

UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
AGRONOMSKI FAKULTET U ČAČKU



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF AGRONOMY ČAČAK

XXI SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNİK RADOVA -



Vol. 21. (24), 2016.

Čačak, 11.- 12. Mart 2016. godine

XXI SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učesćem

- Zbornik radova -

ORGANIZATOR I IZDAVAČ

**Univerzitet u Kragujevcu,
Agronomski fakultet u Čačku**

Organizacioni odbor

dr Milomirka Madić, dr Gorica Paunović, dr Pavle Mašković, dr Vladimir Dosković, dr Duško Brković, mr Ranko Koprivica, dipl. inž. Dalibor Tomić, dipl. inž. Dušan Marković, dipl. inž. Jelena Pantović

Programski odbor

prof. dr Leka Mandić, prof. dr Vladeta Stevović, prof. dr Dragutin Đukić, dr Snežana Pašalić, prof. dr Snežana Bogosavljević-Bošković, prof. dr Tomo Milošević, prof. dr Milica Cvijović, prof. dr Radojica Đoković, prof. dr Milomirka Madić, prof. dr Goran Dugalić, prof. dr Aleksandar Paunović, prof. dr Radoš Pavlović, prof. dr Milena Đurić, prof. dr Gordana Šekularac, prof. dr Biljana Veljković, dr Nikola Bokan, dr Drago Milošević, dr Lenka Ribić-Zelenović, dr Vladimir Kurćubić, dr Ljiljana Bošković-Rakočević, dr Gorica Paunović, dr Milun Petrović, dr Milan Lukić, dr Slavica Vesković, dr Vera Đekić

Tehnički urednici

dipl. inž. Dušan Marković, dipl. inž. Dalibor Tomić

Tiraž: 180 primeraka

Štampa

Grafička radnja štamparija Bajić, V. Ignjatovića 12, Trbušani, Čačak

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

63(082)

60(082)

САВЕТОВАЊЕ о биотехнологији са међународним учешћем (21 ; 2016 ;
Чачак)

Zbornik radova. 2 / XXI savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim
učešćem, Čačak, 11.-12. mart 2016. godine ; [organizator] Univerzitet u
Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku = [organized by] University of
Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak. - Čačak : Univerzitet, Agronomski
fakultet, 2016 (Čačak : Bajić). - Str. 479-825 : ilustr. ; 24 cm

Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 180. - Napomene i bibliografske
reference uz radove. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-87611-41-2

ISBN 978-86-87611-42-9 (niz)

1. Агрономски факултет (Чачак)

а) Пољопривреда - Зборници б) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 221904396

PROCENA FUNKCIONALNOG STANJA ĆELIJA JETRE KOD MLEČNIH KRAVA NA OSNOVU PROMENA SERUMSKE AKTIVNOSTI AST,ALT,GGT I LDH

*Boban Jašović¹, Radojica Đoković², Vladimir Kurćubić², Milun Petrović²,
Vladimir Dasković², Miloš Petrović², Simeon Rakonjac²*

Izvod: U ovom radu u krvnom serumu je procenjivana aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-amino-transferaze (ALT), gama-glutamat-transferaze (GGT) i laktat dehidrogenaze (LDH) kod 45 Simentalskih krava, podeljenih u tri grupe u zavisnosti od produkcionog perioda. Prvu grupu (n = 15) su činile visoko gravidne krave, drugu grupu (n = 15) krave u ranoj laktaciji, a treću grupu (n = 15) krave u sredini laktacije. Statistički značajno veće aktivnosti (P<0.05) AST su utvrđene kod krava u ranoj laktaciji u odnosu na zasušene krave. ALT aktivnosti su pokazale niže vrednosti (P>0.05) kod krava na početku laktacije u odnosu na grupe krava u zasušenju i u sredini laktacije. Veće aktivnosti GGT (P>0.05) i LDH (P<0.05) u krvnom serumu su utvrđene kod krava u ranoj laktaciji u odnosu na aktivnosti ovih enzima u serumu kod zasušenih krava i krava u sredini laktacije. Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost blagog stepena oštećenja ćelija jetre, odnosno masnu infiltraciju hepatocita kod krava na početku laktacije. Serumske aktivnosti AST su bile u značajnoj korelaciji (P<0.05) sa aktivnostima ALT, GGT i LDH u krvnom serumu pa AST može biti najosteljiviji indikator u utvrđivanju funkcionalnog stanja jetre kod mlečnih krava tokom tranzicionog perioda i sredine laktacije.

