Utjecaj spola i gonadektomije na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u krvnome serumu svinja

Jurković, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:178:054169

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

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

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

Petra Jurković

UTJECAJ SPOLA I GONADEKTOMIJE NA VRIJEDNOSTI BIOKEMIJSKIH POKAZATELJA U KRVNOME SERUMU SVINJA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2019.

Ovaj je rad izrađen u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zavod za fiziologiju i radiobiologiju
Predstojnica: prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur

Mentori rada:
doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja
izv. prof. dr. sc. Marinko Vilić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur
2. doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja
3. izv. prof. dr. sc. Marinko Vilić
4. doc. dr. sc. Ana Shek Vugrovečki (zamjena)

ZAHVALA

Zahvaljujem voditeljima rada doc. dr. sc. Ivoni Žura Žaja i izv. prof. dr. sc. Marinku Viliću na uloženom trudu i vremenu te pomoći pri cjelokupnom nastanku rada. Zahvalu dugujem Igoru DelVechiu, dr. med. vet., na pomoći pri realizaciji i organizaciji cjelokupnog istraživanja.

SADRŽAJ

1. **UVOD** ... 1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA ... 4
2.1. BJELANČEVINE I ENZIMI U KRVNOM SERUMU ... 4
2.1.1. Bjelančevine ... 5
2.1.2. Albumini ... 6
2.1.3. Alanin aminotransferaza ... 7
2.1.4. Aspartat aminotransferaza ... 7
2.1.5. Gama glutamiltransferaza ... 8
2.2. METABOLITI U KRVNOM SERUMU ... 10
2.2.1. Glukoza ... 10
2.2.2. Bilirubin ... 11
2.2.3. Kreatinin ... 12
2.2.4. Urea ... 12
2.2.5. Triacilgliceroli ... 13
2.2.6. Kolesterol ... 14
3. MATERIJALI I METODE ... 16
3.1. Držanje životinja ... 16
3.2. Postupak sa životinjama ... 16
3.3. Uzorkovanje i analize ... 17
3.4. Statistička obrada rezultata ... 17
4. REZULTATI ... 18
4.1. Aktivnost enzima u serumu svinja ... 18
4.2. Koncentracije bjelančevina u serumu svinja ... 19
4.3. Koncentracije masti u serumu svinja ... 20
4.3. Koncentracije metabolita i supstrata u serumu svinja ... 21
5. RASPRAVA ... 24
6. ZAKLJUČCI ... 27
7. LITERATURA ... 28
8. SAŽETAK ... 32
9. SUMMARY ... 33
10. ŽIVOTOPIS ... 35

Popis kratica

ALB: albumini

ALT: alanin aminotransferaza (engl. *aspartate aminotransferase*)

ALT: alanin-aminotransferaza (engl. *alanine aminotransferse*)

DBI: bilirubin konjugirani/direktni

GGT: γ-glutamil transferaza (engl. *γ-glutamyltransferase*)

GLU: glukoza

K: kastrirani mužjaci

M: spolno zreli mužjaci

O: kastrirane ženke

SEM: standardna pogreška srednje vrijednosti

TRI: triacilglicerol

UBI: bilirubin ukupni

UKOL: ukupni kolesterol

UP: ukupne bjelančevine

Ž: spolno zrele ženke

1. **UVOD**

Svinjogojska proizvodnja ima veliko gospodarsko značenje i jedna je od najbrojnijih uzgoja domaćih životinja u svijetu. Razvoj ove proizvodne grane u poljoprivrednim gospodarstvima pratio je razvoj ratarske proizvodnje, ali i razvoj metoda u odabiru rasplodnih životinja s najboljim uzgojnim i proizvodnim osobinama. U posljednje je vrijeme u svinjogojstvu načinjen veliki napredak, osobito u pasminskoj preorijentaciji i poboljšanju poželjnih nasljednih osobina. Pod utjecajem napretka mehanizacije, ekonomske politike i pooštravanja zakonodavstva u pogledu hranjenja, prijevoza, klanja i higijene mesa promijenio se način na koji se drže ove životinje. Vlasnici kako na seoskim gospodarstvima, a tako i veliki uzgojni pogoni morali su osigurati uvijete koje će udovoljiti dobrobiti i smještaju svinja. Također, prilikom usmrćivanja svinja kako u klaonici tako i izvan nje, treba brinuti o dobrobiti koja je regulirana zakonom te sukladno tome taj posao i provoditi na propisan način (CAMPBELL i sur., 2003.; MILLS i sur., 2010.).

Analiza krvnih pokazatelja u svinja može se koristiti kao postupak za određivanje zdravstvenog stanja stada (EVANS, 1994.; DURAK i sur., 2015.). Referentni intervali za hematološke i biokemijske pokazatelje također mogu pridonijeti ranoj identifikaciji bolesti ili lošem rastu te kao pomoć kliničarima i istraživačima u tumačenju rezultata krvnih testova (KLEM i sur., 2010.; PERRI i sur., 2017.). Međutim, unatoč važnosti analiza hematoloških i biokemijskih pokazatelja, isti se rijetko koriste u procjeni zdravstvenog stanja u industriji svinja. Navedeno može biti zbog nedostatka podataka o referentnim intervalima za svinje u komercijalnom uzgoju, troškova povezanih s radom i laboratorijskim analizama, posebno u usporedbi s malom ekonomskom vrijednošću pojedine svinje (EVANS, 1994.) ili procjenom da će hematološka i biokemijska analiza krvi pružiti malo korisnih podataka o zdravstvenom stanju svinje (PERRI i sur., 2017.).

Naime, mjerenje serumskih biokemijskih pokazatelja može dati uvid u zdravstveno stanje i metabolički status pojedine jedinke ili se može koristiti za praćenje zdravstvenog stanja skupine domaćih životinja (DURAK i sur., 2015.). Nadalje, može poslužiti kao praktično dijagnostičko sredstvo u procjeni patoloških stanja u domaćih životinja. U posljednje vrijeme u veterinarskoj medicini pažnja se usmjerila s pojedine jedinke na skupinu životinja ili cijelo krdo. Osim toga, bolest se ne smatra samo kliničkim entitetom, već suboptimalno zdravlje i neprihvatljivo stanje skupine životinja. Tradicionalno su se za procjenu produktivnosti krda svinja koristili pokazatelji kao što su reproduktivni učinak,

dnevni prirast, omjer konverzije hrane i smrtnost. Međutim, mjerenje razine metabolita u serumu može pružiti značajne dodatne podatke u svrhu procjene zdravstvenog i metaboličkog statusa skupine svinja te za procjenu učinka različitih uvjeta upravljanja i držanja životinja (MORRIS, 1988.). Iako se biokemijska analiza seruma češće koristi za rutinsku dijagnozu u goveda i ovaca, može se koristiti i u svinja. Međutim, kako bi se mogla primijeniti kao korisno dijagnostičko sredstvo, potrebno je najprije utvrditi metode koje su dovoljno osjetljive da otkriju promjene u zdravstvenom statusu svinja te fiziološke čimbenike koji utječu na vrijednosti biokemijskih pokazatelja, a neophodno je znati i referentne vrijednosti za svaki pojedini pokazatelj (VERHEYEN i sur., 2007.).

Mnogi čimbenici unutar krda mogu utjecati na hematološke i biokemijske pokazatelje, što uključuje okolišne i fiziološke čimbenike kao što su dob, pasmina, spol, prehrana i smještaj, bolesti te stres (EVANS, 1994.; PERRI i sur., 2017.).

Svinje su u posljednjim desetljećima u velikoj mjeri zastupljene kao animalni modeli u biomedicinskim istraživanjima, posebice zbog velike sličnosti s ljudima u fiziološkim procesima i anatomskim osobitostima (KANEKO i sur., 2011.; KAWAGUCHI i sur., 2011.; KAWAGUCHI i sur., 2012.). Posebice je zastupljena primjena mini svinja koje se koriste u kardiovaskularnim i kožnim istraživanjima (KAMIMURA i sur., 2003.; YOSHIKAWA i sur., 2013.; KAWAGUCHI i sur., 2013.). Također, su svinje često izbor za animalni model kao predstavnici velikih vrsta životinja te se koriste u istraživanjima za ksenotransplantaciju (COOPER i sur., 2002.). Naime, svinje su radi velike sličnosti s ljudima (anatomija, fiziologija, biokemija, patologija i farmakologija) pogodnije kao animalni model za istraživanja čovjeka nego li glodavci (EKSER i sur., 2012.[a]). Primjerice, radi sličnosti probavnog sustava i metabolizma svinja i ljudi (MILLER i ULLREY, 1987., BAKER, 2008.), genetski pretile i mršave svinje često se koriste u istraživanjima pretilosti u djece, a u svrhu razjašnjenja mehanizma odgovornog za razvoj debljine (SPEAKMAN i sur., 2007.; HE i sur., 2012.). Poznavanje fizioloških vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja u različitih vrsta životinja koje se koriste u biomedicinskim istraživanjima je od iznimne važnosti. No, jednako tako, na prethodno navedene pokazatelje, važno je poznavanje i utjecaj fizioloških osobitosti kao što je spol i hormonski status. Naime, KAWAGUCHI i sur. (2013.) utvrdili su da dob i spol imaju učinak samo na pojedine vrijednosti biokemijskih pokazatelja u serumu zdravih mini svinja.

Budući da spolno vezane razlike imaju sve veći značaj u humanoj medicini kako u fiziološkim procesima tako i u patofiziologiji, dijagnostici te liječenju bolesti (LEGATO,

1997.), smatra se da bi iste trebalo uključiti pri istraživanjima na animalnim modelima (CHRISTOFFERSEN i sur., 2007.). Prema dostupnoj literaturi, utjecaj dobi i gonadektomije na vrijednosti serumskih biokemijskih pokazatelja u svinja plemenite pasmine poput švedskog landrasa nije dostatno istražena. Slijedom prethodno navedenog, cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj spola i gonadektomije/kastracije na vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja (aspartat aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT), γ-glutamil transferaze (GGT), ukupnih bjelančevina, albumina, ukupnog kolesterola, triacilglicerola, uree, glukoze, kreatinina, ukupnog bilirubina i konjugiranog bilirubina) u krvnom serumu spolno zrelih svinja, kao najpogodnijeg animalnog modela za istraživanje većine humanih bolesti. Naime, poznavanje fizioloških razlika vrijednosti biokemijskih pokazatelja, a nastale radi promijene hormonskog statusa uzrokovane kastracijom ili zbog spola, značajno je za: pravilno tumačenje krvnih nalaza kod praćenja zdravlja krda ili postavljanja dijagnoze, odnosno davanju pravilne terapije i u konačnici interpretaciji rezultata u znanstveno-istraživačkom radu.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. BJELANČEVINE I ENZIMI U KRVNOM SERUMU

Enzimi su posrednici metabolizma koji kataliziraju reakcije odgovorne za "dinamične" životne funkcije. Gotovo svaka kemijska reakcija u živoj stanici zahtijeva prisustvo enzima. Većina enzima u organizmu sisavaca se nalazi unutar stanica, nekoliko ih se izlučuje iz stanica i sudjeluju u reakcijama u cirkulirajućoj krvi, u probavnom sustavu ili u drugim izvanstaničnim tekućinama. Broj različitih kemijskih reakcija u stanici sisavaca je velik: životinjska stanica, na primjer, može sadržavati od 1 000 do 4 000 različitih enzima, od kojih svaki katalizira jednu reakciju ili skup usko povezanih reakcija. Određeni enzimi nalaze se u većini stanica zato što kataliziraju stanične reakcije svojstvene svim stanicama (primjerice: reakcije za sintezu proteina, nukleinskih kiselina i fosfolipida, te pretvorbu/razgradnju glukoze i O_2 u CO_2 i H_2O, čime se proizvodi veći dio kemijske energije koja se koristi u životinjskim stanicama). Pojedini se enzimi nalaze samo u određenim stanicama, kao što je hepatociti ili neuroni jer kataliziraju reakcije jedinstvene samo za navedene stanice. Također, neke zrele stanice (poput eritrocita i epidermalnih stanica) više ne mogu proizvoditi proteine ili nukleinske kiselina u tom staničnom razdoblju, ali te stanice zadržavaju specifične enzime koje su sintetizirale u ranijom razdoblju diferencijacije stanica.

