Aktivnost paraoksonaze 1 i koncentracija lipida u serumu i sjemenoj plazmi bikova simentalske pasmine

Klepo, Edita

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:144841

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

S V E U Č I L I Š T E U Z A G R E B U
VETERINARSKI FAKULTET

Edita Klepo

AKTIVNOST PARAOKSONAZE 1 I KONCENTRACIJA LIPIDA U SERUMU I SJEMENOJ PLAZMI BIKOVA SIMENTALSKE PASMINE

Diplomski rad

ZAGREB, 2017.

Z A V O D Z A F I Z I O L O G I J U I R A D I O B I O L O G I J U

VETERINARSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

Predstojnica Zavoda za fiziologiju i radiobiologiju:

prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur

Mentorica:

prof. dr. sc. Jasna Aladrović

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Martina Lojkić
2. Dr. sc. Blanka Beer Ljubić
3. Izv. prof. dr. sc. Jasna Aladrović
4. Prof. dr. sc. Zvonko Stojević (zamjena)

ZAHVALA

Zahvaljujući podršci mnogih ljudi koji me okružuju, privela sam studij kraju.
Samo nekima od njih zahvalit ću se poimence jer bi popis bio predugačak.
Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Jasni Aladrović i dr. sc. Blanki Beer Ljubić na pruženoj prilici za sudjelovanje u izradi rada te zdušnoj pomoći u realizaciji istraživanja i pisanja rada.
Hvala Luciji Iličić na prijateljstvu tijekom svih godina studiranja te suradnji tijekom izrade rada.
Također zahvaljujem svom dugogodišnjem dečku Igoru, bratu Reneu i sestri Aniti, te kumi Nini na bezuvjetnoj podršci.

Sadržaj rada

UVOD 1
CILJEVI RADA 2
MATERIJAL I METODE 3
Pokusne životinje 3
Priprema uzoraka krvi i sjemena 3
Makroskopska i mikroskopska analiza sjemena 4
Aktivnost paraoksonaze 1 4
Koncentracija masnih tvari u serumu i sjemenoj plazmi 5
Statistička obrada rezultata 5
REZULTATI 6
RAZMATRANJE 8
ZAKLJUČCI 11
LITERATURA 12
SAŽETAK 14
SUMMARY 15

UVOD

Paraoksonaza 1 (PON1; E.C. 3.1.8.1.) u serumu je esteraza ovisna o kalciju koja se sintetizira u jetri, a u serum se izlučuje kao sastavni dio lipoproteina velike gustoće (engl. high density lipoprotein, HDL). PON1 hidrolizira organofosfate te time ima vrlo važnu ulogu u detoksikaciji (MACKNESS i sur., 1998.). Međutim, istraživanja su pokazala da PON1 sudjeluje i u zaštiti serumskih lipoproteina od oksidativnih oštećenja jer hidrolizira oksidirane fosfolipide te tako spriječava njihovo nakupljanje u lipoproteinima male gustoće (engl. low density lipoprotein, LDL) (AVIRAM i sur., 1999.), a ubrzava njihovo uklanjanje s lipoproteina velike gustoće (engl. high density lipoprotein, HDL) (AVIRAM i sur., 1998.).

Na aktivnost PON1 utječu brojni čimbenici kao što su spol (ALI i sur., 2003.), dob, hranidba, okoliš te lijekovi i patofiziološki uvjeti (COSTA i sur., 2005.). Smanjena aktivnost PON1 u serumu zabilježena je kod pacijenata s hiperkolesterolemijom i dijabetesom, sklonih aterosklerozi (MACKNESS i sur., 1998.; ROSENBLAT i sur., 2006.) te pacijenata s bolestima bubrega (GOSWAMI i sur., 2009.). Osim što osigurava prijenos PON1 u serumu, HDL doprinosi i aktivnosti i stabilnosti PON1, a time posljedično i funkciji. Pri tome su važni apoAI i apoAII i fosfolipidna frakcija HDL (JAMES I DEAKIN, 2010.). S tim u vezi smanjenoj aktivnosti vjerojatno doprinose promjene sastava HDL i lipidnog okruženja enzima (SORAN i sur., 2009.) s posljedično usporenim uklanjanjem lipidskih peroksida (ROSENBLAT i sur., 2006.).