Ključne reči: mlečne krave, serumske enzimske aktivnosti, tranzicioni period, sredina laktacije

Uvod

Prioriteti intenzivne proizvodnje mleka je prevencija nastanka metaboličkih i drugih oboljenja. Metaboličke bolesti krava su usko povezane sa neizbalansiranom ishranom i lošim menandžmentom. Najznačajnije bolesti mlečnih krava su: masna jetra, ketoza, šepavost, mastitis, puerperalna pareza, zaostajanje posteljice i endometritisi. Određivanje metaboličkih profila kod mlečnih krava predstavlja rutinsku dijagnostičku metodu u otkrivanju metaboličkih oboljenja. To podrazumeva uzimanje uzoraka krvi od najmanje 8 do 12 krava, 4 puta godišnje i to: u periodu zasušenja, tokom rane laktacije, tokom vrhunca laktacije i sredinom laktacije (Gross i sar. 2001, Oetzel, 2004, Stengarde i sar. 2008). Jedan deo tih testiranja predstavlja određivanje u krvnom serumu aktivnosti enzima kao što su: aspartat-amino-transferaza (AST), alanin-amino-transferaza (ALT), γ -glutamil-transferaza (GGT) i laktat-dehidrogenaza (LDH). Aktivnosti ovih enzima u krvi su jako značajne prilikom ocene stepena oštećenja ćelija jetre. Masna infiltracija i degeneracija ćelija jetre kod mlečnih krava na početku

¹ Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak;

² Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak.

laktacije, obično dovodi do oštećenja ćelijske membrane i destrukciju hepatocita, što dovodi do oslobađanja enzima (AST, ALT, GGT, LDH) i značajnog povećavanja njihove aktivnosti u cirkulaciji (Pechovai sar. 1997, Lubojackai sar. 2005, Stojević i sar. 2005). Povećana aktivnost AST u krvnom serumu predstavlja vrlo senzibilan indikator u proceni oštećenja ćelija jetre, naročito kod masne infiltracije i degeneracije hepatocita (masna jetra) (Kauppinen, 1984, Pechova i sar. 1997, Meyer i Harvey, 1998, Lubojacka i sar. 2005). GGT je mikrozomalni i za membranu-vezan enzim najviše kod ćelija jetre, bubrega i tankih creva. Povećanje aktivnosti ovog enzima u krvi, može ukazati na oštećenje ćelijske strukture hepatocita (Kupczynski i sar. 2002, Lubojacka i sar. 2005). Tainurier i sar. (1984) smatraju da aktivnosti AST i GGT enzima, pokazuju neregularne male promene za vreme graviditeta i rane laktacije, dok aktivnosti ALT opadaju značajno u sedmom i osmom mesecu graviditeta i na početku laktacije. LDH nije za organ specifičan enzim, pošto se nalazi u velikim koncentracijama u mišićima, srcu, bubrezima, jetri i oslobađa se prilikom akutnih zapaljenja ovih organa. Takođe, aktivnosti LDH u krvi su u uskoj korelaciji sa stepenom masne infiltracije ćelija jetre (Pechova i sar. 1997).

Cilj ovih istraživanja je bio da se proceni funkcionalno stanje ćelija jetre, na osnovu promena aktivnosti AST, ALT, GGT i LDH u krvnom serumu kod Simentalskih krava tokom tranzicionog perioda i sredine laktacije.