Većina enzima su po molekularnoj strukturi bjelančevine, međutim, u novije je vrijeme poznato da RNA i druge molekule mogu također imati vrlo specifičnu katalitičku aktivnost. Kao enzim, RNA se naziva ribozim. Određivanje aktivnosti enzima u plazmi često se koristi u postavljanju dijagnoze pojedinih bolesti. Primjerice, povišene aktivnosti egzokrinih enzima gušterače (amilaze, lipaze i tripsinogena) u plazmi mogu ukazivati na oštećenje gušterače, a povišena aktivnost laktat dehidrogenaze u plazmi može ukazivati na bolest jetre ili oštećenje srčanog mišića (ENGELKING, 2011.; SJAASTAD i sur., 2017.).

Detekcija bjelančevina u serumu njihovom katalitičkom aktivnošću kao pokazatelj oštećenja tkiva temelj je analiza u medicinskim laboratorijima. Klinička enzimologija je disciplina koja proučava i detektira aktivnost enzima u serumu, plazmi, mokraći ili drugim tjelesnim tekućinama kao pomoć u utvrđivanju dijagnoze i prognoze bolesti te otkrivanju disfunkcije organa odnosno bolesti. Specifičnost organa, lokacija enzima unutar stanice, mehanizam otpuštanja enzima iz stanica, klirens iz krvi i brzina sinteze enzima utječe više ili manje na dijagnostičku točnost različitih enzimskih pretraga (SOLTER, 2005.) Organi s povećanom enzimskom aktivnosti mogu tijekom određenih bolesti uzrokovati značajno

povećanje aktivnosti serumskih enzima. Primjerice, omjer unutarstanične i izvanstanične koncentracije ALT-a u jetrenim hepatocitima iznosi 100000:1. Prema tome, oštećenje hepatocita može uzrokovati značajno povišenu aktivnost ALT u serumu. Osim toga, jetra ima veliku masu, što također ukoliko dođe do opsežnog oštećenja jetre može posljedično uzrokovati višestruko povećanje aktivnosti ALT-a u serumu oboljelih jedinki (KANEKO i sur., 2008.).

2.1.1. Bjelančevine

Metabolizam je dušičnih spojeva u životinja povezan s procesima anabolizma i katabolizma aminokiselina i bjelančevina. Bjelančevine iz hrane se razgrađuju u dudodenumu pod djelovanjem proteaza pri čemu nastaju slobodne aminokiseline i peptidi, koji se nakon apsorpcije u potpunosti razgrade u stanicama crijeva. Aminokiseline kao završni proizvodi probave bjelančevina iz entrocita ulaze u portalni krvotok. U tijelu životinje bjelančevine su u kontinuiranom prometu, kontinuirano se sintetiziraju i razgrađuju. U zdrave životinje uspostavljena je ravnoteža između unosa i sinteze aminokiselina te razgradnje i izlučivanja viška dušičnih spojeva u obliku uree. Bjelančevine su sastavljene iz aminokiselina, među 20 aminokiselina koje se nalaze u bjelančevinama, gotovo polovica se ne može sintetizirati u stanicama sisavaca. To su esencijalne aminokiseline koje se moraju dodavati u hranu. Ne-esencijalne aminokiseline mogu se sintetizirati reakcijama transaminacije u organizmu (REECE, 2015.).

Najznačajnije bjelančevine plazme (albumini, globulini i fibrinogen) sintetiziraju se i izlučuju iz hepatocita. Kontrolu sekrecije vrše različiti mehanizmi. Izlučivanje albumina stimulirano je padom osmotskog tlaka (EVANS, 2002.), ali također može biti pod utjecajem patofizioloških promjena kao što je to tijekom infekcije ili upalnog procesa kada se izlučivanje albumina smanjuje. Imunoglobuline proizvode B-limfociti u slezeni, limfnim čvorovima i koštanoj srži uslijed prisutnosti patogena u cirkulaciji ili tkivima. Plazma također sadrži bjelančevine tkiva, koji se izlučuju u krv tijekom normalnog obnavljanja stanica, a mogu poslužiti kao biomarkeri bolesti. Primjerice, enzimi koji se određuju u kliničkoj enzimologiji kao pokazatelji oštećenja jetre ili mišića i troponini oslobođeni iz srčanog ili skeletnog mišića. Funkcije bjelančevina u tijelu životinja su bezbrojne i uključuju formiranje strukture stanica, organa i tkiva, održavanje koloidnog osmotskog tlaka, kataliziranje biokemijskih reakcija i puferiranje te održavanje acido-bazne ravnoteže. Najznačajnije funkcije bjelančevina u krvi su u zgrušavanju krvi (fibrinogen), u obrani

domaćina od patogena (imunoglobulini, komplement), u transportu metabolita (transferin, albumin), u regulaciji staničnog metabolizma (hormoni), u prevenciji proteolize (α1-antitripsin), u osiguravanju ravnoteže dušika u hranidbi (albumin), te u održavanju osmotskog tlaka (albumin). Kada se uzimaju uzorci krvi za analizu bjelančevina, važno je da se s njima postupa ispravno, tako da se ne dođe do stvaranja artefakta koji bi mogli utjecati na rezultate i njihovo tumačenje. No, većina najznačajnijih bjelančevina plazme relativno je otporna na denaturaciju. Neke bjelančevine su manje stabilne, pri čemu su enzimi posebno osjetljivi na gubitak aktivnosti s vremenom. Za određivanje dijagnostički korisnih bjelančevina u serumu koriste se specifični testovi kao što su haptoglobin, C reaktivni protein, serumski amiloid i dr. Ukupni udio bjelančevina u serumu sastoji se od velikog broja pojedinačnih bjelančevina, a dijagnostički podaci mogu se dobiti detektiranjem promjena u pojedinačnim bjelančevinama ili u različitim frakcijama bjelančevina. Testovi za detekciju ukupnih bjelančevina u krvi mogu se provesti u serumu ili plazmi. Tehnologija koja se koristi za određivanje ukupnog proteina može se temeljiti na kemijskim ili fizičkim mjerenjima. U dijagnostičkom laboratoriju koriste se kemijske metodologije jer se one mogu lako prilagoditi automatiziranim analizama. Većina metoda zahtijeva početno određivanje ukupne koncentracije bjelančevina u serumu, koja se zatim koristi za izračunavanje udjela bjelančevina različitih frakcija. Primjerice, globulinska frakcija se može procijeniti ako je poznato ukupna koncentracija bjelančevina i albumina. Koncentracija globulina se izračunava kao razlika između ukupne koncentracije bjelančevina i albumina (KANEKO i sur., 2008.; SJAASTAD i sur., 2017.).

2.1.2. Albumini

Albumin je najzastupljenija bjelančevina u serumu i čini od 35% do 50% ukupnih bjelančevina u serumu. Svinjski albumin ima 97 kiselih i 83 bazičnih aminokiselinskih ostataka. Albumin se sintetizira u citoplazmi hepatocita. Brzinu sinteze albumina regulira koloidni osmotski tlak, ali na sintezu također utječu hormoni kao što su inzulin, tiroksin te kortizol (EVANS, 2002.). Samo 30% do 40% albumina je prisutno u krvi, a ostatak se nalazi u međustaničnom prostoru. Mišići, jetra i bubrezi su organi u kojima je najzastupljeniji proces katabolizma albumina, pri čemu se u njima razgrađuje od 40% do 60% ukupnih albumina. Iako albumini čine samo oko 50% ukupne količine bjelančevina u cirkulaciji, čak 80% koloidnog osmotskog tlaka u krvi regulirano je albuminima. Druga značajna funkcija albumina je transport brojnih metabolita u krvi. Vezane za albumine prenose se transportiraju se tvari koje su slabo topljive u vodenim medijima te važne male molekule

čime se sprječava njihov gubitak putem bubrega. Tako primjerice, masne kiseline, kolesterol, bilirubin, dušikov oksid i metalni ioni cirkuliraju u krvi vezani za albumine (EVANS, 2002.; SJAASTAD i sur., 2017.). Izloženi cisteinski ostatak albumina, koji ne stvara unutarnju disulfidnu vezu, ima važnu funkciju u djelovanju albumina kao antioksidansa (ANRAKU i sur., 2001.). Albumin je negativna bjelančevina akutne faze, koncentracija mu se postupno smanjuje tijekom infekcije i upalnih bolesti (KANEKO i sur., 2008.; REECE, 2015.).

2.1.3. Alanin aminotransferaza

Alanin aminotransferaza katalizira reverzibilnu transaminaciju L-alanina i 2-oksoglutarata u piruvat i L-glutamat. ALT, zajedno s drugim transaminazama, ima funkciju u katabolizmu aminokiselina i prijenosu dušika unutar organa. Nalazi se u skeletnim mišićima i srcu. Piridoksal 5-fosfat je kočimbenik ALT-a, tvoreći tako aktivni oblik enzima. Aktivnost ALT-a je detektirana u nekoliko organa, ali intenzitet aktivnosti jako varira između vrsta životinja. U konja, goveda i svinja aktivnost se ALT-a po gramu jetrenog tkiva malo razlikuje u usporedbi s aktivnosti ALT-a po gramu mišićnog tkiva. Stoga, na temelju velike koncentracije ALT-a prisutne u tkivu, povećana aktivnost ALT-a u serumu je donekle specifična za oštećenja jetrenog tkiva u pasa i mačaka, ali ne u konja i goveda. ALT je nađen u citoplazmi hepatocita, ali i u mitohondrijima, no, uglavnom u znatno manjim koncentracijama, što pak ovisi o vrsti i tkivu. Povećana serumska aktivnost ALT-a događa se u mnogih poremećaja izuzev oštećenja jetre, uključujući hipoksiju, sekundarnu anemiji, metaboličke bolesti kao što je lipidoza, nutritivnih poremećaja kao što su toksikoza bakraom, upalne ili infektivne bolesti, neoplastične bolesti i traumatska oštećenja jetre. Povećana je aktivnost ALT-a u serumu također povezana s uporabom brojnih lijekova u mnogim pacijenata, vjerojatno zbog reakcija koje uzrokuju hepatocelularnu toksičnost. Ukratko, izmjereno povećanje aktivnosti ALT-a u serumu ukazuje na hepatocelularno (ili miocitno) oštećenje, ali značajno povećanje aktivnosti ne znači nužno ireverzibilno oštećenje i ne ukazuje na specifičan uzrok. Referentna vrijednost za aktivnost ALT-a u serumu svinje iznosi 71 (37-106) U/L (KANEKO i sur., 2008.; EKSER i sur., 2012.[b]).