Koncentracije serumskih lipida važan su pokazatelj energetskog statusa životinja (PAYNE i PAYNE, 1987.; BEER LJUBIĆ i sur., 2009.) dok koncentracija lipida u sjemenoj plazmi može ukazati na promjenu kvalitete sjemena (ARGOV i sur., 2007.; BEER LJUBIĆ i sur., 2009.). Aktivnost PON1 u sjemenoj plazmi ljudi vrlo je niska te se do sada dobiveni rezultati različito tumače. VERIT i sur. (2009.) su utvrdili povezanost niske aktivnosti PON1 u sjemenoj plazmi ljudi sa smanjenom sposobnošću oplodnje dok MARSILLACH i sur. (2011.) smatraju da su vrlo niske vrijednosti koncentracije i aktivnosti PON1 u sjemenoj plazmi ljudi posljedica staničnog metabolizma te nemaju značajnu biološku funkciju.

CILJEVI RADA

Podaci o aktivnosti PON1 kako u fiziološkim tako i u patološkim uvjetima kod životinja su malobrojni. Rezultati aktivnosti PON1 u sjemenoj plazmi ljudi su kontradiktorni, a utjecaj PON1 na kvalitetu sjemena i oplodnu sposobnost muških rasplodnjaka nije razjašnjen.

Utvrđeno je da lipidni sastav seruma i sjemene plazme bikova podliježe dobnim i sezonskim promjenama, a kako aktivnost PON1 ovisi o sastavu lipida cilj je rada bio utvrditi:

i. utjecaj dobi na aktivnost PON1 i koncentraciju lipida u serumu i sjemenoj plazmi rasplodnih bikova simentalske pasmine
ii. utjecaj temperaturnih razlika na aktivnost PON1 i koncentraciju lipida u serumu i sjemenoj plazmi bikova različite dobi
iii. povezanost koncentracije HDL i aktivnosti PON1 u serumu i sjemenoj plazmi bikova tijekom ljetnih i zimskih mjeseci
iv. međuovisnost lipidnih komponenti seruma i sjemene plazme s aktivnošću PON1
v. utjecaj dobi i sezone na volumen sjemena, koncentraciju i progresivnu pokretljivost spermija

MATERIJAL I METODE

Pokusne životinje

Istraživanje je provedeno na 16 bikova simentalske pasmine koji su u vlasništvu Centra za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske u Križevcima. Životinje su odabrane s obzirom na dob te su u istraživanje uključene dvije skupine: bikovi s genomskim testom (starost 2,1±0,3 godine; n=8) i bikovi s progenim testom (6,9±0,5 godina; n=8). Svi bikovi su podvrgnuti genetskom probiru u dobi od 3 mjeseca te su na osnovi rezultata uključeni u proizvodnju sjemena. Kvaliteta bikova se potvrđuje progenim testom koji uključuje podatke o proizvodnosti potomaka. Životinje su držane u štalama na vezu pomoću kožnog ovratnika, odvojene metalnim pregradama. Hranjene su dva puta na dan (Tablica 1.), a voda im je bila dostupna putem automatskih pojilica.

Tablica 1. Količina i kemijski sastav obroka za bikove

	Količina	Kemijski sastav				
		suha tvar (%)	sirove bjelančevine (%)	sirova vlaknina (%)	sirova mast (%)	pepeo (%)
krmna smjesa*	8 kg	86,5	18,0	15,0	-	10,0
sjenaža	6 kg	68,5	10,2	32,4	1,8	6,15
livadno sjeno	10 kg	85,6	5,8	28,5	2,1	6,02
slama	po volji	84,4	2,3	39,8	1,1	5,3
misol**	po volji					
voda	po volji					

* žitarice, sporedni proizvodi u proizvodnji ulja, krmiva životinjskog podrijetla, sporedni proizvodi industrije škroba, mineralno-vitaminski dodaci (Ca 0,80%, P 0,35%, Na 0,20%, vitamin A 7500 U/kg, vitamin D3 1000 U/kg, vitamin E 10 mg/kg)
** 1% Mg, 39% Na, 3000 mg/kg Zn, 1200 mg/kg Mn, 24 mg/kg Co, 20 mg/kg Se, 20-30 mg/kg J

Priprema uzoraka krvi i sjemena

Uzorci krvi i sjemena bikova uzimani su dva puta tijekom ljeta i zime. Temperatura zraka, atmorsferski tlak i vlažnost zraka mjereni su u 7:00, 14:00 i 19:00 sati, a vrijednosti su prikazane u Tablici 2.

Tablica 2. Temperatura zraka, atmosferski tlak i vlažnost zraka mjereni u 7:00, 14:00 i 19:00 sati tijekom ljeta i zime (x ± sx) prema podacima Državnog hidrometeorološkog zavoda.

