

5. Zusammenfassung

In Untersuchungen an insgesamt 48 Kühen wurden Bestimmungen der Gesamtbilirubinkonzentrationen sowie der Bilirubinsubfraktionen in Blut, Leber und Galle durchgeführt. Es erfolgten dabei im Blut Vergleichsuntersuchungen zwischen der photometrischen Bestimmung nach JENDRASSIK und GROF (1939) und der HPLC-Analytik nach MURACA und BLANCKAERT (1983).

28 der untersuchten Tiere litten an einer Dislocatio abomasi sinistra mit deutlich ausgeprägtem Lipomobilisationssyndrom ohne klinisch erkennbare Leberinsuffizienz. 10 weitere Tiere wurden aufgrund eines klinisch apparenten Leberschadens ausgewählt. Anhand dieser Patientengruppen wurden vergleichende Untersuchungen zur der Pathogenese und Differentialdiagnose der Hyperbilirubinämie im Zusammenhang mit dem Lipomobilisations- und Fettlebersyndrom einerseits und der Leberinsuffizienz andererseits durchgeführt.

Als Kontrollgruppe und zur Erstellung vorläufiger Referenzbereiche für die Bilirubin-HPLC-Analytik dienten 10 gesunde Kühe im gleichen Laktationsstadium.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Es konnten mittels HPLC-Analytik in Blutplasma, Lebergewebe und Gallenflüssigkeit unkonjugiertes Bilirubin, Bilirubinmonokonjugat und Bilirubindikonjugat detektiert werden.
2. Die Hauptbilirubinfraktion im Plasma stellte bei allen Probanden das unkonjugierte Bilirubin mit einem prozentualen Anteil von 90 - 100 % an den Gesamtbilirubinkonzentrationen.
3. In den Leberbiopaten war ebenfalls das unkonjugierte Bilirubin die größte Subfraktion mit 59 - 95 % der Gesamtbilirubinkonzentrationen.
4. In der Galle dominierte mit 50 - 67 % ebenfalls das monokonjugierte Bilirubin.

5. Die mittels HPLC-Analytik bestimmten Gesamtbilirubinkonzentrationen lagen ebenso wie die Konzentrationen des konjugierten und des unkonjugierten Bilirubins deutlich unter den mit der photometrischen Methode gemessenen Konzentrationen für Gesamtbilirubin, direktes und indirektes Bilirubin. Die Differenz nahm mit zunehmenden Konzentrationen ab. Sie betrug in der Kontrollgruppe für die Gesamtbilirubinkonzentration 80 % ($p < 0,001$), dagegen in der Gruppe der Tiere mit Leberinsuffizienz 38 % (n.s.).

6. Vorläufige Referenzbereiche für die Gesamtbilirubinkonzentrationen und die Konzentrationen des unkonjugierten und konjugierten Bilirubins im Plasma des Rindes gemessen nach der Methode von MURACA und BLANCKAERT (1983) [HPLC]:

Gesamtbilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	0,05 - 1,20
unkonj. Bilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	0,05 - 1,00
konj. Bilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	< 0,002 (Detektionsminimum)

7. Als leberinsuffizient eingestufte Patienten wiesen deutlich höhere Gesamtbilirubinkonzentrationen in Serum, Plasma, Leber und Galle auf als die Probanden mit Leberverfettung und Lipomobilisation. Gesamtbilirubinkonzentrationen $> 20 \mu\text{mol/l}$, bestimmt mit der Methode nach JENDRASSIK und GROF (1939), bzw. $15 \mu\text{mol/l}$, gemessen mittels HPLC Analytik, müssen als prognostisch ungünstig angesehen werden.

8. Im Plasma zeigte sich in der Gruppe der leberinsuffizienten Tiere im Vergleich zu den Tieren mit Leberverfettung eine Verschiebung der Bilirubinfraktionen: Der prozentuale Anteil des unkonjugierten Bilirubins (90 %) an den Gesamtbilirubinkonzentrationen war niedriger als in den Gruppen 0-3 (97,9-99,4 ; Kontrollgruppe 100 %). Diese Erhöhung des konjugierten Bilirubins beruhte sowohl auf einer erhöhten Konzentration des Bilirubinmono- als auch des Bilirubindikonjugates.

9. Auch im Lebergewebe wiesen die leberinsuffizienten Rinder wesentlich höhere Bilirubinkonzentrationen auf als die Tiere der Kontrollgruppe oder die mit Leberverfettung ($p < 0,001$). Dies lag vor allem an einer Akkumulation des monokonjugierten Bilirubins ($p < 0,01$).