Materijal i metod rada

Eksperiment je izveden na farmi Simentalskih krava sa učestalom pojavom metaboličkih i reproduktivnih poremećaja (Farma Ćurčić, Mrsać, Kraljevo). Krave su imale prosečnu laktaciju od oko 6.500 l. Tri grupe klinički zdravih krava su izabrane za ispitivanja i to: grupa krava u zasušenju ($n = 15$), odnosno u periodu od 13 ± 9 dana pre teljenja, druga grupa od krava ($n = 15$), u ranoj laktaciji, 16 ± 9 dana posle teljenja i treća grupa krava ($n = 15$) u sredini laktacije, 115 ± 29 dana laktacije. Krave su bile vezene u zatvorenoj štali. Ishrana krava je bila prilagođena energetske potrebama u kasnom graviditetu i laktaciji. Uzorci krvi su uzimani oko 10:00 časova ujutru ili 4 do 6 sati posle muže i hranjenja, punkcijom vene jugularis. Posle spontane koagulacije u trajanju od 3 sata na 4°C i centrifugiranja ($1500g$, 10 minuta, 4°C), serum je zamrznut na -20°C do analize. Serumske aktivnosti AST, ALT, GGT i LDH su određivane različitim kolorimetričkim metodama upotrebom spektrofotometra (Cobas Mira plus) i komercijalnih kitova. Statistička analiza je urađena ANOVA-procedurom (Statgraphic Centurion, Statpoint Technologies Inc. Warrenton, Va, Virginia, USA).

Rezultati istraživanja i diskusija

Visoka proizvodnja mleka, često predstavlja veliki rizik za nastajanje metaboličkih poremećaja. U cilju dijagnoze masne jetre, vrlo je važno da se odrede vrednosti za jetru važnih enzima krvi (Stojević i sar. 2005). Prosečne aktivnosti AST, ALT, GGT i LDH u krvnom serumu su prikazani u Tabeli br.1.

Korelacioni koeficijenti za ispitivane aktivnosti enzima u krvi mlečnih krava u tranzicionom period i tokom sredine laktacije su prikazani u tabeli br.2.

Tabela 1. Srednje vrednosti ($x \pm SD$) aktivnosti AST, ALT, GGT I LDH u krvnom serumu mlečnih krava tokom tranzicionog perioda i sredine laktacije.

Table 1. Mean values ($x \pm SD$) of AST, ALT, GGT and LDH activities in dairy cows during transition period and mid lactation.

	Kasni graviditet <i>Late pregnancy</i>	Rana laktacija <i>Early lactation</i>	Sredina laktacije <i>Mid lactation</i>
AST (IJ/l)	26.45±8.97 ^a	33.55±9.35 ^b	32.61±8.90 ^b
ALT (IJ/l)	72.47±24.16 ^a	66.87±12.96 ^a	96.38±80.46 ^a
GGT (IJ/l)	20.61±4.16 ^a	25.51±4.91 ^a	23.03±9.94 ^a
LDH (IJ/l)	715.69±160.72 ^a	1058.15±205.45 ^b	670.59±134.95 ^a

Legenda: Srednje vrednosti ispitivanih parametara u jednoj koloni obeleženih različitim slovima označavaju statistički značajne razlike ($P < 0.05$).

Legend: Mean values within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

Tabela 2. Korelacioni koeficijenti aktivnosti enzima u krvnom serumu obračunatih za sve krave. Statistički značajne korelacije ($P < 0.05$) su obeležene sa zvezdicom (*)

Table 2. Correlation coefficients for the serum enzyme activities calculated for all cows in the present study. Significant correlations ($P < 0.05$) are marked with an asterisk (*).