POKAZATELJ		7:00 sati	14:00 sati	19:00 sati
temperatura zraka (°C)				
	ljeto	17,5±2,6	26,4±4,2	19,4±3,1
	zima	-0,4±4,5	5,2±5,7	1,6±4,5
atmosferski tlak (hPa)				
	ljeto	999,0±4,1	998,0±4,2	998,2±4,1
	zima	1002,3±7,0	1001,8±6,7	1002,6±6,8
vlažnost zraka (%)				
	ljeto	81,5±10,4	47,8±12,0	75,8±10,3
	zima	88,5±9,4	69,0±16,3	82,5±11,6

Izvor: Državni hidrometeorološki zavod

Uzorci krvi bikova dobiveni su punkcijom jugularne vene u epruvete bez antikoagulansa (BD Vacutainer SST, Plymouth, Velika Britanija) i centrifugirani na 1500 x g 15 min na sobnoj temperature. Uzorci sjemena dobiveni su pomoću sterilne umjetne vagine. Nakon makroskopske i mikroskopske analize, sjemena plazma je odvojena nakon centrifugiranja na 1000 x g 15 min na sobnoj temperaturi. Uzorci seruma i sjemene plazme pohranjeni su do analize na -80 °C.

Makroskopska i mikroskopska analiza sjemena

Neposredno nakon uzorkovanja načinjena je makroskopska analiza sjemena koju čine procjena boje, mirisa, konzistencije i volumena. Ukupni volumen svježeg ejakulata određen je direktnim očitanjem s graduirane epruvete.

Mikroskopska analiza uključuje procjenu progresivne pokretljivosti, morfoloških osobitosti spermija te određivanje koncentracije spermija. Progresivna pokretljivost je utvrđena pomoću mikroskopa Olympus BX 50 sa zagrijanim postoljem. Morfološke abnormalnosti se procjenjuju s obzirom na oštećenja repa i glave i svi ejakulati s oštećenjima većim od 18% su odbačeni. Koncentracija spermija odnosno gustoća ejakulata određena je fotometrom SDM5 mini tube (Landshut, Njemačka).

Aktivnost paraoksonaze 1

Aktivnost paraoksonaze 1 (PON1) u serumu i sjemenoj plazmi bikova određena je metodom hidrolize paraoksona (CHARLTON-MENYS i sur., 2006.) na biokemijskom analizatoru Olympus AU 400 (Olympus, Japan) i prikazana kao U/L (1 μmol p-nitrophenol

stvoren/min/L). Omjer aktivnosti PON1 i koncentracije kolesterola vezanog na HDL (HDL-C) je izračunat i prikazan u U/mmol.

Koncentracija masnih tvari u serumu i sjemenoj plazmi

Koncentracije ukupnog kolesterola i triacilglicerola u serumu i sjemenoj plazmi bikova određene su reagensima Herbos dijagnostike (Sisak, Hrvatska) na biokemijskom analizatoru Olympus AU 400 (Olympus, Japan). Koncentracije HDL-C i slobodnih masnih kiselina u serumu bikova određene su reagensima Randox (Dublin, Ireland) na Olympus AU 400 (Olympus, Japan).

Statistička obrada rezultata

Dobiveni rezultati obrađeni su statistički korištenjem računalnog programa Statistika 9. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna pogreška srednje vrijednosti (x± sx). Provjera normalnosti distribucije izvršena je pomoću Kolmogorov-Smirnov, te Shapiro-Wilksovog W testa. Značajnost razlika je provjerena Studentovim t-testom ukoliko se radilo o normalnoj razdiobi te Mann-Whitney U testom ako je razdioba bila različita od Gaussove. Međusobna povezanost pokazatelja utvrđena je Pearsonovim odnosno Spearmanovim testom korelacija. Razlike se smatraju statistički značajnima ako je $p<0,05$.

REZULTATI

Rezultati makroskopske i mikroskopske analize sjemena bikova s genomskim i progenim testom dobiveni tijekom ljeta i zime prikazani su u Tablici 3. Vrijednosti volumena sjemena te koncentracije i progresivne pokretljivosti spermija nisu pokazale statistički značajne razlike niti u sezoni niti ovisno o dobi.

