husdjurens utfodring och vård med ELISA teknik (Mercodia AB®. Mercodia Ultrasensitive Bovine Insulin ELISA method). Ansökan omfattade även bestämning av hormonet vasopressin men detta ströks för att möjliggöra analys av proverna från försök B, då detta bedömdes som mer relevant för den huvudsakliga frågeställningen.

### **Statistisk bearbetning**

Medelvärde och standardavvikelse beräknades för mjölmängd, mjölkflöde, toppflöde och tiden då toppflöde inträffade. Variationen i blodsockerhalt och kortisol uttrycktes som skillnaden mellan max och min värde, i förhållande till minvärdet, inom respektive mjölkning. Korrelationsanalys utfördes sedan för dessa värden. Samtliga beräkningar utfördes i SAS (SAS 9.1, SAS inst. Inc. 1996. SAS/Stat Software). Ingen statistisk bearbetning har utförts avseende data på oxytocin eller insulin.

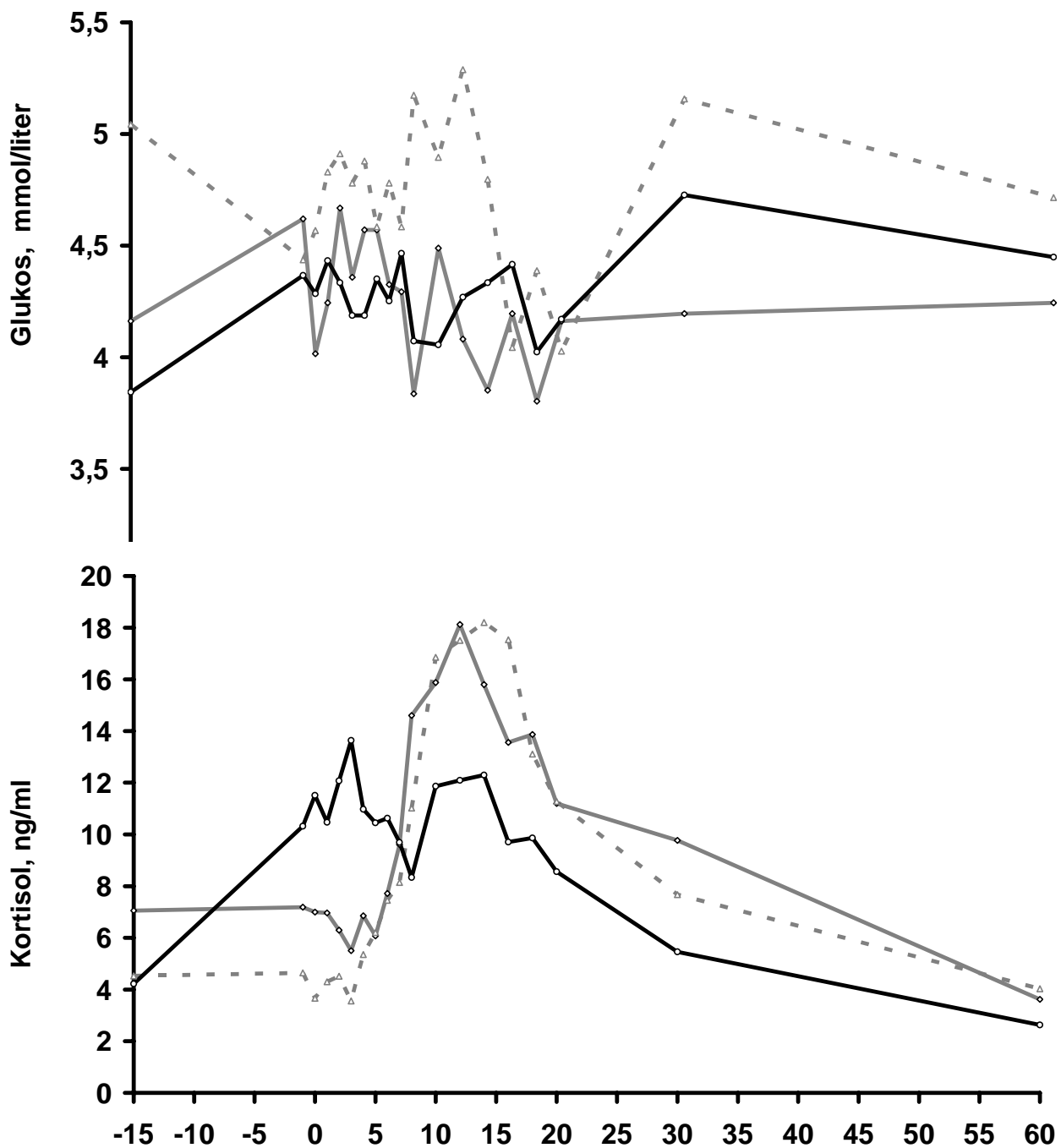
## RESULTAT

Materialet omfattar totalt 63 mjölkningar från 17 kor. Samtliga mjölkningar bedömdes som normala, med effektiv juvertömning. Mjölmängden vid morgonmjölkning var  $15,8 \pm 1,6$  liter i försök A och  $17,6 \pm 3,0$  i försök B. Flödet var  $2,21 \pm 0,5$  respektive  $1,7 \pm 0,4$  liter mjölk per minut i försök A respektive B. Oxytocin- och mjölkflödeskurvorna samt slutfetthalterna visar också på normala juvertömningar. Därför användes data från samtliga mjölkningar för analys av variation i glukoshalt samt sambandet mellan glukos- och kortisolhalt i plasma.

