

Veterinarski fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

studentski rad

**METABOLIČKI PROFIL RASPLODNIH BIKOVA SIMENTALSKE PASMINE**

Jelena Šuran i Lidija Vecl, studentice III godine

Zagreb, travanj 2004.

Rad je izrađen u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Z. Stojevića.

# Metabolički profil rasplodnih bikova simentalke pasmine

Jelena Šuran i Lidija Vecl, studentice III godine

*Zavod za fiziologiju i radiobiologiju  
Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu  
Heinzelova 55, 10000 Zagreb*

## Sažetak

Istražena su kretanja biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu rasplodnih bikova simentalke pasmine. Istraživanje je obavljeno na 12 bikova u starosti od 4 - 7 godina. Uzorci krvi su uzimani u četiri navrata, punkcijom vanjske jugularne vene, a potom centrifugirani na 1250 G. U dobivenom serumu spektrofotometrijski određeni su enzimi: alanin-aminotransferaza; ALT (2.6.1.2.), aspartat-aminotransferaza; AST (2.6.1.1.),  $\gamma$ -glutamil-transferaza; GGT (2.3.2.2.), kreatin-kinaza; CK (2.7.3.2.) te ukupni proteini, albumini, kalcij i magnezij, trigliceridi i kolesterol. Svi navedeni biokemijski pokazatelji određeni su standardnim metodama gotovim kompletima. Kako u literaturi postoje podaci o istraživanim pokazateljima u krava, ali ne i u bikova simentalke pasmine, uspoređeni su vlastiti rezultati dobiveni na bikovima sa literaturom u krava. Uočena su manja odstupanja u odnosu na referentne vrijednosti u krava. Koncentracije ukupnih proteina, albumina, GGT-a i kreatin kinaze u serumu istraživanih bikova nešto su više nego u serumu krava, dok su koncentracije AST-a i magnezija niže. Koncentracije triglicerida, kolesterola i kalcija u serumu približno su jednake u krava i bikova. Iako su odstupanja neznatna upozoravaju na potrebu uspostavljanja referentnih vrijednosti biokemijskih pokazatelja u krvi bikova, neovisno od onih u krava. S tim u vezi rezultati ovih istraživanja poslužiti će u rutinskoj dijagnostici kao metabolički profil bikova simentalke pasmine.

**Ključne riječi:** metabolički profil, rasplodni bikovi, serum

## Uvod

Sve je veća uloga kliničke biokemije u veterinarskoj medicini, kako pri dijagnostici tako i pri liječenju raznih bolesti u domaćih životinja. U tu svrhu obavljene su brojne biokemijske pretrage krvi i ostalih tjelesnih tekućina domaćih životinja, kako bi se što preciznije mogle odrediti normalne (referentne) vrijednosti, te kako bi se s obzirom na njih mogla uočiti odstupanja te primijeniti odgovarajuća terapija. Tijekom niza godina te su pretrage ukazale na

značajnu varijabilnost u kemijskom sastavu krvnog seruma i to ne samo među vrstama domaćih životinja već i među pasminama te spolovima unutar dotične pasmine.

Plazma u prosijeku sadrži 5-7 % ukupnih proteina, što iznosi otprilike 50-70 g/l. Među proteinima najviše ima albumina koji su u serumu zastupljeni sa 35-50 % od ukupnih proteina (Kaneko, 1997).

Albumini su opći pokazatelj metaboličkog statusa životinje, a usko su povezani sa tjelesnom težinom i hranidbom životinje (Roil i sur., 1974), odnosno količinom unesenog dušika putem hrane koji će poslužiti za daljnju sintezu tkivnih proteina. U organizmu su odgovorni za regulaciju osmotskog tlaka i transport tvari. Hiperalbuminemija se javlja pretežito kod dehidracije, a hipoalbuminemija kod bolesti jetre, bubrega, gastrointestinalnih bolesti te gubitka krvi ili plazme (Kaneko, 1997). Hipoalbuminemija može biti i posljedica akutnog parazitizma (Sykes i Field, 1974). U preživača koncentracija albumina varira sezonski što je usko povezano sa hranidbom životinja. Da hranidba ima utjecaj na koncentraciju albumina dokazao je Hewett (1975) koji je utvrdio pozitivnu korelaciju između probavljivih proteina u hrani i koncentracije albumina u serumu životinja. Na koncentraciju albumina u serumu krava utječe i fiziološko stanje životinje. Naime, dokazano je da se koncentracija albumina u serumu smanji neposredno nakon teljenja (Payne i Payne 1987).