Tablica 3. Volumen sjemena, koncentracija i progresivna pokretljivost spermija bikova s genomskim testom (n=8) i bikova s progenim testom (n=8) u ljeto i zimu (x ± sx)

	bikovi s genomskim testom		**bikovi s progenim testom**	
	ljeto	zima	ljeto	zima
volumen (mL)	5,87±0,99	6,16±0,57	5,71±1,17	6,78±0,75
koncentracija (10^9/mL)	1,25±0,16	1,19±0,07	1,01±0,15	1,19±0,08
progresivna pokretljivost (%)	83±2	83±2	72±4	82±2

Aktivnost PON1 i vrijednost omjera PON1/HDL-C bila je statistički značajno veća u serumu bikova s genomskim testom i u ljetnim i u zimskim uzorcima u odnosu na vrijednosti dobivene u serumu bikova s progenim testom ($p<0,05$) (Tablica 4.) dok među navedenim pokazateljima nije utvrđena sezonska razlika. Koncentracije slobodnih masnih kiselina u ljetnim uzorcima seruma obje skupine bikova bile su statistički značajno veće u odnosu na vrijednosti dobivene u zimskim uzorcima ($p<0,05$). Serumske koncentracije ukupnog kolesterola, triacilglicerola i HDL-C nisu se značajno razlikovale tijekom istraživanja ($p>0,05$).

Tablica 4. Aktivnost PON1, omjer PON1/HDL-C i koncentracije lipida u serumu bikova s genomskim testom (n=8) i bikova s progenim testom (n=8) u ljeto i zimu (x ± sx)

	bikovi s genomskim testom		**bikovi s progenim testom**	
	ljeto	zima	ljeto	zima
PON1 (U/L)	54,49±16,15	57,43±15,81	21,91±4,80^{A}	18,06±5,58^{A}
PON1/HDL-C (U/mmol)	154,87±35,57	171,96±45,70	69,16±13,02^{A}	60,11±17,01^{A}
kolesterol (mmol/L)	2,19±0,14	2,41±0,13	2,01±0,11	2,24±0,10
HDL-kolesterol (mmol/L)	0,59±0,12	0,74±0,11	0,55±0,10	0,64±0,10
triacilgliceroli (mmol/L)	0,23±0,04	0,24±0,01	0,19±0,02	0,22±0,06
NEFA (mmol/L)	0,30±0,08	0,12±0,01^{a}	0,38±0,06	0,14±0,01^{a}

a - statistički značajne razlike između ljetnih i zimskih uzoraka ($p<0,05$)
A - statistički značajne razlike između bikova s genomskim testom i bikova s progenim testom ($p<0,05$)

Tablica 5. Aktivnost PON1 i koncentracije kolesterola i triacilglicerola u sjemenoj plazmi bikova s genomskim testom (n=8) i bikova s progenim testom (n=8) u ljeto i zimu (x ± sx)

	bikovi s genomskim testom		**bikovi s progenim testom**	
	ljeto	zima	ljeto	zima
PON1 (U/L)	1,14±0,10	0,94±0,12	0,97±0,16	0,82±0,25
kolesterol (mmol/L)	0,28±0,05^{A}	0,70±0,08^{a}	0,56±0,08	0,90±0,14^{a}
triacilgliceroli (mmol/L)	2,16±0,56^{A}	8,72±3,22^{a}	6,23±1,89	10,14±4,41^{a}

a - statistički značajne razlike između ljetnih i zimskih uzoraka ($p<0,05$)
A - statistički značajne razlike između bikova s genomskim testom i bikova s progenim testom ($p<0,05$)

Aktivnost paraoksonaze 1 u sjemenoj plazmi bikova nije se značajno mijenjala tijekom istraživanja ($p>0,05$). Koncentracije ukupnog kolesterola i triacilglicerola u sjemenoj plazmi obje skupine bikova bile su značajno veće u zimskim uzorcima u odnosu na vrijednosti dobivene u ljeto (Tablica 5.). U sjemenoj plazmi bikova s genomskim testom utvrđene su statistički značajno manje koncentracije kolesterola i triacilglicerola tijekom ljeta u odnosu na vrijednosti dobivene u ljetnim uzorcima sjemene plazme bikova s progenim testom ($p<0,05$).

RAZMATRANJE

U ovom istraživanju određena je aktivnost PON1 u serumu i sjemenoj plazmi bikova simentalske pasmine. U serumu je utvrđena ovisnost aktivnosti PON1 i omjera PON1/HDL-C o dobi bikova dok se koncentracija NEFA u serumu te koncentracije ukupnog kolesterola i triacilglicerola u sjemenoj plazmi mijenjaju sezonski.