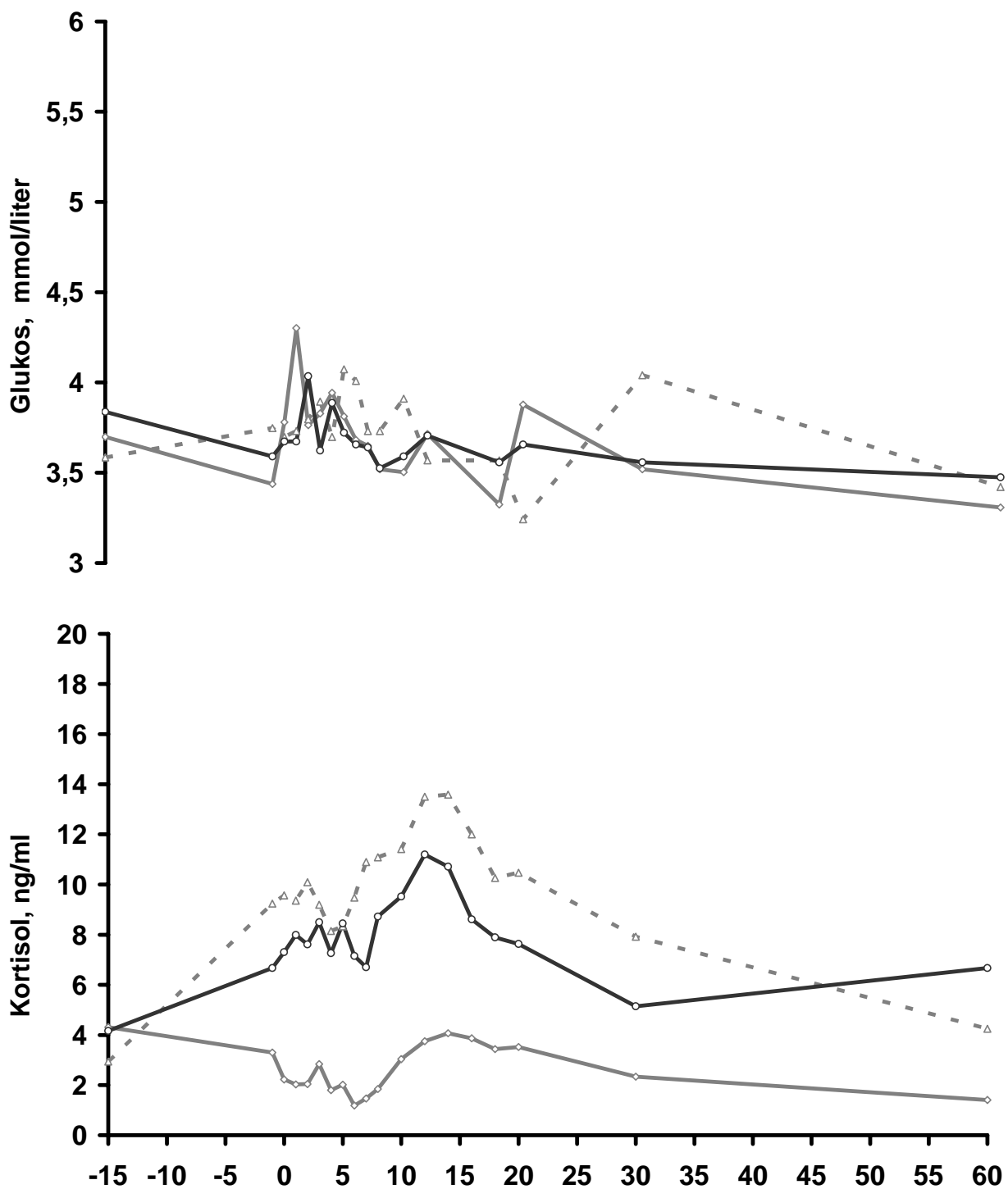
Glukoshalten i plasma varierade med  $40 \pm 17\%$  i försök A och  $58 \pm 43\%$  i försök B under tiden 15 minuter innan mjölkning till 60 minuter efter mjölkning. Några exempel på vad detta motsvarar vid enskilda mjölkningar är 3,3-4,3 nM, 4,0-5,3 nM, 3,2-6,0 nM och 3,2-4,8. Turbulensen i glukos inträffade vid olika tillfällen vid olika mjölkningar, allt från en kort turbulens i samband med att mjölkningen började till att glukoshalten varierade kraftigt under hela mjölkningen och tiden direkt efter mjölkning. Därför presenteras inga medelkurvor i denna rapport, de ger inte en representativ bild av variationen.

Variationen i kortisol under tiden 15 minuter innan till 60 minuter efter mjölkning motsvarade  $1110 \pm 840\%$  i försök A och  $9388 \pm 707\%$  i försök B. I de allra flesta fall uppmättes de högsta kortisolvärdena efter det att mjölkningen avslutats.