Neki su enzimi, posebice alanin-aminotransferaza; ALT (2.6.1.2.) i aspartat-aminotransferaza; AST (2.6.1.1.), dobri pokazatelji deficita proteina u serumu koji nastaje kao posljedica promjene u funkciji pojedinih tkiva (Payne i Laws, 1978). Povećana aktivnost AST-a drži se specifičnom za bolesti jetre te je u serumu povišena pri oštećenju mitohondrija i citoplazme hepatocita, zatim kod povećane propustljivosti stanične membrane te kod degenerativnih i nekrotičnih procesa u parenhimu jetre (Forenbacher, 1993). Pored AST-a kod oštećenja jetre povišena je aktivnost i ALT-a, ali se on ne drži specifičnim za jetru jer je široko rasprostranjen. Naime, povećana aktivnost ALT-a u serumu može upućivati i na oštećenje mišića (Forenbacher, 1993).  $\gamma$ -glutamil-transferaza; GGT (2.3.2.2.), zajedno sa arginazom, dobar je pokazatelj bolesti hepatobilijarnog trakta. Njegova je aktivnost u serumu povećana kod oštećenja epitela žučnih kanalića u periportalnim područjima, nekroze stanica žučnih kanalića, zastoja žuči, kolangiohepatitisa, ciroze, omašćenja jetre i dr. (Kramer i Hoffmann, 1997.). Dok su navedeni enzimi specifični za jetru, kreatin-kinaza; CK (2.7.3.2.) je enzim koji je vezan za mišićje te će njena aktivnost skupa sa aldolazom biti povišena kod promjena koje se odvijaju u skeletnom mišićju (Payne i Payne, 1987).

Kalcij je bitan mineral u održavanju homeostaze organizma, uključujući kontrakciju mišića, grušanje krvi, aktivnost pojedinih enzima, živčanu podražljivost, sekreciju hormona.

Kalcij, zajedno sa anorganskim fosforom, dijeli vrlo važnu funkciju u rastu tkiva organizma, posebno kostiju, a vrlo je bitan i u proizvodnji mlijeka (Stojević i sur., 2002). Referentna vrijednost koncentracije kalcija u krvi goveda iznosi 2,80 mmol/L (Rosol, 1997). Dnevne varijacije ovog minerala nisu toliko značajne, dok su sezonske varijacije moguće i najčešće su posljedica hranidbenih faktora (Payne i Payne, 1987). Gubici ovog minerala u fecesu su normalna pojava kod svih životinja. Osim fecesom minerali se izlučuju i urinom i to posebno kod životinja koje imaju jednostavni želudac (Payne i Payne, 1987). Koncentracija kalcija pod kontrolom je paratireoidnog hormona i kalcitonina, stoga je pad koncentracije ovog minerala u krvi znak teških poremećaja u organizmu.

Fiziološka uloga magnezija očituje se unutar i izvan stanice. Unutar stanice ovaj mineral utječe na metabolizam bjelancevina, ugljikohidrata i masti, prijenos metilnih skupina, oksidativnu fosforilaciju kao sastavni dio svih enzima vezanih uz ATP, funkcionalnost i stabilnost membrana, diobu stanice, imunski odgovor, te na održavanje normalne koncentracije staničnog kalija. Izvan stanice magnezij djeluje kao antagonist kalcija. Hipomagnezijemija dovodi do teških posljedica jer ne postoji direktno homeostatska kontrola, pa se nedostatak magnezija brzo očituje u krvi (Stojević i sur., 2003). Stres životinja tijekom testiranja također može izazvati momentalni pad koncentracije magnezija u serumu, osobito u životinja koje su već bile blizu stanja hipomagnezijemije (Payne i Payne, 1987). Određivanje ovog minerala od velike je važnosti pri prelasku stoke na prehranu zelenim krmivima bogatim kalijem koji koči resorpciju magnezija u probavnom sustavu. Srebočan (1964) navodi koncentraciju magnezija u serumu goveda od 1,5 mmol/L, a Romo i sur. (1991) u svojim pokusima na govedima zamjećuju porast koncentracije magnezija tijekom teljenja koji je najvjerojatnije posljedica aktivne resorpcije kostiju. Frerking (1979) navodi kao srednju vrijednost koncentraciju od 0,91 mmol/L (0,62-1,23 mmol/L), te zaključuje da se koncentracija magnezija u krava kreće u fiziološkim granicama (0,91-1,07 mmol/L).