Paraoksonaza 1 u serumu bikova vezana je na HDL pri čemu je više od 60% enzima vezano na tešku HDL frakciju (MIYAMOTO i sur., 2005.). Razlog tome je što je lipidni sastav HDL optimalan za održavanje aktivnosti PON1 u serumu (SORAN i sur., 2009.). Dominantna frakcija lipoproteina u serumu goveda je HDL koji čini 90% lipoproteina (MIYAMOTO i sur., 2005.) pa je i najveća količina kolesterola vezana za HDL (CHAPMAN i FORGEZ, 1985.). Slijedom navedenog, izračunavanjem omjera PON1/HDL-C dobiva se uvid u specifičnu aktivnost paraoksonaze. U ovom istraživanju vrijednosti omjera PON1/HDL-C bile su značajno veće u serumu bikova s genomskim testom u odnosu na bikove s progenim testom tijekom oba godišnja doba. Osim toga, utvrdili smo pozitivnu korelaciju PON1 i omjera PON1/HDL-C u ljetnim i zimskim uzorcima bikova s genomskim testom ($r=0,973$; $p<0,05$; $r=0,996$; $p<0,05$) kao i bikova s progenim testom ($r=0,966$; $p<0,05$, $r=0,976$; $p<0,05$). Ovi rezultati potvrđuju ovisnost aktivnosti PON1 i sastava HDL u fiziološkim uvjetima. Ovakva jaka međuovisnost kod pacijenata s dijabetesom nije utvrđena (MACKNESS i sur., 1998.) jer vjerojatno dolazi do poremećaja u sastavu HDL (SORAN et al. 2009).

Koncentracija lipida u serumu važan je pokazatelj hranidbeno-metaboličkog statusa životinja. Poznato je da povećana koncentracija NEFA kao i smanjene koncentracije triacilglicerola ukazuju na negativnu energetsku balancu proizvodnih životinja (BOWDEN, 1971.; KARAPEHLIVAN i sur., 2007.). U ovom istraživanju utvrdili smo veće koncentracije NEFA u ljetnim uzorcima obje skupine bikova što ukazuje na povećanu mobilizaciju masnih zaliha zbog smanjenog unosa hrane tijekom vrućih ljetnih dana. U zimskim uzorcima seruma bikova s genomskim testom utvrdili smo značajnu negativnu korelaciju između aktivnosti PON1 i koncentracije NEFA ($r=-0,738$; $p<0,05$) što je dokaz uravnoteženog metabolizma. Osim toga, u ovom istraživanju utvrđena je negativna korelacija aktivnosti PON1 i NEFA ($r=-0.866$, $p<0,05$) u serumu bikova s progenim testom u ljetnom periodu. Poznato je da se da se aktivnost PON1 smanjuje u uvjetima oksidacijskog stresa (Costa i sur., 2005.), a NEFA raste

pri negativnoj energetskoj bilanci te ova korelacija ukazuje na postojanje oksidacijskog stresa tijekom ljeta kod bikova.

Prethodna istraživanja su pokazala da se aktivnost PON1 u serumu smanjuje s dobi (COSTA i sur., 2005.; GOSWAMI i sur., 2009.) što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja. Aktivnost PON1 u serumu bikova s genomskim testom bila je veća u odnosu na vrijednosti dobivene u serumu bikova s progenim testom u oba godišnja doba što je vjerojatno povezano s razvojem oksidacijskog stresa u starijih jedinki (GOSWAMI i sur., 2009.). Međutim, u našem istraživanju, aktivnosti PON1 u serumu bikova nisu pokazale razlike u sezoni (Tablica 4.) što je vjerojatno posljedica velikih individualnih razlika u skupinama (COSTA i sur., 2005.).

Aktivnost PON1 u serumu pokazuje i spolne razlike (COSTA i sur., 2005.). Naime, ALI i sur. (2003.) su utvrdili značajno veće aktivnosti PON1 u serumu mišica u odnosu na mužjake. U našem istraživanju, aktivnosti PON1 bile su u rasponu od 10 do 30 U/L u serumu bikova s progenim testom te od 20 do 80 U/L u serumu bikova s genomskim testom što je višestruko manje u odnosu na vrijednosti koje su u serumu krava utvrdili TURK i sur. (2005.) i MIYAMOTO i sur. (2005.).

Rezultati našeg istraživanja su pokazali da su aktivnosti PON1 u sjemenoj plazmi bikova izrazito male. Slični rezultati dobiveni su i u uzorcima zdravih muškaraca (VERIT i sur., 2009.; MARSILLACH i sur., 2011.). Aktivnost PON1, u ovom istraživanju, nije bilo moguće izmjeriti u nekoliko uzoraka primjenom metode po CHARLTON-MENYS i sur. (2006.). Ovi rezultati bi se mogli objasniti činjenicom da je PON1 vezana za HDL koji je i kod ljudi i kod bikova (BEER LJUBIĆ i sur., 2009.) u sjemenoj plazmi prisutan u vrlo niskoj koncentraciji.