2.1.4. Aspartat aminotransferaza

Aspartat aminotransferaza katalizira transaminaciju L-aspartata i 2-oksoglutatarata u oksaloacetat i glutamat. Kao i kod ALT-a, piridoksal-5-fosfat je potreban kao kočimbenik.

Aktivnost AST-a je relativno velika u serumu, u sličnim količinama prisutna je u jetri, skeletnom i srčanom mišiću, ali također i varira između vrsta životinja (KELLER, 1981.). Aktivnost AST u serumu dostupna je na biokemijskom profilu. Rutinski se koristi kao test probira za utvrđivanja oštećenja jetrenog i mišićnog tkiva u veterinarskoj medicini životinja koje se koriste za uzgoj prehrambenih proizvoda i konja. Ima dulji poluživot u krvi u odnosu na sorbitol dehidrogenazu i kreatin kinazu, te je stabilna danima u serumu na sobnoj temperaturi, u hladnjaku ili zamrznutim uzorcima. AST se nalazi u citosolu stanica, ali je u većim količinama prisutna u mitohondrijima. AST u serumu ima duži poluživot od enzima kreatin kinaze, te imati bolju dijagnostičku važnost tijekom oporavka organizma od oštećenja miocita ili hepatocita. Povećana aktivnost AST-a u serumu utvrđena je u pacijenata s reverzibilnim i ireverzibilnim oštećenjem hepatocita i može se utvrditi nakon hepatocelularnog oštećenja i kolestaze (KLEIN, 2013.). Osim toga, aktivnost je AST-a u serumu povećana u jedinki nakon oštećenja miocita (VERHEYEN i sur., 2007.). Budući da se aktivnost AST-a u serumu ne može razlikovati između oštećenja hepatocelularnog ili miocitnog sustava, često se u serumu pacijenata utvrđuje i aktivnost pojedinih specifičnih enzima poput sorbitol dehidrogenaze ili kreatin kinaze. Značajno povećana aktivnost AST-a i sorbitol dehidrogenaze u serumu pacijenta ukazuje na akutnu hepatocelularno oštećenje, a značajno povećana aktivnost AST-a u serumu s umjereno povećanom aktivnošću sorbitol dehidrogenaze upućuje na kronično oštećenje jetre ili oporavak od akutnog oštećenja jetre. Slični zaključci u postavljanju dijagnoze, odnosno opsežnosti oštećenja mišićnog tkiva mogu se izvesti pomoću utvrđivanja aktivnosti AST-a i kreatin kinaze u serumu pacijenata. Kao i kod ostalih citosolnih enzima, utvrđivanjem aktivnost AST-a u serumu ne može se razlikovati reverzibilno i ireverzibilno stanično oštećenje. Ukratko, određivanje aktivnosti AST-a u serumu još je uvijek dio mnogih biokemijskih profila zbog njene relativno velike osjetljivosti u otkrivanju oštećenja hepatocita i miocita te njene stabilnosti u uzorcima seruma. Međutim, aktivnost AST-a u serumu nema takvu specifičnost kao aktivnosti enzimima specifičnim samo za pojedinu vrstu tkiva, kao što su sorbitol dehidrogenaza i glutamat dehidrogenaza, koje su značajne u otkrivanju oštećenja hepatocita te kreatin kinaze, koja je značajna u otkrivanje oštećenja miocita (KANEKO i sur., 2008.; EKSER i sur., 2012.[b]).

2.1.5. Gama glutamiltransferaza

Gama glutamiltransferaza sudjeluje u gama glutamilskom ciklusu gdje katalizira prijenos gama-glutamil funkcionalne skupine sa gama glutamil peptida kao što je tripeptid

glutation na druge peptide, aminokiseline i vodu. U kombinaciji s peptidazom, GGT ima glavnu funkciju u regulaciji unutarstaničnog tripeptida glutationa. GGT čini ključni dio cikličkog procesa u kojem razlaže izvanstanični glutation na staničnoj membrani i to na aminokiseline od kojih je građen, a potom ih unosi unutar stanice, gdje se rabe u sintezi unutarstaničnog glutationa (WHITFIELD, 2001.). Također, GGT ima važnu funkciju u metabolizmu upalnih medijatora kao što su leukotrieni, hepoksilini i prostaglandini. Prisutnost je GGT-a u tkivima pronađena u najvećoj koncentraciji u bubregu, gušterači, crijevima i mliječnim žlijezdama pasa, goveda, koza i ovaca (GOLDBERG, 1980.). Najveća je aktivnost GGT-a u tkivima s funkcijom transporta, primjerice bubrezi i žučni sustav (prisutna u stanicama epitela u žuči). GGT je membranski vezani enzim na izvanjskoj površini stanica te vezan je za staničnu membranu preko hidrofobnog transmembranskog peptida. Lokacija GGT-a u stanici je važna jer utječe na aktivnost kod oštećenja specifičnih organa, a mjerenje se njezine aktivnosti u serumu koristi kao test u postavljanju dijagnoza. GGT se nalazi na luminalnoj površini stanične membrane proksimalnih tubularnih stanica bubrega gdje se ispušta u urin tijekom tubularnih oštećenja. U gušterači se GGT nalazi na luminalnoj površini stanične membrane stanica koje oblažu kanale acina i gušterače. Povećanje aktivnosti GGT-a u serumu nije isključivo povezano s oštećenjem gušterače ili bubrega. U jetri, aktivnost GGT-a primarno je povezana s bilijarnim epitelnim stanicama, a GGT podrijetlom iz jetre vjerojatno doprinosi većini, ako ne i cijeloj aktivnosti GGT-a u serumu. Prisutnost GGT-a na membranama hepatocita domaćih životinja nije poznata kao niti poluživot njegova djelovanja u krvi. No, poluživot aktivnosti GGT-a u jetri je dovoljno dugačak da se povećanje održava tijekom cijelog procesa bolesti, a dijagnostička osjetljivost je očuvana tijekom duljeg razdoblja. Povećanje serumskog GGT-a najčešće se detektira u stanjima kolestaze i stanjima koja dovode do bilijarne hiperplazije u svih vrsta. Stalno i izrazito povećana aktivnost GGT-a u serumu može ukazivati na bilijarnu hiperplaziju. Iako je najveća serumska aktivnost GGT-a u kolestazi, određivanje aktivnost GGT-a u serumu može se koristiti kao dijagnostički test za generaliziranu bolest jetre u velikih životinja (VERHEYEN i sur., 2007.). Referentna vrijednost GGT-a u serumu svinje je 35 ± 21 U/L (KANEKO i sur., 2008.).

2.2. METABOLITI U KRVNOM SERUMU

2.2.1. Glukoza

Koncentracija glukoze u krvi ovisi velikom broju čimbenika, a rezultat je ravnoteže između ulaska glukoze u cirkulaciju i njezinog uklanjanja iz cirkulaciji. Prema tome, svi čimbenici koji utječu na ulazak ili uklanjanje glukoze iz cirkulacije jesu važni u regulaciji koncentracije glukoze u krvi. Nadalje, kad je prekoračena sposobnost reapsorpcije glukoze u bubrezima (bubrežni prag), gubitak glukoze u mokraći postaje dodatni čimbenik koji tada utječe na njezinu koncentraciju u krvi. Glukoza može biti porijeklom iz hrane tada se apsorbira u crijevima ili se proizvodi u jetri iz prekursora, primjerice, ugljikohidrata (glikogen, fruktoza, galaktoza) i aminokiselina (procesom glukoneogeneze). Proces apsorpcije ovisi i o hormonskoj aktivnosti (npr. štitnjače) i djelovanjem hormona u gastrointestinalnom sustavu (npr. sekretin). Sva stanja koja utječu na probavne procese (kiselost, probavni enzimi, bolesti) značajno utječu na apsorpciju glukoze (SJAASTAD i sur., 2017.). Stoga je važno procijeniti razinu glukoze u krvi u gotovo svim bolestima. Glavni izvor glukoze nakon apsorpcije iz hrane jest jetra. Hormoni adrenalin i glukagon potiču oslobađanje glukoze iz glikogena. Glukokortikoidi potiču glukoneogenezu i suprotstavljaju se hipoglikemijskom djelovanju inzulina. Uklanjanje glukoze regulirano je različitim čimbenicima, od kojih se većina u konačnici odnosi na brzinu iskorištavanja glukoze. Sva tkiva stalno koriste glukozu za energetske potrebe, za pretvorbu u glikogen, pentoze, lipide, aminokiseline. Sama koncentracija glukoze u krvi djelomično regulira intenzitet iskorištavanja iste te stoga, u određenom smislu, podliježe autoregulaciji. Prisutnost inzulina u krvi povećava brzinu iskorištavanja glukoze, bilo povećanim transportom preko prijenosnika glukoze tipa 4 u mišiće i masno tkivo ili povećanom fosforilacijom u jetri. Djelovanju inzulina suprotstavljaju se hormon rasta, glukagon, kortizol i adrenalin. Jetra ima najznačajnije mjesto u regulatornom mehanizmu koncentracije glukoze u krvi jer opskrbljuje i uklanja glukozu iz cirkulacije. Kada jetra preuzme glukozu, 25% se oksidira u laktat ili CO_2, a ostatak se pohranjuje u glikogen. Glikogen iz jetre je izvor glukoze i služi kao rezerva glukoze u organizmu (VERUSSA i sur., 2017.). Mišić, s druge strane, sadrži veliku količinu glikogena, ali ne sadrži enzim glukoza-6-fosfatazu, tako da se iz mišića ne može otpustiti glukoza u cirkulaciji pa su mišići prvenstveno tkivo koje koristi veliku količinu glukoze (REECE, 2015.). Postoji velik broj testova za procjenu serumske koncentracije ugljikohidrata u životinja, ali najčešće se određuje koncentracija glukoze u krvi metodama

heksokinaze, glukoza dehidrogenaze i glukoza oksidaze. Referena vrijednost glukoze u krvi u svinja je od 4,7 do 8,3 mmol/L (KANEKO i sur., 2008) odnosno od 80 do 120 mg/dL (REECE, 2015.).