	ALT	GGT	LDH
AST	0.33*	0.32*	0.43*
ALT		0.07	0.28
GGT			0.18

AST se smatra kao najosetljiviji indikator u dijagnozi masne jetre kod krava (Pechova i sar. 1997, Kupczynski i sar. 2002, Lubojacka i sar. 2005). AST se nalazi u citoplazmi i mitohondrijama različitih tkiva i organa, ali je najveća aktivnost utvrđena u skeletnoj muskulaturi, srcu i jetri kod krava (Lubojacka i sar. 2005). U skladu sa tim, promene aktivnosti ovog enzima u krvi može biti posledica oštećenja ćelijskih struktura ovih organa (primarno jetre). U ovom radu serumske aktivnosti AST su bile značajno veće ($P < 0.05$) kod krava u ranoj laktaciji u odnosu na aktivnosti kod gravidnih krava i krava tokom sredine laktacije, što može ukazati na razvoj masne infiltracije ćelija jetre, oštećenja hepatocita i oslobađanja ovog intraćelijskog enzima u cirkulaciju. Tainturier i sar. (1984) smatraju da ALT aktivnost opada u sedmom i osmom mesecu graviditeta, i da ostaju stabilnii do kraja graviditeta i u prvom mesecu laktacije. U ovom radu, kod zasušenih krava aktivnosti ALT u krvnom serumu su bile niže, ali bez statističke značajnosti ($P > 0.05$) u odnosu na grupe krava u laktaciji. Na slične rezultate je ukazao Kauppinen (1984), koji je utvrdio da uloga ALT u dijagnozi masne jetre kod mlečnih krava ima manji značaj. GGT je mikrozomalan i za membranu vezan enzim (Lubojacka i sar. 2005). Povećana aktivnost ovog enzima rezultat je narušavanja ćelijske strukture hepatocita (Kupczynski i sar. 2002, Lubojacka i sar. 2005). GGT aktivnost takođe zavisi i od posmatranog perioda. U ovom radu, veće aktivnosti u krvnom serum su utvrđene kod krava u ranoj laktaciji u odnosu na visok graviditet i sredinu laktacije, ali bez statističke značajnosti ($P > 0.05$). Do sličnih rezultata su došli El-Ghoul i sar. (2000). LDH nije organ specifičan enzim, pošto ima visoku koncentraciju u mišićima, srcu,

bubrežima i jetri (Pechova i sar. 1997, Lubojacka i sar. 2005). Njegova aktivnost se povećava kod akutnih oštećenja ovih organa (Lubojacka i sar. 2005). U ovom radu, LDH aktivnost je bila značajno veća ($P < 0.05$) kod krava u ranoj laktaciji, u odnosu na gravidne krave i krave u sredini laktacije. Dobijeni rezultati sugeriraju da krave na početku laktacije imaju narušeno morfološko i fiziološko stanje jetre, kao posledicu verovatno blagog stepena masne infiltracije ćelija jetre. U ovom radu, aktivnosti AST, ALT, GGT i LDH u krvi bile su u fiziološkim granicama (AST: 78-132 IJ/l, ALT: 7-35 IJ/l, GGT: 10-25 IJ/l i LDH: 692-1445 IJ/l), (Stojić, 1996), ali su bile veće nakon teljenja, osim aktivnosti za ALT, što može ukazati na razvoj blagog stepena masne infiltracije ćelija jetre kod krava na početku laktacije. Pechova i sar. (1997), su ukazali da serumske aktivnosti enzima jetre, naročito AST, su u uskoj korelaciji sa stepenom masne infiltracije i degeneracije ćelija jetre. U skladu sa tim, u ovom radu jedino serumske aktivnosti AST su bile u značajnoj korelaciji ($P < 0.05$) sa aktivnostima ALT, GGT i LDH. Na osnovu dobijenih rezultata može se smatrati da je AST najsenzibilniji indikator u proceni funkcionalnog stanja jetre kod mlečnih krava.

Zaključak

Biohemijska ispitivanja krvnog seruma pokazuju veće aktivnosti u krvnom serumu za AST ($P < 0.05$), GGT ($P > 0.05$), LDH ($P < 0.05$) kod krava u ranoj laktaciji, kao i manje aktivnosti ALT ($P > 0.05$) u odnosu na grupe krava u zasušenju i sredinom laktacije. Serumska aktivnost AST je u značajnoj korelaciji sa ALT, GGT i LDH i može se smatrati kao najsenzibilniji indikator u oceni morfološkog i funkcionalnog stanja jetre kod mlečnih krava. Rezultati ispitivanja ukazuju da krave u ranoj laktaciji imaju smanjenu funkcionalnu sposobnost hepatocita, koja je verovatno povezana sa blagim stepenom masne infiltracije ćelija jetre.