Trigliceridi su esteri nižih masnih kiselina i glicerola. Predstavljaju osnovni oblik spremišne ili rezervne masti u organizmu. Njihova je topljivost manja od topljivosti masnih kiselina, pa zato trigliceridi moraju biti vezani na proteine u transportnom kompleksu lipoproteina. Do hiperlipemije dolazi kod šećerne bolesti, opstruktivne žutice, nefroze i hipofunkcije štitnjače, a do hipolipemije dolazi u slučaju hipertireoze, smanjene resorpcije i nedostatne ishrane, terminalnih stadija jetrenih bolesti, te hipolipoproteinemije (Bruss, 1997).

Kolesterol je prekursor steroidnih hormona, vitamina D i žučnih kiselina, te ulazi u sastav staničnih membrana. Nalazi se samo u životinjskom organizmu, u esterificiranom (60-80% kolesterola u krvi) ili čistom obliku, a uvijek je vezan na lipoproteine.

Kako vidimo sastav krvnog seruma u krava dovoljno je istražen, te su dobivene određene referentne vrijednosti (Tablica 1.), međutim malo je dostupnih podataka o biokemijskom sastavu krvnog seruma bikova. U ovom radu htjeli smo istražiti vrijednosti osnovnih biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu bikova simentalske pasmine. Postojanje tih referentnih vrijednosti doprinijelo bi preciznijem uvidu u opće zdravstveno stanje drugih bikova, te pravilnoj profilaksi, dijagnostici i liječenju bolesti u ovih životinja.

**Tablica 1.** Biokemijski sastav seruma klinički zdravih krava (referentne vrijednosti) prema različitim autorima

Autor	biokemijski pokazatelj	koncentracija / aktivnost
Payne i Payne, (1987)	<i>albumini</i>	35 g/l
	<i>kalcij</i>	2,37 mmol/l
	<i>magnezij</i>	1,03 mmol/l
Kaneko i sur. (1997)	<i>kalcij</i>	2,43 – 3,10 (2,78 ± 0,15) mmol/l
	<i>magnezij</i>	0,74 – 0,95 (0,84 ± 0,1) mmol/l
	<i>albumini</i>	30,3 – 35,5 (32,9 ± 1,3) g/l
	<i>AST</i>	78 – 132 (105 ± 27) U/L
	<i>ALT</i>	11 – 40 (27±14) U/L
	<i>GGT</i>	6,1 – 17,4 (15,7 ± 4,0) U/L
	<i>Kreatin-kinaza</i>	4,8 – 12,1 (7,4 ± 2,4) U/L
	<i>ukupni proteini</i>	67,4 – 74,6 (71,0 ± 1,8) g/l
	<i>trigliceridi</i>	0 – 0,2 mmol/l
	<i>kolesterol</i>	<i>esterificirani</i>
<i>stabilni</i>		0,57 – 1,35 (0,96 ± 0,39) mmol/l
<i>ukupni</i>		2,07 – 3,11 mmol/l
Srebočan (1964)	<i>magnezij</i>	1,5 mmol/l
Frerking (1979)	<i>magnezij</i>	0,91 mmol/l

## Materijali i metode

Istraživanje je obavljeno na 12 rasplodnih bikova simentalske pasmine podrijetlom iz Centra za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o. Križevci. Dob životinja kretala se između 4 i 7 godina. Svi su bikovi tijekom cijele godine bili držani u stajama s ispastom.

Uzorci krvi uzimani su u kasnu jesen i tijekom zime i to u 4 navrata. Krv je vađena sterilnom iglom, punkcijom vanjske jugularne vene (vena jugularis externa) u Vacutainer

SST epruvete s gelom, bez dodatka antikoagulansa. Izvađena krv je centrifugirana na 1250 G. U dobivenom serumu spektrofotometrijski na aparatu »Helios Delta Vis Spectrometer« određeni su enzimi: ALT, AST, GGT, kreatin-kinaza te ukupni proteini, albumini, kalcij i magnezij, trigliceridi i kolesterol. Svi navedeni biokemijski pokazatelji rađeni su standardnim metodama gotovim kompletima tvrtke »Herbos Dijagnostika d.o.o.«, Sisak, Hrvatska.

Za određivanje aktivnosti AST, ALT, GGT i kreatin kinaze u serumu korištena je »Metoda kontinuiranog mjerenja«. Trigliceridi i kolesterol rađeni su »Kolorencijskom (PAP) metodom«, ukupni proteini »Biuret metodom«, magnezij i albumini »Kolorimetrijskom metodom« te kalcij »Kompleksometrijskom metodom«.