2.2.2. Bilirubin

Bilirubin je razgradni produkt hemoglobina (80%) te ostalih hemoproteina. Najviše se stvara u slezeni, ali i u jetri te koštanoj srži. Metabolizam bilirubina odnosno sinteza i izlučivanje obuhvaćaju tri razdoblja: prehepatičko, hepatičko i posthepatičko. U prvom razdoblju u slezeni nakon razgradnje hemoglobina nastali bilirubin odlazi u jetru te se na tom putu veže za albumin, a takvu frakciju (vezani oblik bilirubina) nazivamo nekonjugirani bilirubin. U hepatičkom razdoblju takav nekonjugirani bilirubin dolazi u jetru pri čemu se od njega odvaja albumin, bilirubin odlazi u hepatocite gdje se odvija biotransformacija sa glukouronskom kiselinom (vezanje sa glukoronskom) i nastaje konjugirani bilirubin, koji je topljiv u vodi. Ukoliko dođe do poremećaja u bilo kojem razdoblju metabolizma bilirubina, u krvi se podiže koncentracija bilirubina (hiperbilirubinemija). Nekonjugirana hiperbilirubinemija se događa u pacijenata u kojih je povećana proizvodnja bilirubina (npr. hemolitička anemija). Nekonjugirani bilirubin u seruma može se značajno povećati u takvim poremećajima. Naime, nijedan od nekonjugiranog bilirubina vezanog za albumin se ne filtrira kroz glomerul. Posljedično tome, bilirubinurija nije karakteristična za životinje s nekonjugiranom hiperbilirubinemijom. U hemolitičke bolesti, količina bilirubina izlučuje se jetriom i stoga se količina koja dolazi putem žuči u crijevo može biti značajno povećana. Povećana količina bilirubina u crijevu rezultira povećanim stvaranjem i izlučivanjem urobilinogena urinom. Hiperbilirubinemija konjugiranog tipa uzrokovana je intrahepatičnom kolestazom ili opstrukcijom ekstrahepatičnog žučnog kanala. Kada je primarni uzrok poremećaja smanjeno izlučivanje bilirubina putem žuči, unos bilirubina u jetru i njegova konjugacija mogu se odvijati relativno normalnom brzinom, ali konjugirani bilirubin se oslobađa u plazmu. Tada se povećava koncentracija konjugiranog bilirubina u plazmi, dok se konjugirani pigment, radi manjeg afiniteta za albumin, lako filtrira glomerulom i uzrokuje bilirubinuriju. Budući da se u kolestazi izlučivanje bilirubina u crijevo smanjuje ili izostaje, smanjuje se, također, stvaranje urobilinogena putem crijevnih bakterija. Stoga je u potpunoj izvanhepatičnoj opstrukciji i test za utvrđivanje urobilinogena u urinu negativan. Terapijsko davanje oralnih antibiotika širokog spektra pacijentima može smanjiti metaboličku aktivnost crijevnih bakterija i rezultirati lažno negativnim testom na urobilinogen u mokraći u odsutnosti kolestaze (SJAASTAD i sur., 2017.). Van den Bergh

reakcija može biti korisna u procjeni prehepatičkih ili posthepatičnih uzroka hiperbilirubinemije. U pacijenata sa kolestazom raznih uzroka, konjugirana frakcija bilirubina je povišena, što predstavlja 50% do 75% ukupnog bilirubina u serumu. Pri interpretaciji rezultata reakcije van den Bergha, značajne karakteristike vrsta treba uzeti u obzir, jer fiziološki konji ima ju puno veću koncentraciju ukupnog bilirubina u serumu od bilo koje druge domaće vrste životinja (KANEKO i sur., 2008.). Referenta vrijednost za direktni/konjugirani i indirektni bilirubin u serumu svinja je od 0 do 0,3 mg/dL (REECE, 2015.).

2.2.3. Kreatinin

Kreatinin je mala molekula koja nastaje razgradnjom kreatina i kreatin-fosfata. Uglavnom se nalazi u skeletnim mišićima kao molekula u kojoj se skladišti energija. Kreatin se sintetizira iz aminokiselina glicina, arginina i metionina u jetri, zatim ga iz krvi preuzimaju mišići gdje se reverzibilno fosforilira pomoću kreatin-kinaze u kreatin-fosfat. Skeletni mišići sadrži oko 95% od ukupne količine kreatina i kreatin fosfata prisutne u tijelu jedinke. U mesojeda i svejeda, kreatinin također može biti u krvi od kreatina i kreatinina podrijetlom iz hrane. Kreatinin uglavnom cirkulira u slobodnom obliku u plazmi i distribuira se u cijelom tijelu, u sve odjeljke tekućina (WATSON i sur., 2002.). Izlučivanje kreatinina aktivnim transportom u proksimalnim tubulima zabilježeno je u ljudi. Izlučivanje je kreatinina povećano pri zatajenju bubrega u ljudi, ovaca, svinja i koza. Kreatinin se brzo uklanja iz plazme te se eliminira iz organizma urinom, gdje njegova ukupna ekskrecija ovisi o tjelesnoj težini jedinke. Referentne vrijednosti serumskog kreatinin u prasadi gotovo se udvostruče u dobi od 2 do 6 mjeseci u odnosu na odrasle svinje. Mjerenje koncentracije kreatinina u plazmi je najučinkovitiji neizravni pokazatelj intenziteta glomerularne filtracije u sisavaca (SJAASTAD i sur., 2017.). Koncentracija kreatinina je povećana u serumu u pacijenata sa kroničnim i akutniom zatajenjema bubrega, ali i u pojedinim stanjima koja ne zahvaćaju primarno bubreg (KANEKO i sur., 2008). Referenta vrijednost kreatinina u krvi u svinja je od 1 do 2,5 mg/dL (REECE, 2015.).

2.2.4. Urea

Urea je mala molekula topljiva u vodi, sintetizirana u jetri iz ugljikovog dioksida i amonijaka u ornitinskom ciklusu. Urea je glavni oblik u kojem se izlučuje dušik u sisavaca iz organizma mokraćom. Nakon sinteze se distribuira putem krvi u sve tekućine tijela.

Filtrira se u glomerulima bubrega iz krvi i reapsorbira iz tekućine u sabirnim cijevima bubrega u krv (SJAASTAD i sur., 2017.). Pasivna reapsorpcija uree se poveća kad se smanji protok mokraće u tubulima što može dovesti do povećane koncentracije uree u krvi u dehidriranih pacijenata i u pacijenata s krvarenjem ili do smanjene koncentracije uree u bolesnika s prekomjernom hidracijom. Velika količina amonijaka se stvara tijekom procesa katabolizma aminokiselina. Stoga su bjelančevine glavni izvor amonijaka za sintezu uree. Urea se reciklira u preživača u ruminohepatičkom optoku dušika prijenosom uree iz gastrointestinalnog sustava u slinu (REECE, 2015.). U većini vrsta koncentracija uree u krvi održava se ravnotežom između iskorištavanja dušika i njegovog izlučivanja te može biti pod velikim utjecajem prehrane. Koncentracija uree u krvi tijekom zahtjevnog fizičkog rada bila je manja u pasa, konja, ovaca, koza i mačaka s normalnom ili smanjenom funkcijom bubrega, koji su imali mali udio bjelančevina u prehrani. Koncentracija urea u krvi je također povećana nakon duljeg gladovanja, zbog katabolizma tjelesnih bjelančevina. Maksimalno povećanje nakon obroka može iznositi 7 mmol/L 6 sati nakon obroka i traje duže od 18 sati, povećanje uree u krvi je veće u životinja koje se hrane sa velikim udjelom bjelančevina u obroku ili u životinja koje se hrane sa velikim obrocima. Brojni čimbenici mogu pridonijeti povećanju koncentracije uree u krvi, kao što su gastrointestinalna krvarenja, gladovanje ili sepsa, stanja koja povećavaju katabolizam bjelančevina i smanjena perfuzija bubrega, koja povećava reapsorpciju uree u bubregu. Ostali čimbenici koji smanjuju koncentraciju uree u krvi jesu pothranjenost, jetrena insuficijencija, nedostatak enzima koji sudjeluju u ornitinskom ciklusu, tirotoksikoza stanje koje snižava koncentraciju uree u krvi povećanjem glomerularnom filtracijom (KANEKO i sur., 2008.; EKERT KABALIN i sur., 2017.).

2.2.5. Triacilgliceroli

Triacilgliceroli (trigliceridi) su molekule u kojima se tri dugolančane/više masne kiseline esterificiraju u glicerol. Triacilgliceroli nisu topljivi u krvi te moraju biti vezani za bjelančevine u kompleksima koji se nazivaju lipoproteini (hilomikroni, lipoproteini jako male gustoće, VLDL) kako bi bili transportirani u plazmi. Triacilgliceroli čine najveći dio i lipida iz hrane, ali i lipidnih zaliha u tijelu. Iako većina stanica može sintetizirati triacilglicerole, stanice jetre, adipociti, mliječne žlijezde i tanko crijevo imaju najveću sposobnost u sintezi istih. Kako bi se sintetizirali triacilgliceroli, više masne kiseline vezane za koenzim A (CoA) (glavne molekule za sintezu triacilglicerola) esterificiraju se u glicerol-3-fosfat (glicerol-3-P). Glicerol-3-P može se sintetizirati u jetri iz glicerola, koji se apsorbira iz plazme, uz utrošak ATP-a u reakciji, koju katalizira enzima glicerol kinaza.

Triacilgliceroli se „cijepaju“ u adipocitima na masne kiseline i glicerol te se transportiraju iz adipocita do organa kojima je potrebna energija (masno tkivo, srce, skeletna muskulatura i mliječna žlijezda). Masne kiseline se postepeno razgrađuju u mitohondrijima i glatkoj endoplazmatskoj mrežici procesom beta-oksidacije do acetil-CoA, koji se zatim razgrađuje u citratnom ciklusu tijekom kojeg se oslobađa energija (REECE, 2015.). Oko 95% metaboličke energije pohranjeno je u tri dugolančane masne kiseline triacilglicerola, a samo oko 5% energije dobiva se katabolizmom glicerola. U masnom tkivu sinteza triacilglicerola je regulirana hormonima, osobito glukagonom, kateholaminima i inzulinom. Unutarstanični cAMP, čija se koncentracija povećava s povećanjem koncentracije glukagona i kateholaminima u plazmi ili smanjenjem koncentracije inzulina u plazmi (npr. gladovanje ili dijabetes), inhibira sintezu triacilglicerola. U stanjima organizma u kojima se razina glukagona povisi (npr. gladovanje), a razina inzulin se smanji, aktivira se hormonski osjetljiva lipaza i uslijedi lipoliza. Općenito, fiziološke ili patološke okolnosti, kao što su gladovanje ili dijabetes, koje potiču visoke razine viših masnih kiselina u plazmi, suprimiraju sintezu viših masnih kiselina. Nadalje, fiziološke okolnosti koje potiču sintezu viših masnih kiselina, kao što je konzumiranje ugljikohidratnog obroka, također inhibiraju lipolizu u masnom tkivu, tako da razine viših masnih kiselina u plazmi nisu povišene. Stoga je funkcija aktiviranih viših masnih kiselina (CoA) u sintezi triacilglicerola u jetri važna i objašnjava kako se sinteza masti i masna jetra mogu razviti u stanju gladovanja kada su prisutne veće razine hormona koje inhibiraju sintezu triacilglicerola. Katabolizam triacilglicerola uključuje djelovanje lipaza od kojih su najznačajnije: pankreasna, jetrena, lipaza u adipocitima, lipoproteinska i lizosomska lipaza. Triacilglicerole u hilomikronima i VLDL-u u plazmi razgrađuje lipoproteinska lipaza koja se nalazi u endotelu mnogih organa i tkiva, ali je najzastupljenija u masnom tkivu, srčanom i skeletnom mišiću te mliječnoj žlijezdi (BRUSS, 2008.). Lipidi iz hrane (triacilgliceroli) se prenose iz crijevnih epitelnih stanica u obliku hilomikrona i pohranjuju se kao triacilgliceroli, prvenstveno u masnom tkivu, ili se izravno koriste kao izvor energije nakon razgradnje pomoću lipoproteinske lipaze na masne kiseline (KANEKO i sur., 2008.; SJAASTAD i sur., 2017.).