Literatura

- El-Ghoul W., Hofmann W., Khamis Y., Hassanein A.:(2000): Beziehungen zwischen Klauenerkrankungen und peripartalen Zeitraum bei Milchrindern. *Prakt Tierarzt* Vol.82,pp.862-868.
- Gross J., Van Dorland H.A., Bruckmaier R.M., Schwarz F.J.(2001): Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactation and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *Journal of Dairy Science*,94, pp.1820-1830.
- Kauppinen K. (1984): ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows. *Veterinary Medicine*, Vol.31, pp. 567-576.
- Kupczynski R., Chudoba-Drozdowski B.(2002): Values of selected biochemical parameters of cows blood during their drying-off and the beginning of lactation. *Electronic Journal of Polish Agriculture University*, Vol. 55, pp.225-231.
- Lubojacka V., Pechova A., Dvorak, R., Drastiich P., Kummer V., Poul J.(2005): Liver steatosis following supplementation with fat in dairy cows diets. *Acta Veterinaria Brno*, 74, pp. 217-224.

- Oezel G.R.(2004): Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases. *Veterinary Clinicof North America, FoodAnimal Practicinarer*, Vol.20, pp. 651-674.
- Pechova A., Llek J., Halouzka R.(1997): Diagnosis and control of the development of hepatic lipidosis in dairy cows in the peri-parturient period. *Acta Veterinari Brno*, Vol.66,pp. 235-243.
- Meyer D.J., Harvey J.W.(1998): Evaluation of hepatobiliary system and skeletal muscle and lipid disorders. In: *Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis.* (Meyer, D. J., Harvey J.W., Eds.) 2nd ed., W.B. Saunders company Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. pp. 157-187.
- Stojević Z., Pirsljin J., Milinković-Tur S., Zdelar-Tuk M., Ljubić B.B. (2005): Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Veterinarski Arhiv*, Vol. 75,pp.67–75.
- Stojić V.(1996): *Veterinarska fiziologija.* IP “Naučna knjiga”, Fakultet veterinarske medicine Beograd, str.23-67.
- Stengrade L., Traven M., Emanuelson U., Holtenius K., Hultgren J., Niskanen R. (2008): Metabolic profile in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and kethosis, *Acta Vet. Scandinavica* Vol.50, pp.31-39.
- Tainturier D., Braun J.P., Rico A.G., Thouvenot J.P.(1984): Variation in blood composition in dairy cows during pregnancy and after calving. *Research Veterinary Science*, Vol. 37,pp.129-131.

EVALUATION OF FUNCTIONAL STATE IN DAIRY COWS ON THE BASIS CHANGES SERUM ACTIVITIES OF AST, ALT, GGT AND LDH

*Boban Jašović, Radojica Đoković, Vladimir Kurćubić, Milun Petrović,
Vladimir Dusković, Miloš Petrović, Simeon Rakonjac*

Abstract

This study examined the activities of aspartate-amino-transferase (AST), alanine-amino-transferase (ALT), gamma-glutamyl-transferase (GGT) and lactate-dehydrogenase (LDH) in the blood serum of 45 dairy Simmental cows divided into three groups according to production period. The first group (n = 15) consisted of late pregnant dairy cows, the second group (n = 15) cows in the early lactation, and the third group (n = 15) cow in mid lactation. The significant higher activity ($P < 0.05$) of AST was determined in the early lactation period than in dry period. ALT activity showed a lower ($P > 0.05$) serum activities in early lactation cows than in the late pregnant and mid lactation cows. The higher serum activities of GGT ($P > 0.05$) and LDH ($P < 0.05$) were determined in early lactation cows than in the late pregnant and mid lactation cows. Research results showed possibility of mild degree of hepatic lesions, probably due to fat infiltration in early lactation cows. Serum AST enzyme activities were significant correlated ($P < 0.05$) with ALT, GGT and LDH activities and may be most sensitive indicator in determining the functional liver state in dairy cows during transition period and mid lactation.

Keys words: dairy cows, serum enzymes activities, transition period, mid lactation