Dobiveni rezultati statistički su obrađeni računanjem srednje vrijednosti, standardne devijacije, pogreške srednje vrijednosti i koeficijenta varijabilnosti. U tu svrhu korišten je računalni programa Microsoft Excell 2002. (Microsoft Corporation 1985-2001).

## Rezultati

Rezultati istraživanja prikazani su u Tablici 2.

**Tablica 2.** Vrijednosti biokemijskih parametara u serumu rasplodnih bikova

	Albumini	Proteini	Trigliceridi	Kolesterol	AST	ALT	GGT	Kreatin Kinaza	Kalcij	Magnezij
	g/L	g/L	mmol/L	mmol/L	U/L	U/L	U/L	U/L	mmol/L	mmol/L
<b>n</b>	47	47	39	46	47	45	47	40	44	45
<b>M</b>	40,81	85,16	0,20	2,39	51,55	27,26	24,22	54,38	2,40	0,81
<b>SD</b>	3,85	6,31	0,06	0,54	10,44	6,37	3,83	16,86	0,40	0,14
<b>2SD</b>	7,7	12,62	0,12	1,08	20,88	12,74	7,66	33,71	0,80	0,28
<b>mM</b>	0,56	0,92	0,01	0,08	1,52	0,95	0,56	2,67	0,06	0,02
<b>KV</b>	9,44	7,40	30,65	22,41	20,26	23,38	15,83	31,00	16,84	17,16

Kako je vidljivo iz tablice većina dobivenih vrijednosti za rasplodne bikove podudara se sa navedenim podacima iz literature iako su to podaci za krave. Naime, uočena su manja odstupanja dobivenih rezultata biokemijske pretrage bikova u odnosu na referentne vrijednosti u krava. Koncentracije ukupnih proteina ( $85,16 \pm 6,31$  g/L), albumina ( $40,81 \pm 3,85$  g/L), GGT-a ( $24,22 \pm 3,83$  U/L) i kreatin kinaze ( $54,38 \pm 16,86$  U/L) u serumu istraživanih bikova više su nego u serumu krava, dok je koncentracija AST-a ( $51,55 \pm 10,44$

U/L) niža. Koncentracije triglicerida, kolesterola, magnezija i kalcija približno su jednake u krava i bikova.

## **Rasprava**

Kao što je navedeno u uvodnom dijelu, podataka o metaboličkom profilu bikova nema. Na samom početku istraživanja kao polazišna točka uzete su referentne vrijednosti metaboličkih pokazatelja u krava iz literature.

Uočena manja odstupanja u rezultatima pojedinih biokemijskih pokazatelja mogu se objasniti namjenom životinja u stočarskoj proizvodnji, te u skladu s tim i njihovom hranidbom. Količina albumina, a onda i proteina, usko je povezana sa tjelesnom težinom i hranidbom životinje (Roil i sur., 1974), odnosno količinom unesenog dušika putem hrane koji će poslužiti za daljnju sintezu tkivnih proteina. Opće je poznato kako tjelesni proteini imaju svoj poluživot odnosno, da su anabolički i katabolički procesi metabolizma bjelančevina uvijek u stanju dinamičke ravnoteže. Iz tog razloga može se pretpostaviti kako će tjelesna težina imati značajnu ulogu u prometu bjelančevina u organizmu. Nadalje, djelovanje testosterona kao izrazitog anabolika u metabolizmu bjelančevina može imati utjecaj na povišenu koncentraciju u krvi. Velika mišićna masa također će imati utjecaj na aktivnost kreatin-kinaze u krvi pa se povišene vrijednosti u serumu bikova u odnosu na krave mogu objasniti tim načinom. Međutim, usporedba istraživanih pokazatelja temelji se rezultatima vlastitih istraživanja na bikovima sa podacima iz literature za krave. Pravu sliku navedenog problema moguće je dobiti usporedbom vlastitih rezultata na oba spola.

U ovom istraživanju ustanovljene su razlike u kretanju pojedinih biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu bikova u odnosu na krave. To upućuje na potrebu ustanovljavanja referentnih vrijednosti u bikova. Broj podataka s obzirom na broj životinja kao i uzimanje uzoraka kroz duže vrijeme mogu se uzeti kao pouzdan pokazatelj u praćenju metaboličkog profila u rasplodnih bikova simentalke pasmine.