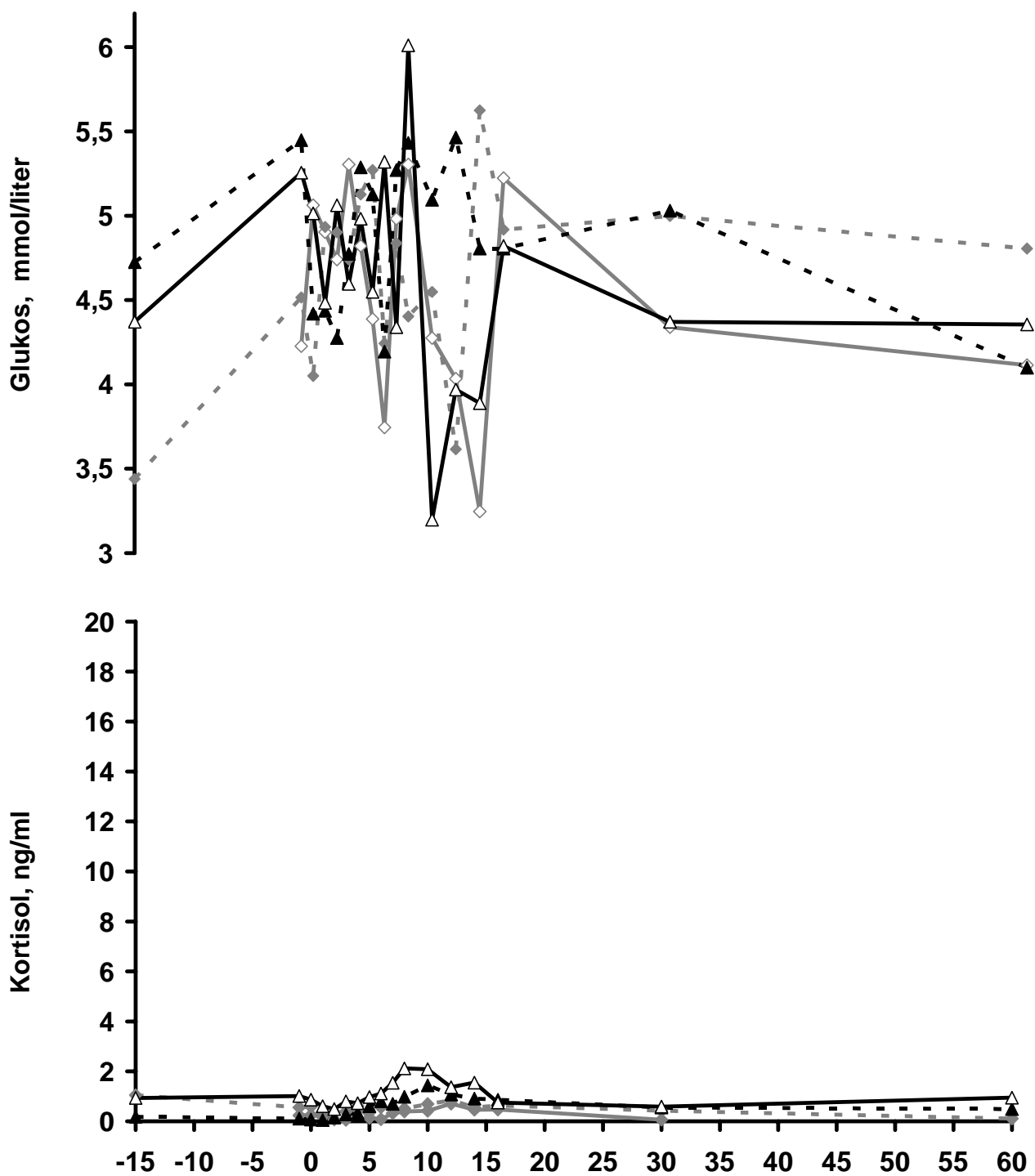
Korrelationsanalysen styrkte inte hypotesen om samband mellan variationen i glukos och frisättning av kortisol ( $r=0,26$  i försök A och  $0,58$  i försök B). Exempel på variation i glukos och kortisol hos enskilda kor visas i figur 1-4. Resultaten illustreras inte med medelvärdeskurvor eftersom medelvärden inte ger en sann bild av turbulensen, då turbulensen inträffade vid olika tidpunkt under olika mjölkningar. Både i figur 1 och 2 finns exempel på mjölkningar med liknande turbulens i glukos men olika kortisolf frisättning.