Rezultati procjene kvalitete sjemena bikova u ovom istraživanju nisu pokazali značajne razlike niti s obzirom na dob niti s obzirom na sezonu iako je poznato da uzorci uzeti u ljeto imaju slabiju sposobnost oplodnje (ARGOV i sur., 2007.). Nasuprot tome, zimski uzorci imaju bolju ravnotežu između kvalitete sjemena i oplodne sposobnosti (ARGOV i sur., 2007.). Naime, u sjemenu dobre kvalitete utvrđene su veće koncentracije kolesterola (BEER LJUBIĆ i sur., 2009.) te veće koncentracije višestruko nezasićenih masnih kiselina i receptora za lipoproteine vrlo niske gustoće (engl. very low densita lipoproteins, VLDL) (ARGOV i sur., 2007.). Tome u prilog govori i negativna korelacija između koncentracije NEFA u serumu i kolesterola u sjemenoj plazmi ($r=-0,594$, $p<0,05$) utvrđena u ljetnim uzorcima bikova s genomskim testom te pozitivna korelacija triacilglicerola u sjemenoj plazmi i progresivne pokretljivosti ($r=0,636$, $p<0,05$) u ljetnim uzorcima bikova s progenim testom.

Zbog toga bi ovi biokemijski parametri mogli nadopuniti standardne metode procjene kvalitete sjemena.

Rezulati ovog istraživanja ukazuju na vrlo niske aktivnosti PON1 u sjemenoj plazmi bikova. Upravo zbog toga potrebno je utvrditi značajnost ovog enzima kao biomarkera osjetljivosti sjemena na oksidacijski stres. Također, daljnja nastojanja treba usmjeriti na utvrđivanje važnosti PON1 kao sastavnog dijela metaboličkog profila za dokazivanje oksidacijskog stresa rasplodnih životinja.

ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata ovog istraživanja možemo zaključiti da:

i. aktivnost PON1 i omjer PON1/HDL-C u serumu ovisi o dobi životinje, a ne mijenja se s obzirom na godišnje doba,

ii. veća koncentracija NEFA u serumu obje skupine bikova tijekom ljeta ukazuje na pojačanu mobilizaciju masnih zaliha i negativan energetski balans,

iii. aktivnost PON1 u sjemenoj plazmi obje skupine bikova nije se značajno mijenjala s dobi kao niti u sezoni vjerojatno zbog individualnih razlika i

iv. veća koncentracija kolesterola i triacilglicerola u sjemenoj plazmi obje skupine bikova tijekom zime ukazuje na bolju kvalitetu sjemena i oplodnu sposobnost te bi ovi pokazatelji mogli nadopuniti standardne metode procjene kvalitete sjemena.

LITERATURA

AGARWAL, A., K. MAKKER, R. SHARMA (2008): Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. Am. J. Reprod. Immunol. 59, 2–11.

ALI, B. A., Q. ZHANG, Y. K. LIM, D. FANG, L. RETNAM, S-K. LIM (2003): Expression of major HDL-associated antioxidant PON-1 is gender dependet and regulated during inflammation. Free Rad. Biol. Med. 34, 824-829.

ARGOV, N., D. SKLAN, Y. ZERON, Z. ROTH (2007): Association between seasonal changes in fatty-acid composition, expression of VLDL receptor and bovine sperm quality. Theriogenology 67, 878-685.

AVIRAM, M., M. ROSENBLAT, S. BILLECKE, J. EROGUL, R. SORENSON, C. L. BISGAIER, R. S. NEWTON, B. N. LA DU (1999): Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antoxidants. Free Rad. Biol. Med. 26, 892-894.

AVIRAM, M., M. ROSENBLAT, C. L. BISGAIER, R. S. NEWTON, S. L. PRIMO-PARMO, B. N. LA DU (1998): Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function. J. Clin. Inves.t 101, 1581-1590.

BEER-LJUBIĆ, B., J. ALADROVIĆ, T. S. MARENJAK, R. LAŠKAJ, I. MAJIĆ-BALIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2009): Cholesterol concentration in seminal plasma as a predictive tool for quality semen evaluation. Theriogenology 72, 1132-1140.

BOWDEN, D. (1971): Non-esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants: a review. Canadian Journal of Animal Science 1, 1-14.

CHAPMAN, M. J., P. FORGEZ (1985:) Lipid transport systems: some recent aspects in swine, cattle and trout during development. Reprod. Nutr. Dev. 25, 217-226.