2.2.6. Kolesterol

Kolesterol je steroid, jednostavni lipid koji u organizmu može biti egzogenog (unijet u organizam hranom animalnog podrijetla) ili endogenog podrijetla. Steroidi su esteri masnih kiselina i sterolskih alkohola, a građeni su od četiri međusobno povezana ugljikova prstena te postranog lanca građenog od osam ugljikovih atoma. Kolesterol se nalazi samo u

životinja i nije prisutan u biljkama ili mikroorganizmima. Kolesterol je prekursor steroidnih hormona, vitamina D i žučnih kiselina, te je sastavni dio staničnih membrana i žučnih micela. Jetra je najzastupljeniji organ u sintezi kolesterola, ali organi poput testisa, jajnika i nadbubrežne žlijezde mogu također sintetizirati kolesterol, dok se jedan dio kolesterola unosi hranom (SHARPE i sur., 2006.; CAI i sur., 2015.). Kolesterol i esteri kolesterola su netopljivi u krvi i moraju se transportirati kroz plazmu kao dio lipoproteina. Ako se količina kolesterola konzumirana u prehrani poveća, količina endogenog kolesterola (sintetiziran u jetri) će se smanjiti. U fiziološkim uvjetima povećanu sintezu kolesterola uzrokuju stanja koja povećavaju razinu inzulina u krvi (npr. konzumiranje hrane) dok suprotno, smanjenu sintezu kolesterola uzrokuju stanja koja smanjuju razinu inzulin u krvi (npr. dijabetes) ili povećavaju glukagon (npr. gladovanje). Kada se kolesterol sintetizira u hepatocitima, može se izlučiti u plazmu kao dio lipoproteina (uglavnom u obliku VLDL-a), može se izlučiti putem žuči u duodenum i postati dio žučnih micela, može se razgraditi do žučnih kiselina, ili se može esterificirati sa viših masnih kiselina pomoću acetil-CoA i enzima kolesterol aciltransferaze u glatkoj endoplazmatskoj mrežici (KANEKO i sur., 2008.; SJAASTAD i sur., 2017.). Referenta vrijednost kolesterola u krvi u svinja je od 60 do 200 mg/dL (REECE, 2015.).

3. MATERIJALI I METODE

Fakultetsko vijeće Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu temeljem članka 40. Statuta Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na prijedlog Povjerenstva za etiku u veterinarstvu, na 26. redovitoj sjednici održanoj 23. siječnja 2019. godine donijelo je odluku da se odobrava provođenje ovog istraživanja (klasa:640-01/18-17/83, ur. br.:251-61-41-18-01).

3.1. Držanje životinja

Istraživanje je načinjeno na 20 svinja pasmine švedski landras (5 nerasta, 5 ženki, 5 kastriranih mužjaka i 5 kastriranih ženki) koje su držane na svinjogojskoj farmi Kaznionice u Požegi, gdje su tovljene u svrhu ekonomske iskoristivosti svinjskoga mesa. Nakon odbića prasad je do četvrtog mjeseca starosti boravila u boksovima veličine 3 x 2 m (0,42 m^2/životinji) uz pristup vodi i hrani *ad libitum* (nipl pojilice i hranilice), a hranjene su potpunom krmnom smjesom za odojke (Starter za prasad 20%-peletirani, TSH d.d., Čakovec). U dobi od šest mjeseci životinje su premještene u boksove veličine 2,5 x 4,3 m (1,5 m^2/životinji) uz pristup vodi *ad libitum* i podno hranjenje tri puta na dan potpunom krmnom smjesom za svinje u rastu i tovu do 60 kg tjelesne mase (BEK-1, TSH d.d., Čakovec). Od osmog mjeseca starosti pa sve do klanja životinje su držane u boksovima veličine 3 x 6 m (2,6 m^2/životinji) s prirodnom ventilacijom. Životinje su također imale pristup vodi *ad libitum* uz podno hranjenje tri puta na dan i to potpunom krmnom smjesom za svinje u rastu i tovu preko 60 kg tjelesne mase, a zadnji mjesec su hranjene dopunskom krmnom smjesom za tovne i rasplodne svinje (Superkoncentrat za svinje 40 %, TSH d.d., Čakovec) sa siliranim zrnom kukuruza.

3.2. Postupak sa životinjama

U dobi od četiri mjeseca, pet nerasta je kastrirano tijekom rutinskog postupka kastracije svinja za tov i ekonomsku iskoristivost, a pet ženki kastrirano je na zahtjev vlasnika. Kastracija je načinjena uklanjanjem testisa (obostrana orhiektomija) i uklanjanjem jajnika (obostrana ovariektomija) uz korištenje acepromazina apliciranoga i.m. 0,2 mg/kg tjelesne mase. Po završetku zahvata životinjama je apliciran tetanus antitoksin (5 ml, s.c.) te kombinacija prokain benzilpenicilina i benzatin benzilpenicilina produljenog učinka (0,07 ml/kg tjelesne mase i.m.) kako bi spriječili sekundarne bakterijske infekcije. Svi korišteni pripravci dozvoljeni su za uporabu u Republici Hrvatskoj.

3.3. Uzorkovanje i analize

Po završetku tova (dob svinja koko10 mjeseci) uzeti su uzorci krvi punkcijom *v. jugularis* u epruvete bez antikoagulansa (Vacutainer BD tube sa SSt II gelom, Plymouth, UK). Nakon zgrušavanja krvi uzorci su centrifugirani na 3500 okretaja/min tijekom 10 minuta. Serumi su transportirani do laboratorija na + 4 ^{0}C gdje su pohranjeni na – 20 ^{0}C tijekom 24 sata, a potom na – 80 ^{0}C do analize. U dobivenim uzorcima krvnoga seruma određene su aktivnosti aspartat aminotransferaze (engl. *aspartate aminotransferase*, AST), alanin-aminotransferaze (engl. *alanine aminotransferse*, ALT), γ-glutamil transferaze (engl. *γ-glutamyltransferase*, GGT) te koncentracije ukupnih bjelančevina, albumina, ukupnog kolesterola, triacilglicerola, uree, glukoze, kreatinina, bilirubina.

U dobivenim uzorcima seruma aktivnosti AST, ALT i GGT te koncentracije ukupnih bjelančevina, albumina, triacilglicerola, glukoze, kreatinina, bilirubina određene su spektrofotometrijski gotovim kompletima tvrtke Dijagnostika (Sisak, Hrvatska) na automatskom analizatoru SABA 18 (AMS, Italija) prema uputama proizvođača. Koncentracije ukupnog kolesterola i uree određene su spektrofotometrijski gotovim kompletima tvrtke "Randox" (Irska, UK), također prema uputama proizvođača. Dobivene vrijednosti u krvnom serumu izražene su po jednoj litri.

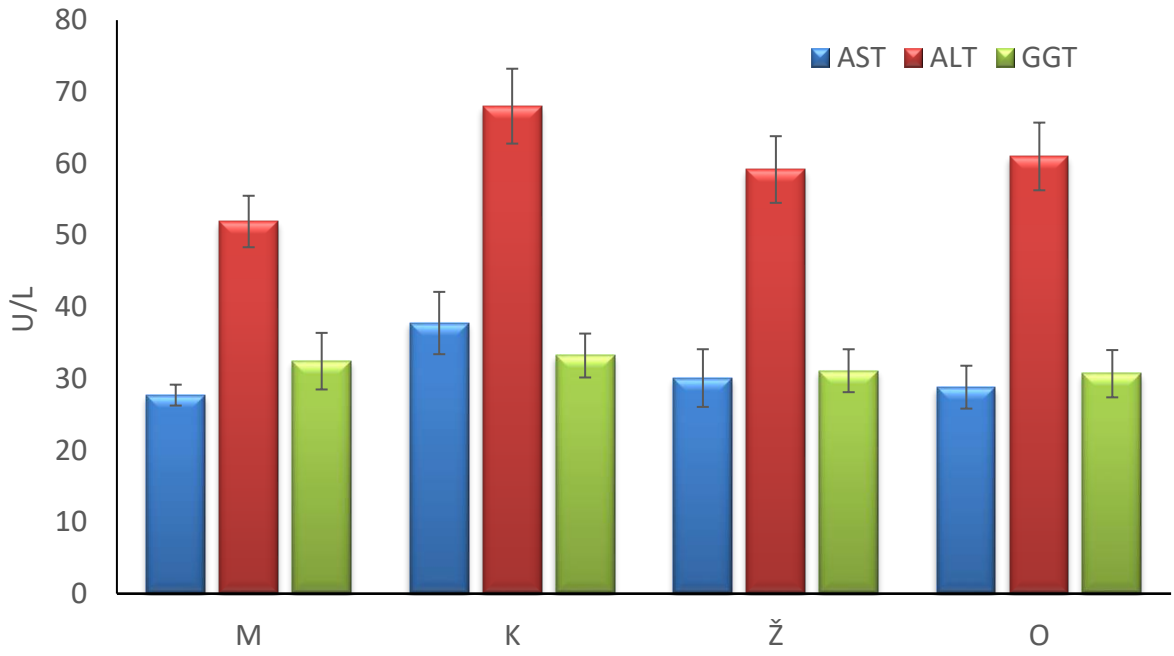
3.4. Statistička obrada rezultata

Dobiveni razultati biokemijskih analiza prikazani su kao srednja vrijednost i standardna pogreška srednje vrijednosti (SEM) i kao takvi prikazani u tekstu i grafikonima. Svi rezultati su statistički obrađeni u programu STATISTICA 12.0 (StatSoft, Inc., USA). Nakon testiranja normalne distribucije (Kolmogorov-Smirnovim testom), rezultati su testirani analizom varijance (ANOVA) dok su razlike između skupina određene Tukey HSD testom na razini statističke značajnosti $P<0,05$.

4. REZULTATI

4.1. Aktivnost enzima u serumu svinja

Dobivene vrijednosti aktivnosti enzima u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola prikazani su na Slici 1.



Slika 1. Aktivnost enzima AST-a, ALT-a i GGT-a u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

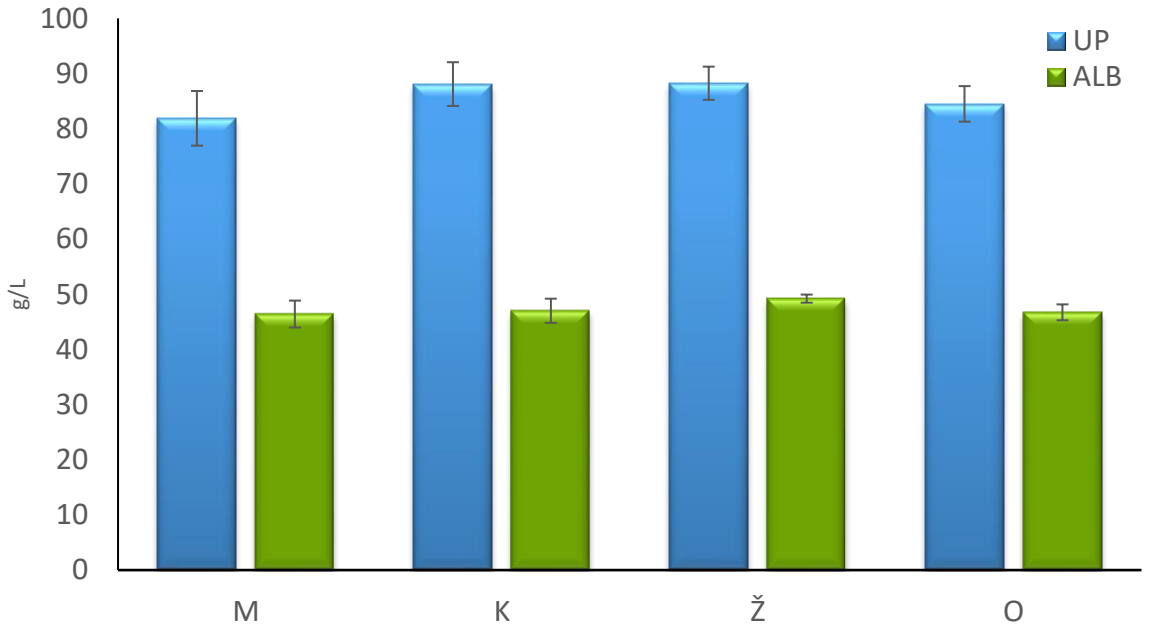
M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke; AST - aspartat aminotransferaza; ALT - alanin aminotransferaza; GGT - gama glutamil transferaza