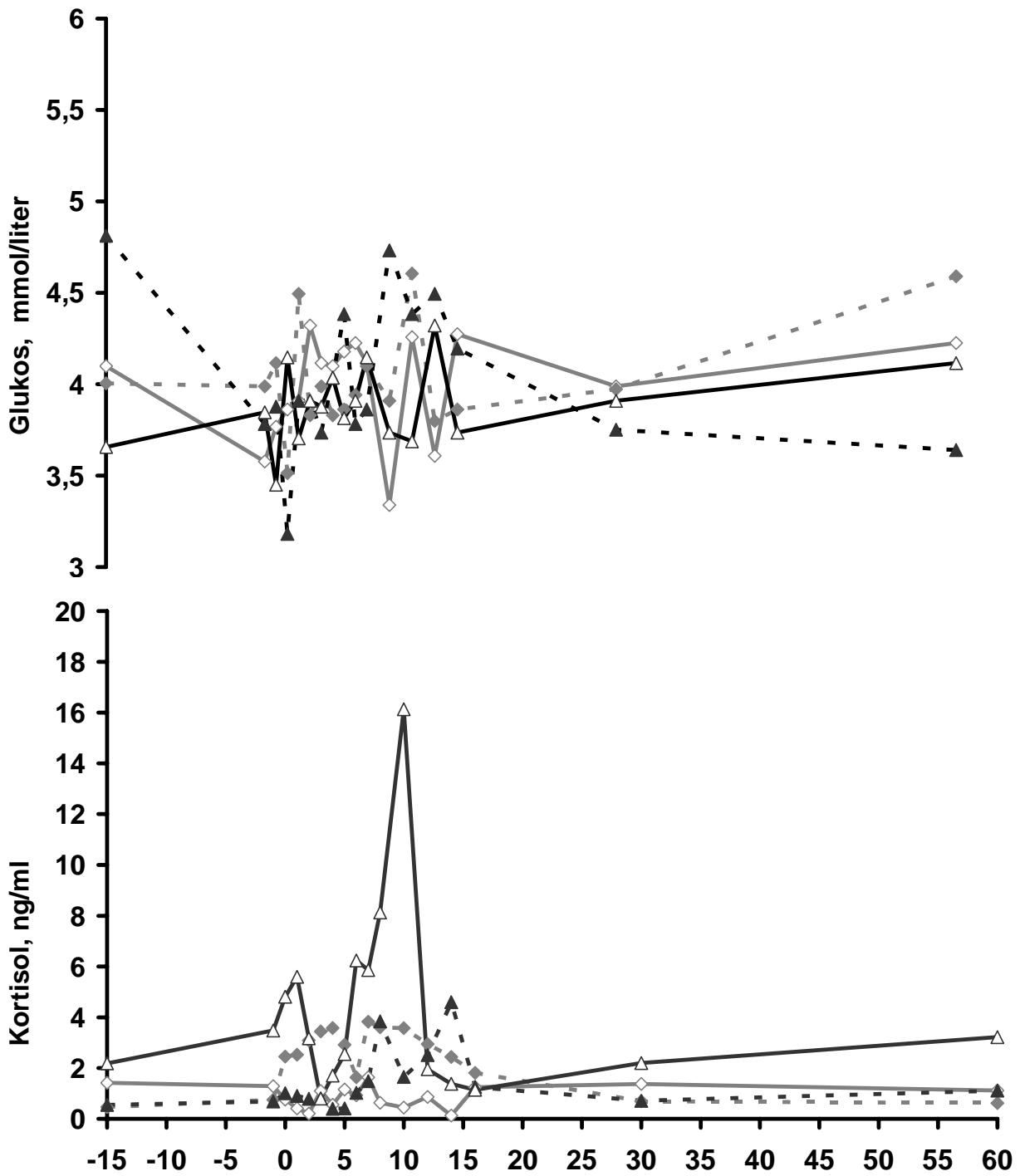
**Figur 1.** Variation i glukos (över) och kortisol (under) i plasma hos en ko (1293) vid tre morgonmjölkningar i följd; dag 1 med grå linje, dag 2 med streckad grå linje och dag 3 med svart linje. Förbehandling av juvret började vid tiden -1 och mjölkmaskinen sattes på juvret vid tiden 0.