CHARLTON-MENYS, V., Y. LIU, P. N. DURRINGTON (2006:) Semiautomated method for determination of serum paraoxonase activity using paraoxon as substrat. Clin. Chem. 52, 453-457.

COSTA, L. G., A. VITALONE, T. B. COLE, C. E. FURLONG (2005): Modulation of paraoxonase (PON1) activity. Biochem. Pharmacol. 69, 541-550.

GOSWAMI B., D. TAYAL, N. GUPTA, V. MALLIKA (2009): Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. Clin. Chim. Acta 410, 1-12.

JAMES, R. W., S. P. DEAKIN (2010): The contribution of high density lipoprotein apolipoproteins and derivatives to serum paraoxonase-1 activity and function. Adv Exp Med Biol. 660, 173-181.

KARAPEHLIVAN, M., E. ATAKISI, O. ATAKISI, R. YUCART, S. M. PANCARCI (2007): Blood biochemical parameters during the lactation and dry period in Tuj ewes. Small Rum. Res. 73, 267-271.

MACKNESS, B., P.N. DURRINGTON, M. I. MACKNESS (1998): Human serum paraoxonase. Gen. Pharmac. 31, 329-336.

MACKNESS, M. I., S. ARROL, P. N. DURRINGTON (1991): Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. FEBS Letts 286, 152-154.

MARSILLACH, J., R. LAFUENTE, M. A. CHECA, C. MAESTRE-MARTÍNEZ, E. FABIÁN, M. BRASSESCO, R. BELTRÁN-DEBÓN, G. ARAGONÈS, R. CARRERAS, J. PEDRO-BOTET, J. JOVEN, J. CAMPS (2011): Paraoxonase-1 is only present in traceable amounts in seminal fluid and does not show any relationship with male subfertility. BJU International 108, 566-570.

MIYAMOTO, T., Y. TAKAHASHI, T. OOHASHI, K. SATO, S. OIKAWA (2005): Bovine paraoxonase 1 activities in serum and distribution in lipoproteins. J. Vet. Med. Sci. 67, 243-8.

PAYNE, J. M., S. PAYNE (1987): The metabolic profile test. Oxford university press. Oxford, New York, Tokyo.

ROSENBLAT, M., R. KARRY, M. AVIRAM (2006): Paraoxonase 1 (PON1) is more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux, when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: Relevance to diabetes. Atherosclerosis 187, 74.e1-74.e10.

SORAN, H., N. N. YOUNIS, V. CHARLTON-MENYS, N. P. DURRINGTO (2009): Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. Curr. Opin. Lipidol. 20, 265-274.

TURK, R., D. JURETIĆ, D. GEREŠ, N. TURK, B. REKIĆ, V. SIMEON-RUDOLF, M. ROBIĆ, A. SVETINA (2005): Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. Res. Ve.t Sci. 79, 15-18.

VERIT, F. F., A. VERIT, H. CIFTCI, O. EREL, H. ÇELIK (2009): Paraoxonase-1 activity in subfertile men and relationship to sperm parameters. J. Androl. 30, 183-189.

SAŽETAK

Edita Klepo

Aktivnost paraokosnaze 1 i koncentracija lipida u serumu i sjemenoj plazmi bikova simentalske pasmine

Cilj istraživanja bio je utvrditi aktivnost PON1 i koncentracije lipida u serumu i sjemenoj plazmi simentalskih bikova ovisno o sezoni i dobi životinja. Uzorci krvi i sjemena bikova uzimani su u ljeto i zimu. U serumu je određena aktivnost PON1, koncentracija ukupnog kolesterola, kolesterola vezanog na lipoproteine velike gustoće (HDL-C) te triacilglicerola i slobodnih masnih kiselina, a u sjemenoj plazmi aktivnost PON1 i koncentracije kolesterola i triacilglicerola. Aktivnost PON1 i vrijednost omjera PON1/HDL-C u serumu bikova s genomskim testom bile su značajno veće u oba godišnja doba u odnosu na progeno testirane bikove. Koncentracija slobodnih masnih kiselina u uzorcima obje skupine bikova bila je značajno veća u ljeto u odnosu na vrijednosti dobivene u zimu. Koncentracije kolesterola i triacilglicerola u sjemenoj plazmi obje skupine bikova bile su značajno veće u zimskom periodu u odnosu na ljeto. U ljetnim je uzorcima sjemene plazme progeno testiranih bikova koncentracija kolesterola bila je značajno veća u odnosu na vrijednosti dobivene u sjemenoj plazmi bikova s genomskim testom. Rezultati istraživanja potvrđuju da je serumska aktivnost PON1 ovisna o dobi dok koncentracija NEFA ukazuje na povećanu mobilizaciju masti zbog manjeg uzimanja hrane usljed visokih ljetnih temperatura.