Iz rezultata prikazanih na Slici 1. uočljivo je da su se aktivnosti istraživanih enzima u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola razlikovali ovisno o spolu i hormonskom statusu. Najviša je aktivnost AST-a zabilježena u serumu kastriranih mužjaka (37,75 U/L), zatim u serumu ženki (30,07 ± 4,02 U/L) i serumu kastriranih ženki (28,80 ± 2,99 U/L) dok je najniža bila u serumu mužjaka (27,69 ± 1,46 U/L). Usporedbom vrijednosti dobivenih rezultata, iako su se aktivnosti AST-a u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola međusobno razlikovale te razlike nisu bile statistički značajne (P>0,05). Najmanja je aktivnost ALT-a izmjerena u serumu mužjaka (51,91 ± 3,59 U/L), a

najveća u serumu kastriranih mužjaka (68,00 ± 5,22 U/L). Nadalje, aktivnost ALT-a u serumu ženki (59,16 ± 4,65 U/L) i kastriranih ženki (60,98 ± 4,72 U/L) bila je podjednakih vrijednosti. Usporedbom srednjih vrijednosti GGT-a utvrđena je najveća vrijednost u serumu kastriranih mužjaka(33,22 ± 3,06 U/L), a malo manju vrijednost GGT-a od kastriranih mužjaka imali su mužjaci (32,43 ± 3,95 U/L), pa ženke (31,09 ± 2,99 U/L), dok je najmanja vrijednost GGT-a zabilježena u serumu kastriranih ženki (30,68 ± 3,30 U/L).

4.2. Koncentracije bjelančevina u serumu svinja

Dobivene vrijednosti koncentracija bjelančevina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola prikazani su na Slici 2.



Slika 2. Koncentracija ukupnih bjelančevina i albumina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

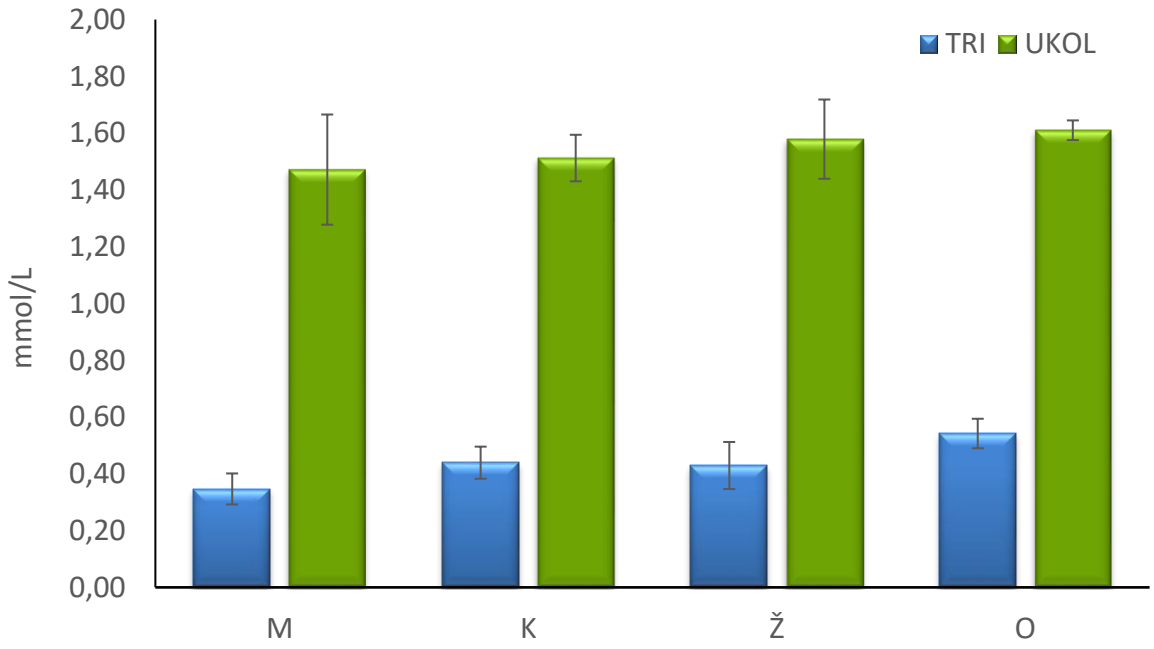
M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke; UP – ukupne bjelančevine; ALB - albumini

Iz rezultata prikazanih na Slici 2. vidljivo je da su se vrijednosti koncentracija bjelančevina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola međusobno razlikovale ovisno o spolu i hormonskom statusu životinja, ali te razlike nisu bile statistički značajne. Usporedbom dobivenih vrijednosti ukupnih proteina, utvrđena je najmanja vrijednost ukupnih proteina u serumu mužjaka (81,88 ± 4,95 g/L), zatim u serumu

kastriranih ženki (84,49 ± 3,22 g/L), dok su koncentracije ukupnih proteina u serumu ženki (88,24 ± 3,01 g/L) i kastriranih mužjaka (88,09 ± 3,96 g/L) bile najveće i približno jednakih vrijednosti. Kao i kod ukupnih proteina, srednja vrijednost albumina bila je najveća u serumu ženki (49,20 ± 0,73 g/L), zatim u kastriranih mužjaka (47,00 ± 2,19 g/L), a koncentracije albumina u serumu mužjaka (46,40 ± 2,44 g/L) i kastriranih ženki (46,71 ± 1,44 g/L) bile su najmanje i podjednakih vrijednosti.

4.3. Koncentracije masti u serumu svinja

Dobivene vrijednosti koncentracija masti u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola prikazani su na Slici 3.



Slika 3. Koncentracija triacilglicerola i ukupnog kolesterola u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

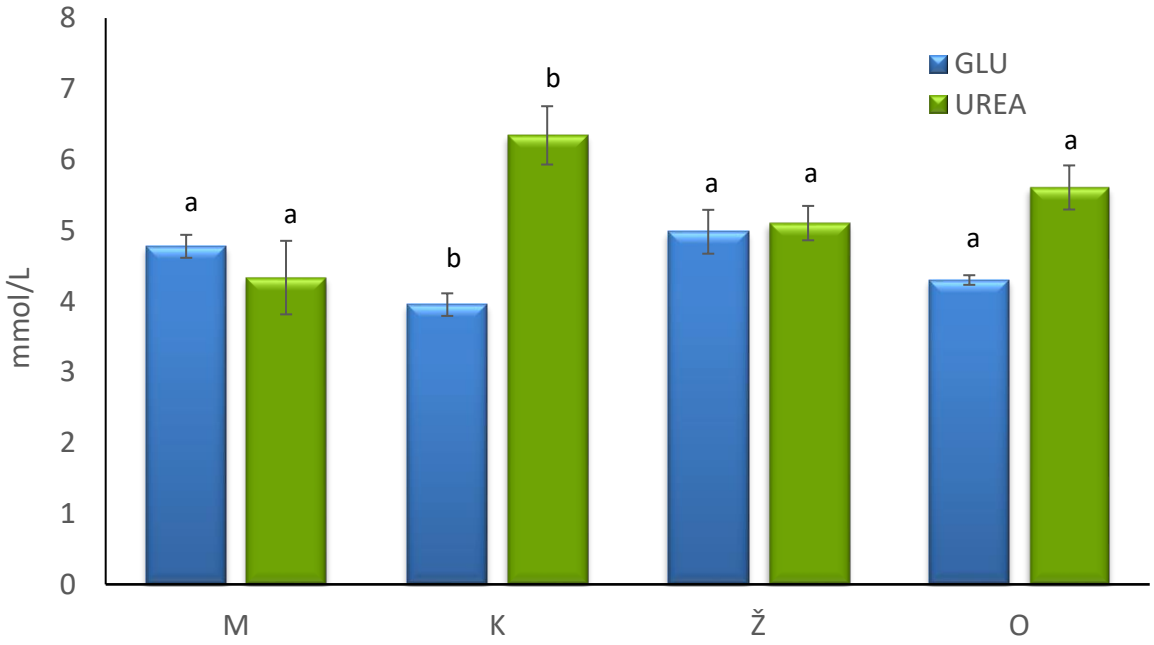
M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke; TRI – triacilglicerol; UKOL – ukupni kolesterol

Iz rezultata prikazanih na Slici 3. uočljivo je da su koncentracije triacilglicerola i ukupnog kolesterola u serumu svinja bile podjednake te da se nisu značajno razlikovale ovisno o spolu i hormonskom. Približno jednake vrijednosti triacilglicerola zabilježene su u serumu kastriranim mužjaka (0,44 ± 0,06 mmol/L) i ženki (0,43 ± 0,08 mmol/L). Najveće

vrijednosti triacilglicerola bile su u serumu kastriranih ženki (0,54 ± 0,05 mmol/L), a najmanje u mužjaka (0,35 ± 0,05 mmol/L). Nadalje, usporedbom srednjih vrijednosti utvrđeno je da je najmanja vrijednost ukupnog kolesterola izmjerena u serumu mužjaka (1,47 ± 0,19 mmol/L), a najveća u serumu kastriranih ženki (1,61 ± 0,03 mmol/L), nešto manja u serumu ženki (1,58 ± 0,14 mmol/L) pa u kastriranih mužjaka (1,51 ± 0,08 mmol/L).

4.3. Koncentracije metabolita i supstrata u serumu svinja

Dobivene vrijednosti koncentracija metabolita i supstrata u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola prikazani su na Slici 4., 5. i 6.