**Figur 2.** Variation i glukos (över) och kortisol (under) i plasma hos en ko (1282) vid tre morgonmjölkningar i följd; dag 1 med grå linje, dag 2 med streckad grå linje och dag 3 med svart linje. Förbehandling av juvret började vid tiden -1 och mjölkmaskinen sattes på juvret vid tiden 0.



**Figur 3.** Variation i glukos (över) och kortisol (under) i plasma hos en ko (867) vid 4 olika morgonmjölkningarna. Förbehandling av juvret började vid tiden -1 och mjölkmaskinen sattes på juvret vid tiden 0.



**Figur 4.** Variation i glukos (över) och kortisol (under) i plasma hos en ko (829) vid 4 olika morgonmjölkningar. Förbehandling av juvret började vid tiden -1 och mjölkmaskinen sattes på juvret vid tiden 0.

## DISKUSSION

Mjölknigen påverkar både endokrinologi och metabolism. Det hormonella spelet under mjölkning är relativt väl beskrivet i litteratur men förändringar i metabolism under den korta tidsperiod då juvret töms inte har studerats tidigare.

### Variation i blodsockerhalt under mjölkning

Resultaten i denna studie visar att blodsockerhalten är förvånansvärt turbulent under och strax efter mjölkning, vilket inte har visats tidigare. Variation i blodsockerhalt hos lakterande kor har studerats i andra sammanhang, men studierna har omfattat en längre tidsperiod med glesare provtagningar, som mest ett prov per timme, och tiden kring mjölkning har oftast inte inkluderats. Det finns tyvärr inga litteraturuppgifter på blodsockerhalt där prover har tagits lika ofta som i denna studie, vilket gör det omöjligt att säga om variationen i blodsockerhalt är större i samband med mjölkning än vid andra tidpunkter under dygnet. En viktig fortsättning på denna studie är därför att studera variation i blodsockerhalt då ingenting särskilt händer kon samt under andra skötselåtgärder än mjölkning, t ex utfodring.

### Samspel mellan blodsockerhalt och kortisolfrisättning

Syftet med studien var att ta reda på om blodsockerhalten varierar i samband med mjölkning och om den variationen i så fall påverkar frisättningen av kortisol strax efter mjölkning. Kortisolfrisättning i samband med juvertömning är väl beskriven i litteratur (Wagner & Oxenreider, 1972; Gorewit *et al.*, 1992; Bruckmaier *et al.*, 1993; Tančin *et al.*, 1995; Tančin *et al.*, 2000; Wredle 2005) men har inte kopplats till metabola faktorer som t ex variation i blodsockerhalt. I den studie som presenteras här fann vi ingen matematisk korrelation mellan variationen i glukos och variationen i kortisol ( $r=0,26$  respektive  $0,58$ ). Granskning av glukos- och kortisolvärden hos enskilda kor (t ex figur 1-4) ger heller inget stöd för samband mellan variation i glukoshalt och kortisolfrisättning. Materialet i denna studie ger därför inget underlag för slutsatser om ett samband mellan variation i glukos och kortisol i plasma i samband med mjölkning. Materialet är dock svårtolkat och för att helt klarlägga eller utesluta samspelet mellan variationen i blodsockerhalt och kortisol vid tiden kring mjölkning behöver vi utveckla metoder för statistisk bearbetning som både kan ta hänsyn till att de högsta och lägsta värdena uppträder vid olika tidpunkt vid olika mjölkningar och att det förmodligen finns en tidsförskjutning mellan en låg blodsockerhalt och en eventuell stimulering av frisättning av kortisol. Vidare studier måste även omfatta hypofyshormonet ACTH, som utövar den övergripande regleringen av kortisolinsöndringen och CRF/CRH (Corticotropin Releasing Factor/Hormone), som styr frisättningen av ACTH. Regleringen av kortisolinsöndring är komplicerad. Forskning har framförallt beskrivit den centrala regleringen, via frisättning av ACTH från hypofysen, men de senaste tio åren har man funnit tecken på att det även finns ett lokalt reglersystem i binjuren som verkar oberoende av ACTH frisättning från hypofysen (bland annat Ehrhart-Bornstein *et al.*, 1998).