## Literatura

- BRUSS, M. L. (1997.): Lipids and Ketones. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss, Academic press, 5th edition London, New York, Tokyo. 83-111.
- FRERKING, H. (1979.): Mineral contents in fetal and maternal bovine blood-serum during the second half of pregnancy. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 86, 265-267.
- FORENBACHER, S. (1993.): Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja. Svezak II Jetra. Školska knjiga, Zagreb. 424-447.
- HEWETT, C. D. (1975.): Importance of variations in the blood profile in cows in dairy herds. Svensk. Veterinartidning 27, 663-70.
- KANEKO, J. J. (1997.): Serum proteins and the dysproteinemias. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss, Academic press, 5th edition London, New York, Tokyo. 117-137.
- KRAMER, J. W., W. E. Hoffmann (1997.): Clinical Enzymology. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss, Academic press, 5th edition London, New York, Tokyo. 303-323.
- PAYNE, E., L. Laws (1978.): Tissue enzyme levels as indices of protein status in sheep. Brit. J. Nutr. 39, 441-9.
- PAYNE, J. M., Sylvia Payne (1987.): The Metabolic profile Test. Oxford University Press, New York.
- ROIL, M. R., G. W. Suckling, J. Mattingley (1974.): Serum total protein and albumin levels in grazing sheep. N. Z. Vet. J. 22, 232-6.
- ROMO, G. A., R. O. Kellems, K. Powell, M. V. Wallentine (1991.): Some blood minerals and hormones in cows fed variable mineral levels and ionic balance. J. Dairy Sci. 74, 3068-3077.
- ROSOL, T. J., C. C. Capen (1997.): Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by J. J. Kaneko, J. W. Harvey, M. L. Bruss, Academic press, 5th edition London, New York, Tokyo. 619-687.
- SREBOČAN, V. (1964): O prometu kalcija, fosfora i magnezija te o aktivnosti alkalne fosfataze u serumu goveda gornje Posavine. Vet. arhiv 34, 273-278.
- STOJEVIĆ, Z., Suzana Milinković-Tur, Nina Poljičak-Milas (2003.): Hipomagnezijemija u domaćih životinja- uzroci i posljedice. Praxis veterinaria 51(3), 197-201.

STOJEVIĆ, Z., Suzana Milinković-Tur, Maja Zdelar-Tuk, Jasna Piršljin, G. Galić, I. Bačić (2002.): minerali i metaboliti u krvi kao pokazatelji metaboličkih poremećaja u mliječnih krava. *Praxis veterinaria* 50(3), 261-264.

SYKES, A. R., A. C. Field (1974): Seasonal changes in plasma concentrations of proteins, urea, glucose, calcium and phosphorus in sheep grazing a hill pasture and their relationship to changes in body composition. *J. Agric. Sci. Camb.* 83, 161-9.

## **The metabolic profile of service bulls of Simmental breed**

### **Summary**

The progress of the biochemical indicators in the blood serum of service bulls of Simmental breed was studied. The research was done on twelve bulls at the age of four to seven. The samples of blood were taken on four occasions by performing a needle biopsy of the vena jugularis externa and then they were centrifuged at 1250 G. In the obtained serum the following enzymes were spectrophotometrically specified: alanin-aminotransferasa; ALT (2.6.1.2.), aspartat-aminotransferasa, AST (2.6.1.1.),  $\gamma$ -glutamyl-transferasa; GGT (2.3.2.2.), creatine-kinase, CK (2.7.3.2.) and also the overall proteins, albumins, calcium and magnesium, triglycerids and cholesterol. All of the above-mentioned biochemical indicators are determined by the standard methods of completed sets. Since there are data on the studied indicators concerning cows, but not the bulls of Simmental breed, our results obtained with bulls were compared with those found in the literature on cows. The smaller deviations in relation to the referential rates in cows were noted. The levels of overall proteins, albumins, GGT and CK in the serum of the examined bulls are higher than in the serum of cows, while the levels of AST and magnesium are lower. The levels of triglycerids, cholesterol and calcium in the serum are almost equivalent both in cows and bulls. Although the deviations are very small, they indicate the necessity of establishing the referential rates of biochemical parameters in the blood of the bulls regardless of those in cows. In relation to that, the results that we obtained through this research will be very useful in a routine diagnostics as the metabolic profile of the bulls of Simmental breed.

**Key words:** the metabolic profile, service bulls, serum

### **Zahvala**

Zahvaljujemo Blanki Beer-Ljubić, dipl. ing. biokem. i Jasni Sačer, kem. teh. na pomoći tijekom obavljanja praktičnog dijela rada u laboratoriju