10. Bei Hyperbilirubinämien leberinsuffizienter Kühe kommt es zusätzlich zu einer Akkumulation der konjugierten Subfraktionen in Leber und Plasma. Die Ursache hierfür liegt entweder in einer gestörten Exkretion der Gallenpigmente an der kanalikulären Leberzellmembran oder in einem Rückstau der bereits sezernierten Bilirubine. Die Bestimmung der konjugierten Subfraktionen ermöglicht eine Abgrenzung zur Leberverfettung.

11. Hyperbilirubinämien bei Lipomobilisations- und Fettlebersyndrom und leberinsuffizienter Tiere scheinen auch auf einen gesteigerten Abbau lebereigenen Häms und anderer Bilirubinquellen in der Leber zu beruhen. Eine zusätzliche Beeinflussung durch Serumparameter wie Albumin und freie Fettsäuren ist wahrscheinlich.

Qualmann, Kerstin (1995):

Bilirubinsubfractionation by high performance liquid chromatography - Comparative studies in blood, liver tissue and bile from dairy cows with lipomobilisation syndrome and dislocatio abomasi sinistra and cows with liver insufficiency.

6. Summary

In an investigation on 48 dairy cows determinations of total bilirubin concentrations and bilirubinsubfractions in blood, liver and bile were carried out. In blood comparative investigations between the photometric determination according to JENDRASSIK and GROF (1939) and hplc-analytic according to MURACA and BLANCKAERT (1983) were performed.

28 of the examined cows suffered from a dislocatio abomasi sinistra in addition to a pronounced lipomobilisation syndrome without clinical apparent signs of liver insufficiency. Ten further animals were selected on the basis of clinical liver injury. On the basis of these two groups of patients comparative investigations with regard to pathology and differential diagnosis of hyperbilirubinaemia connected with lipomobilisation and fatty liver syndrom or liver damage were carried out.

Ten healthy cows served as a control group and further to define temporary reference values for the bilirubin-hplc-analytic.

The following results were obtained:

1. Using the hplc analytic in plasma, liver tissue and bile unconjugated bilirubin, bilirubinmonoconjugate and bilirubindiconjugate were detected

2. The mean fraction in plasma of all subjects was unconjugated bilirubin with 90-100 % in the total bilirubin concentrations.
3. In liver tissue likewise unconjugated bilirubin was the greatest subfraction with a percentage of 59,2-94,5 of the total bilirubin concentrations.
4. In bile unconjugated bilirubin with a percentage of 50-67 % was predominating too.
5. With hplc determined total bilirubin concentrations likewise the concentrations of conjugated and unconjugated bilirubin were pronounced lower than the concentrations of total bilirubin, indirect and direct reacting bilirubin determined photometrically. The difference decreased with increasing concentrations. In the controll group the difference for the total bilirubin concentrations was 80 % ($p < 0,001$), whereas in the group of cows with liver injury it was 38 % (n.s.).
6. The temporary reference values for total bilirubin concentrations and concentrations of unconjugated and conjugated bilirubin in plasma of adult cattle determined according to MURACA and BLANCKAERT (1983) [HPLC] were:

total bilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	0,05 - 1,20
unconj. bilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	0,05 - 1,00
conj. bilirubin [$\mu\text{mol/l}$]	< 0,002 (minimum of detection)

7. Patients with liver injury exhibited pronounced higher total bilirubin concentrations in blood, liver and bile than subjects with fatty liver and lipomobilisation. Total bilirubin concentrations $> 20 \mu\text{mol/l}$ determined

according to JENDRASSIK and GROF (1939) or $> 15 \mu\text{mol/l}$ determined with hplc-analytic must lead to an unfortunate prognosis.

8. In plasma the group of liver insufficient cows in comparison to cows with fatty liver showed an alteration in bilirubin fractions. The percentage of unconjugated bilirubin (90) in total bilirubin concentrations was considerably lower as in group 1-3 (97,9-99,4) and in the control group (100). The raising of conjugated bilirubin was both related to increasing concentrations of mono- and diconjugates.

9. In liver tissue liver insufficient cows exhibited considerably higher bilirubin concentrations than members of the control group or cows with fatty liver ($p < 0,001$). This was the result of increased accumulation of monoconjugated bilirubin ($p < 0,001$).

10. Hyperbilirubinaemia in connection with liverinsufficiency is additionally accompanied with an increased accumulation of conjugated bilirubin in liver and plasma. Impaired excretion of bile pigments at the canalicular liver cell membrane or cholestasis of excreted bilirubin may be the reason for this. Determination of the conjugated bilirubin fraction may enable a differential diagnosis against subjects with fatty liver.

11. Hyperbilirubinaemia in connection with lipomobilisation and fatty liver as well as hyperbilirubinaemia in liver insufficiency may additionally be based on an increased breakdown of liver haem and other bilirubin sources in the liver. An additional influence of serumparameters like albumin or free fatty acids seems probable.