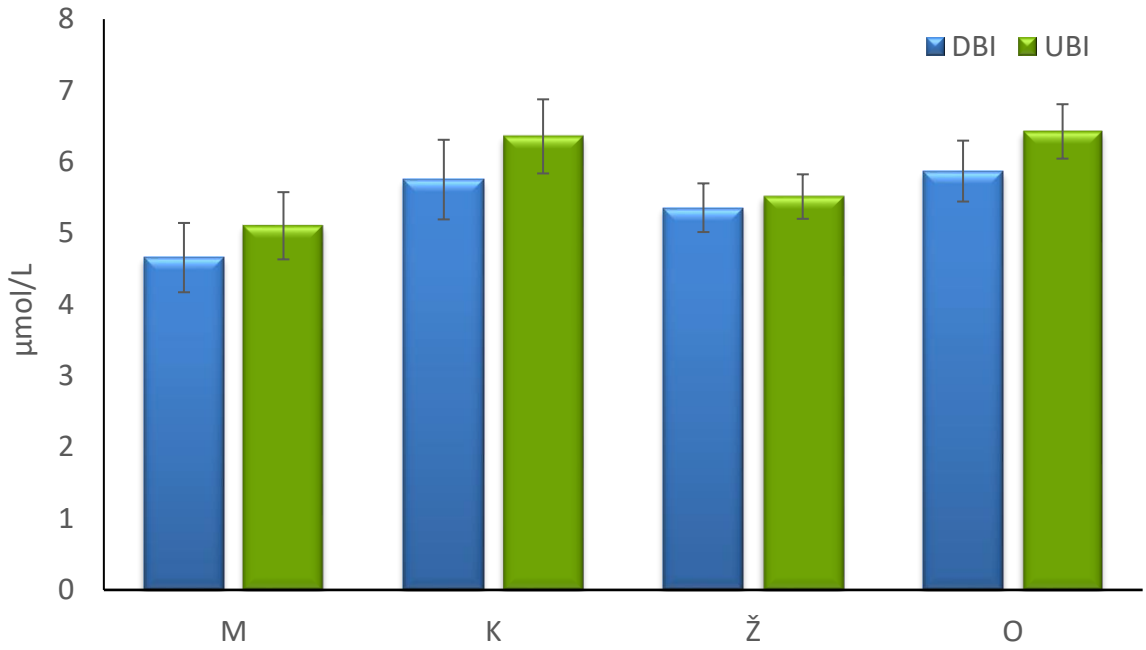
Slika 4. Koncentracija glukoze i uree u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

[a,b]Vrijednosti označene različitim slovima istog biokemijskog pokazatelja značajno se razlikuju na razini statističke značajnosti $p<0,05$

M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke; GLU – glukoza

Iz rezultata prikazanih na Slici 4. uočljivo je da su se koncentracije glukoze i uree u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola značajno razlikovali ovisno o spolu i hormonskom statusu. Tako je statističkom analizom utvrđena značajno manja vrijednost glukoze u serumu kastriranih mužjaka (3,95 ± 0,16 mmol/L) u odnosu na mužjake

(4,78 ± 0,16 mmol/L) i ženke (4,98 ± 0,31 mmol/L). Međutim, koncentracija glukoze u serumu kastriranih ženki bila je (4,30 ± 0,07 mmol/L) i nije se značajno razlikovala u odnosu na ostale istraživane skupine svinja. Kao i kod glukoze, srednja vrijednost koncentracije uree bila je značajno manja u serumu kastriranih mužjaka (6,34 ± 0,41 mmol/L) u odnosu na mužjake (4,33 ± 0,52 mmol/L). Koncentracija uree u serumu ženki bila je (5,10 ± 0,24 mmol/L) te je bila podjednaka vrijednosti uree u serumu kastriranih ženki (5,61 ± 0,31 mmol/L).

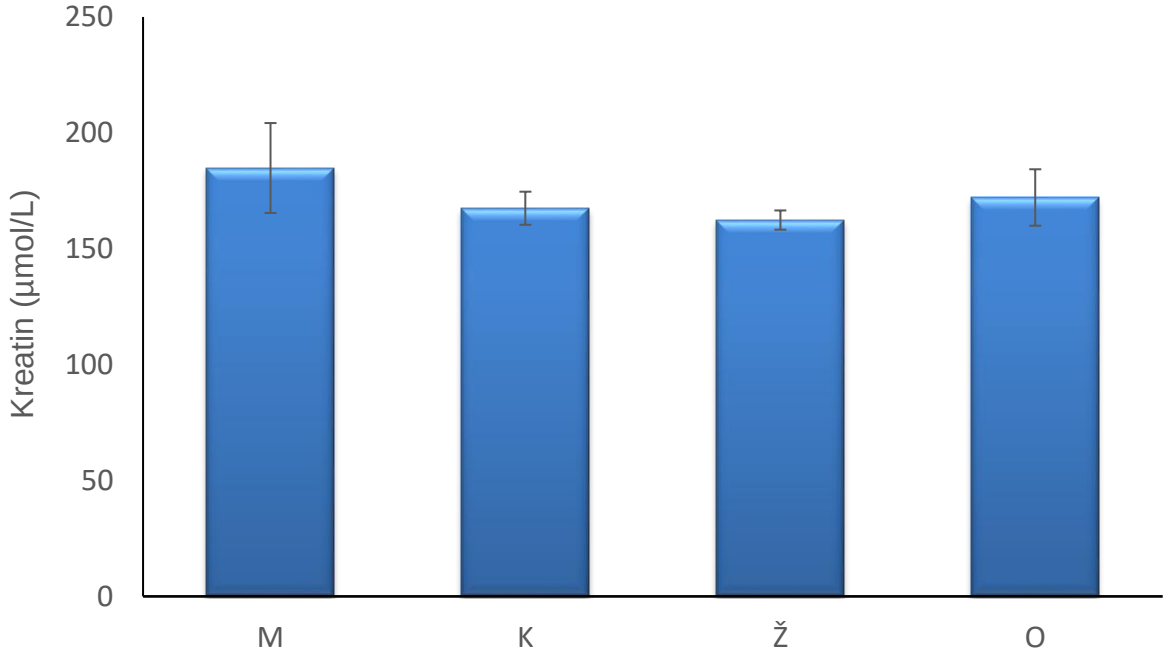


Slika 5. Koncentracija ukupnog bilirubina i konjugiranog bilirubina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke; DBI – bilirubin konjugirani/direktni; UBI – bilirubin ukupni

Iz rezultata prikazanih na Slici 5. uočljivo je da su se koncentracije bilirubina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola razlikovali ovisno o spolu i hormonskom statusu. Tako je nakon statističke analize utvrđeno da je najmanja vrijednost direktnog bilirubina izmjerena u serumu mužjaka (4,66 ± 0,49 µmol/L), zatim u serumu ženki (5,36 ± 0,34 µmol/L), te u serumu kastriranih mužjaka (5,75 ± 0,56 µmol/L), a najveća u serumu kastriranih ženki (5,87 ± 0,43 µmol/L). Kao i kod direktnog bilirubina, ukupni bilirubin bio je najmanji u serumu mužjaka (5,10 ± 0,47 µmol/L), zatim u serumu ženki (5,51 ± 0,31 µmol/L), te u serumu kastriranih mužjaka (6,36 ± 0,52 µmol/L), a najveća u serumu

kastriranih ženki (6,43 ± 0,38 µmol/L). Utvrđene razlike u koncentraciji ukupnog i direktnog bilirubina u serumu svinja nisu se statistički značajno razlikovale ovisno o spolu i hormonskom statusu životinja (*P*>0,05).



Slika 6. Koncentracije kreatinina u serumu spolno zrelih i kastriranih svinja muškog i ženskog spola (srednja vrijednost ± SEM)

M – spolno zreli mužjaci/nerasti; K – kastrirani mužjaci; Ž – spolno zrele ženke/nazimice; O – kastrirane ženke;

Iz rezultata prikazanih na Slici 6. vidljivo je da su vrijednosti kreatina u serumu svinja bile podjednake te da se nisu značajno razlikovale ovisno o spolu i hormonskom statusu životinja. Vrijednost kreatinina bila je najveća u serumu mužjaka (184,84 ± 19,40 µmol/L), zatim u serumu kastriranih ženki (172,11 ± 12,18 µmol/L), te u kastriranih mužjaka (167,47 ± 7,14 µmol/L) i najmanja u serumu ženki (162,36 ± 4,15 µmol/L).

5. RASPRAVA

Biokemijski pokazatelji seruma koriste se u procjeni bolesti i stanja životinja te praćenju i evaluaciji ishoda liječenja bolesti životinja, tumačenju nutritivnih poremećaja, u istraživanjima produktivnosti životinja i prikupljanju podataka o patofiziološkom stanju životinja (DURAK i sur., 2015.). Postoje brojni predanalitički čimbenici koji mogu utjecati na vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja primjerice: dob, spol, pasmina, intenzitet rasta, prehrambeni i zdravstveni status, razdoblje u godini, fizička aktivnost i stres (HUMANN-ZIEHANK i GANTER, 2012.). Prema dostupnoj literaturi, učinak gonadektomije / kastracije na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u serumu svinja do sada nije istražen, a tako ni učinak spola na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u serumu svinja plemenite pasmine švedski landras. Naime, poznat je jedino učinak dobi i spola na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u serumu zdravih mini svinja (KAWAGUCHI i sur., 2012.; KAWAGUCHI i sur., 2013.). S druge strane, zbog razlika u dizajnu istraživanja, pasmine svinja, dobi i analitičkih metoda dobivene rezultate je teško usporediti s literaturnim podatcima. Međutim, dobivene vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u skladu s rezultatima istraživanja VERHEYEN i sur. (2007.), WANG i sur. (2009.), CHMIELOWIEC-KORZENIOWSKA i sur. (2012.), KAWAGUCHI i sur. (2012.), KAWAGUCHI i sur. (2013.), KOZERA i sur. (2016.) te PERRI i sur. (2017.), a također se nalaze unutar referentnih vrijednosti za svinje prema KANEKO i sur. (2008.) i REECE (2015.). Dobiveni rezultati ovoga istraživanja pokazali su da se većina vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u krvnome serumu svinja razlikuje ovisno o spolu i ganadektomiji, ali ne značajno. Dobiveni rezultati vezeno za učinak spola na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u serumu svinja uglavnom su u skladu sa rezultatima za većinu istraženih biokemijskih pokazatelja (KAWAGUCHI i sur., 2012.; KAWAGUCHI i sur., 2013.).

Koncentracija uree u serumu se nije značajno razlikovala između nerasta i nazimica u ovom istraživanju, ali je utvrđena značajno veća koncentraciju uree u kastriranih nerasta u odnosu na neraste. Dobiveni rezultati su u suglasju s KAWAGUCHI i sur., 2013. koji također nisu utvrdili razliku u koncentraciji uree između spolova mini svinja. Dok, su KAWAGUCHI i sur., 2012. dobili oprečne rezultate, naime, u serumu mužjaka mini svinja utvrdili su značajno veću koncentraciju uree u odnosu na ženke. Navedeno je moguće zbog razlike u dobi i razlike u analitičkim metodama između ovog istraživanja te istraživanja koje su sproveli KAWAGUCHI i sur., 2012.

U ovom istraživanju nisu utvrđene značajne razlike u koncentraciji glukoze u serumu između mužjaka i ženki, što je sukladno rezultatima CHRISTOFFERSEN i sur. (2007.) koji su proveli istraživanje o učinku spola na serumske metabolite u mini svinja. No, u ovom je istraživanju utvrđena značajno veća koncentracija glukoze u serumu mužjaka i ženke u odnosu na kastrirane mužjake. Rezultati ovoga istraživanja pokazuju da kastracija u mužjaka značajno utječe na smanjenje vrijednosti glukoze u serumu.

U načinjenom istraživanju koncentracija ukupnog kolesterola i triacilglicerola bila je veća u serumu ženki u odnosu na mužjake. Gotovo istovjetne rezultate dobili su KAWAGUCHI i sur., 2013. Naime, autori su utvrdili značajno veću koncentracija ukupnog kolesterola, slobodnog kolesterola, kolesterol estera, triacilglicerola, i kolesterola vezanog za lipoproteine male gustoće u serumu ženki mini svinja u odnosu na mužjake u dobi od 5 mjeseci. Međutim, kao i u ovom istraživanju razlika u koncentraciji ukupnog kolesterola i triacilglicerola u serumu između ženki i mužjaka u dobi od 10 do 12 mjeseci nije bila statistički značajna. Dok su CHRISTOFFERSEN i sur. (2007.) utvrdili da ženke imaju značajno veće koncentracije triacilglicerola i ukupnog kolesterola u odnosu na mužjake, pri čemu je razlika bila veća nakon spolne zrelosti. U ovom istraživanju istraživan je i učinak kastracije te su nakon statističke analize utvrđene razlike u koncenraciji lipida u serumu istraživanih svinja ovisno o spolu i kastraciji, no te razlike nisu bile značajne. Naime, utvrđena je najmanja vrijednost ukupnog kolesterola i triacilglicerola u serumu mužjaka, zatim u serumu kastriranih mužjaka, pa u serumu ženki te najveća u serumu kastriranih ženki. Veće vrijednosti istraživanih lipida u ženski mini svinja kao i ženki švedskog landrasa ovoga istraživanja mogu biti povezane s većom lipolitičkom osjetljivošću u ženki kao i u žena (WILLIAMS, 2004.). Smatram da su dobivene razlike u vrijednostima istraživanih lipida vezane za spol i gonadektomiju u svinja novi, vrijedni podatci, iako razlike nisu bile statistički značajne, budući da u dostupnoj literaturi nisu pronađena slična istraživanja.