Ključne riječi: bikovi, lipidi, serum, sjemena plazma, paraoksonaza 1

SUMMARY

Edita Klepo

Paraoxonase 1 activity and lipid concentrations in serum and seminal plasma of Simmental bulls

The aim of this study was to investigate PON1 activity and lipid concentrations in serum and seminal plasma of Simmental bulls according to seasonality and age. Blood samples and bovine semen were obtained in summer and in winter. Serum PON1 activity, concentrations of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triacylglycerols and nonesterified fatty acids (NEFA) were determined; whereas seminal plasma PON1 activity and concentrations of total cholesterol and triacylglycerols were analyzed. Activity of PON1 and PON1/HDL-C ratio in serum of bulls with genomic test were significantly higher in both seasons compared with progeny tested bulls. The NEFA concentrations recorded in serum samples of both group collected in summer was significantly higher compared with that in winter. Concentrations of cholesterol and triacylglycerols in seminal plasma were significantly higher in winter samples compared with summer samples in both groups. In summer samples, seminal plasma concentrations of cholesterol and triacylglycerols of bull with progeny test were significantly higher compared with that in bulls with genomic test. In conclusion, we confirmed the relation between PON1 activity and the bulls age. The higher summer NEFA concentrations show that bulls are less prone to eating due to high temperatures during summer, and therefore use their body fat reserves.

Key words**:** bulls, lipids, seminal plasma, serum, paraoxonase 1

ŽIVOTOPIS

Edita Klepo rođena je 28. travnja 1989. u Zagrebu. Prirodoslovnu gimnaziju u Zagrebu završila je 2008. godine s izvrsnim uspjehom. Godine 2009. upisala je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Uključila se 2011. godine u znanstveno-istraživački rad Zavoda za fiziologiju i radiobiologiju gdje je radila na praćenju metaboličkog i antioksidativnog statusa konja. Kao rezultat njezina osobnog zanimanja te marljivog i predanog rada načinjen je studentski rad „Oksidacijska stabilnost seruma konja tijekom priprema i alkarskog natjecanja“ koji je nagrađen Dekanovom nagradom. Također je radila u istraživanju lipidnog sastava i utjecaja paraoksonaze 1 na oksidaciju masnih tvari u serumu i sjemenoj plazmi bikova te je napisala rad „Aktivnost paraoksonaze 1 i koncentracija lipida u serumu i sjemenoj plazmi bikova simentalske pasmine“. S oba rada sudjelovala je na The 5th International Congress „Veterinary Science and Profession“ i prezentirala rezultate. Bila je demonstratorica u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju od 2011. do jeseni 2013. godine.
Aktivna je u struci, volontirala je dvije godine u Klinici za unutrašnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prosjek ocjena studiranja iznosi 3.936.

POPIS RADOVA I SAŽETAKA:
Studentski radovi:

Edita Klepo i Lucija Iličić. Oksidacijska stabilnost seruma konja tijekom priprema i alkarskog natjecanja. Studentski rad. Veterinarski fakultet, Zagreb, 2012. (nagrada dekana Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu).

Edita Klepo i Lucija Iličić. Aktivnost paraoksonaze 1 i koncentracija lipida u serumu i sjemenoj plazmi bikova simentalske pasmine. Veterinarski fakultet, Zagreb, 2013. natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2012./2013.

Sažetci s međunarodnih skupova:

Iličić, L., E. Klepo, B. Beer Ljubić, R. Laškaj, I. Majić-Balić, L. Radin, I. Štoković, J. Aladrović (2013): Paraoxonase 1 activity and lipid concentrations in serum and seminal plasma of simmental bulls. Book of Abstract, The 5th International Congress "Veterinary

Science and Profession. Ur.: Horvatek Tomić, D., K. Severin, A. Slavica, Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, 72-72.

Klepo, E., L. Iličić, B. Beer Ljubić, N. Prvanović Babić, S. Šimundža, L. Radin, J. Šuran, J. Kos, Z. Stojević, J. Aladrović (2013): Oxidative stress indicators and metabolic biomarkers in horse serum during training and Alka competition. Book of Abstract, The 5th International Congress "Veterinary Science and Profession. Ur.: Horvatek Tomić, D., K. Severin, A. Slavica, Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, 43-43.