### Slutsats

Blodsockerhalten är turbulent under mjölkning men resultaten i denna studie tyder inte på att det finns någon koppling mellan denna turbulent och variation i kortisolfrisättning.

## PUBLIKATIONER

Resultaten är ännu inte publicerade vetenskapligt. Det beror dels på att andra uppgifter från försök B skall publiceras i en första artikel från det försöket innan vi kan gå vidare med publicering av denna studie. Ett annat skäl är att vi behöver utforska ytterligare möjligheter till statistisk bearbetning av variation i hormoner och metaboliter under mjölkning och vi måste även komplettera våra resultat med omfattande litteraturstudier. Detta arbete pågår nu och vi planerar att färdigställa ett manuskript till en vetenskaplig artikel under senhösten 2008.



## ÖVRIG RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN

Studien har lett till flera nya frågeställningar som vi hoppas kunna arbeta vidare med, för att öka kunskapen om hur mjölkningen påverkar det lakterande djuret. De uppgifter vi har fått fram hittills lämpar sig inte för förmedling till näringen, de kommer däremot att ingå i undervisningen i den fördjupningskurs i laktationsbiologi som ges vid institutionen för husdjurens utfodring och vård.

### Sökande

Huvudsökande: AgrD **Sigrid Agenäs**, forskare vid inst. för husdjurens utfodring och vård, SLU/Uppsala

Medsökande: professor **Kerstin Svennersten-Sjaunja**, inst. för husdjurens utfodring och vård, SLU/Uppsala

Medarbetare under projektets genomförande: Dr Ewa Wredle, professor Rupert Bruckmaier.

### Litteratur

- Bruckmaier, R.M., Schams, D., & Blum, J.W. 1993. Milk removal in familiar and unfamiliar surroundings: concentrations of oxytocin, prolactin, cortisol and beta-endorphin. *Journal of Dairy Research* 60(4), 449-456.
- Ehrhart-Bornstein, M., Hinson, J.P., Bornstein, S.R., Scherbaum, W.A., & Vinson, G.P. 1998. Intradrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocrine Reviews* 19(2), 101-143.
- Gorewit, R. C., K. Svennersten, W. R. Butler, and K. Uvnäs-Moberg. 1992. Endocrine responses in cows milked by hand and machine. *J Dairy Sci.* 75(2):443-448.
- Gorewit, R.C., Svennersten, K., Butler, W.R., & Uvnäs-Moberg, K. 1992. Endocrine responses in cows milked by hand and machine. *Journal of Dairy Science* 75(2), 443-448.
- Johansson, B., K. Uvnäs-Moberg, C. H. Knight, and K. Svennersten-Sjaunja. 1999. Effect of feeding before, during and after milking on milk production and the hormones oxytocin, prolactin, gastrin and somatostatin. *J Dairy Res.* 66(2):151-163.
- Tančin, V., Harcek, L., Brouček, J., Uhrinčat', M., & Mihina, S. 1995. Effect of suckling during early lactation and changeover to machine milking on plasma oxytocin and cortisol levels and milking characteristics in Holstein cows. *Journal of Dairy Research* 62(2), 249-256.
- Tančin, V., Schams, D., & Kraetzl, W-D. 2000. Cortisol and ACTH release in dairy cows in response to machine milking after pretreatment with morphine and naloxone. *Journal of Dairy Research* 67, 467-474.
- Wagner, W.C, & Oxenreider, S.L. 1972. Adrenal function in the cow. Diurnal changes and the effects of lactation and neurohypophyseal hormones. *Journal of Animal Science* 34(4), 630-635.
- Wredle, E. 2005. Automatic Milking and Grazing. Doctoral, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.