Aktivnosti AST-a, ALT-a i GGT-a u serumu svinja u ovome istraživanju nisu se značajno razlikovale ovisno o spolu i gonadektomiji. Naime, aktivnosti AST-a i ALT-a se također nisu razlikovale između spolova u serumu mini svinja u dobi od 10 do 12 mjeseci (dob svinja približno kao i u ovom istraživanju), ali je aktivnost ALT-a bila značajno veća u serumu ženki u odnosu na mužjake u dobi od 4 do 6 te od 7 do 9 mjeseci u istraživanju KAWAGUCHI i sur., 2013. Nadalje, KAWAGUCHI i sur., 2012. također nisu utvrdili značajnu razliku između mužjaka i ženki u aktivnosti AST-a u serumu mini svinja, ali je aktivnost ALT-a bila značajno veća u serumu ženki u odnosu na mužjake različite,

neujednačene dobi u rasponu od 0 do 34 mjeseci. Prethodno navedeno, navodi na razmišljanje da aktivnost ALT-a u serumu ovisi o dobi i o spolu svinja.

U ovom istraživanju većina istraživanih pokazatelja nije pokazala značajan učinak spola i gonadektomije na vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u serumu svinja pasmine švedski landras, ali su uočeni određeni obrasci pojavnosti u vrijednostima za skupinu biokemijskih pokazatelja, tj. određeni su biokemijski pokazatelji bili najveći ili najmanji u pojedinoj istraživanoj skupini svinja. Primjerice, koncentracije triacilglicerola, ukupnog kolesterola, ukupnog bilirubina i konjugiranog bilirubina u krvnome serumu bile su najveće u kastriranih nazimica, a najmanje u nerasta. Nadalje, aktivnosti AST-a, ALT-a i GGT-a te koncentracija uree bile su najveće u serumu kastriranih nerasta, a najmanje u nerasta. Navedene rezultate ovoga istraživanja vezano za utjecaj kastracije i spola na vrijednosti biokemijskih pokazatelja nije moguće usporediti zbog nedostatka dostupnih istraživanja navedene tematike.

6. ZAKLJUČCI

Iako se većina vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja nije značajno razlikovala među skupinama svinja različitog spola i hormonskog statusa, ipak su uočeni obrasci promjena vrijednosti nekih pokazatelja kod određenih skupina.

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti:

- spol i gonadektomija ima određeni učinak na vrijednosti pojedinih biokemijskih pokazatelja (najmanja vrijednost AST, ALT, ukupni proteini, albumini, urea, triacilgliceroli, ukupni kolesterol, ukupni i direktni bilirubin bila u krvnome serumu nerasta; najveća aktivnost AST-a, ALT-a i GGT-a te koncentracija ureae bile u serumu kastriranih nerasta; najveća koncentracija triacilglicerola, ukupnog kolesterola, ukupnog i direktnog bilirubina bile u kastriranih nazimica;najveća koncentracija glukoze, ukupnih proteina i albumina bila u serumu nazimica).
- spol i hormonski status treba uzeti u obzir tijekom interpretacije zdravsvenog stanja
- potrebna su daljnja istraživanja na većem broju životinja radi preciznijeg definiranja učinka spola i gonadektomije na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u krvnome serumu svinja.

7. LITERATURA

1. ANRAKU, M., K. YAMASAKI, T. MARUYAMA, U. KRAGH-HANSEN, M. Otagiri (2001): Effect of oxidative stress on the structure and function of human serum albumin. Pharma. Res. 18, 632-639.
2. BAKER, D. H. (2008): Animal models in nutrition research. J. Nutr. 138. 391-6.
3. BRUSS, M. L. (2008): Lipids and ketones. U: Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed., (Kaneko J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss, Eds.). Elsevier Inc., San Diego, str. 81-115.
4. CAI, Z., H. XI, Y. PAN, X. JIANG, L. CHEN, Y. CAI, K. ZHU, C. CHEN, X. XU, M. CHEN (2015): Effect of testosterone deficiency on cholesterol metabolism in pigs fed a high-fat and high-cholesterol diet. Lipids Health Dis. 14:18. doi: 10.1186/s12944-015-0014-5.
5. CAMPBELL, J. R., M. D. KENEALYAND, K. L. CAMPBELL (2003): Animal Sciences. The Biology, Care and Production of Domestic Animals. McGraw-Hill Companies Inc., New York, str. 41-42.
6. CHMIELOWIEC-KORZENIOWSKA, A., L. TYMCZYNA, M. BABICZ (2012): Assessment of selected parameters of biochemistry, hematology, immunology and production of pigs fattened in different seasons. Arch. Anim. Breed. 55, 469-479.
7. CHRISTOFFERSEN ,B. O., N. GRAND, V. GOLOZOUBOVA, O. SVENDSEN, K. RAUN (2007): Gender-associated differences in metabolic syndrome-related parameters in Göttingen minipigs. Comp. Med. 57, 493-504.
8. COOPER, D. K., B. GOLLACKNER, D. H. SACHS (2002): Will the pig solve the transplantation backlog? Anu. Rev. Med. 53, 133-147.
9. DURAK, M. H., R. E. C. ERKAN, R. ÇELIK, B. YOKUŞ. D. KURT, S. GÜRGÖZE (2012): The Effects of Age and Gender on Some Biochemical Serum Parameters in Zom Sheep Raised in the Vicinity of Karacadağ. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2, 304-306.
10. EKERT KABALIN, A., T. BALENOVIĆ, M. ŠPERANDA, S. MILINKOVIĆ-TUR, I. ŠTOKOVIĆ, S. MENČIK, M. MAURIĆ, Ž. PAVIČIĆ (2017): Serum biochemical parameters in suckling piglets with low and average birth mass. Vet. arhiv 87, 171-184.

11. EKSER, B., B. GRIDELLI, D. K. C. COOPER (2012b): Porcine alanine transaminase after liver allo-and xenotransplantation. Xenotransplantation 19, 52-55.
12. EKSER, B., J. BIANCHI, S. BALL, H. IWASE, A. WALTERS, M. EZZELARAB, M. VEROUX, B. GRIDELLI, R. WAGNER, D. AYARES, D. K. COOPER (2012a): Comparison of hematologic, biochemical, and coagulation parameters in α1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs, wild-type pigs, and four primate species. Xenotransplantation. 19, 342-54.
13. ENGELKING, L. R. (2011): Textbook of Veterinary Physiological Chemistry 2nd ed. Academic Press, Burlington, USA.
14. EVANS, R. J. (1994): Porcine haematology: Reference ranges and the clinical value of the haematological examination in the pig. Pig. J. 32, 52-57.
15. EVANS, T. W. (2002): Review article: albumin as a drug: biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. Aliment. Pharmacol. Therap. 16, 6-11.
16. GOLDBERG, D. M. (1980): Structural, functional, and clinical aspects of gamma-glutamyltransferase. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 12, 1 - 58.
17. HE, Q., P. REN, X. KONG, Y. WU, G. WU, P. LI, F. HAO, H. TANG, F. BLACHIER, Y. YIN (2012): Comparison of serum metabolite compositions between obese and lean growing pigs using an NMR-based metabonomic approach. J. Nutr. Biochem. 23, 133-9.
18. HUMANN-ZIEHANK, E., M. GANTER (2012): Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. Animal 6, 1115-1123.
19. KAMIMURA, R., N. MIURA, S. SUZUKI (2003): The hemodynamic effects of acute myocardial ischemia and reperfusion in Clawn miniature pigs. Exp. Anim. 52, 335-338.
20. KANEKO, J. J., W. HARVEY, M. L. BRUSS (2008): Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th edition Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
21. KANEKO, N., K. ITOH, A. SUGIYAMA Y. IZUMI (2011): Microminipig, a non-rodent experimental animal optimized for life science research: Preface. J. Pharmacol. Sci. 115, 112-114.
22. KAWAGUCHI, H., N. MIYOSHI, N. MIURA, M. FUJIKI, M. HORIUCHI, Y. IZUMI, H. MIYAJIMA, R. NAGATA, K. MISUMI, T. TAKEUCHI, A. TANIMOTO, YOSHIDA (2011): Microminipig, a non-rodent experimental animal

optimized for life science research: Novel atherosclerosis model induced by high fat and cholesterol diet. J. Pharmacol. Sci. 115, 115-121.

23. KAWAGUCHI, H., T. YAMADA, N. MIURA, M. NOGUCHI, H. IZUMI, N. MIYOSHI, A. TANIMOTO (2013): Sex differences of serum lipid profile in novel microminipigs. In Vivo. 27, 617-21.
24. KAWAGUCHI, H., T. YAMADA, N. MIURA, Y. TAKAHASHI, T. YOSHIKAWA, H. IZUMI, T. KAWARASAKI, N. MIYOSHI, A. TANIMOTO (2012): Reference values of hematological and biochemical parameters for the world smallest microminipigs. J. Vet. Med. Sci. 74, 933-6.
25. KELLER, P. (1981): Enzyme activities in the dog: tissue analyses, plasma values, and intracellular distribution. Am. J. Vet. Res. 42, 575-582.
26. KLEIN, B. G. (2013): Cunningham's Textbook of veterinary physiology. 5th ed., Elsevier Saunders, St. Louis, USA, str. 382-396.
27. KLEM, T. B., E. BLEKEN, H. MORBERG, S. I. THORESEN, T. FRAMSTAD (2010): Hematologic and biochemical reference intervals for Norwegian crossbreed grower pigs. Vet. Clin. Path. 39, 221-226.
28. KOZERA, W. J., K. KARPIESIUK, D. BUGNACKA, J. FALKOWSKI, W. MILEWSKA (2016): Production performance of pigs reared in different systems and fed increased energy content diets with or without green alfalfa. S. Afr. J. Anim. Sci. 46, 70-76.
29. LEGATO, M. J. (1997): Gender-specific physiology-how real is it-how important is it. Int. J. Fertil. Womens Med. 42, 19-29.
30. MILLER, E. R., D. E. ULLREY (1987):The pig as a model for human-nutrition. Annu. Rev. Nutr. 7, 361-82.
31. MILLS, D. S., J. N. MARCHANT-FORDE, P. D. McGREEVY, D. B. MORTON, C. J. NICOL, C. J. C. PHILLIPS, P. SANDØE, R. R. SWAISGOOD (2010): The Encyclopedia of Applied Animal Behaviour and Welfare. CAB International 2010, Wallingford, str. 473-474.
32. MORRIS, R. S. (1988): The veterinarian and the livestock industries – fire in the heart or smoke in the eyes? N. Z. Vet. J. 36, 161-166.
33. PERRI, A. M., T. L. O'SULLIVAN, J. C. HARDING, R. D. WOOD, R. M. FRIENDSHIP (2017): Hematology and biochemistry reference intervals for Ontario commercial nursing pigs close to the time of weaning. Can. Vet. J. 58, 371-376.

34. REECE, W. O. (2015): Dukes' physiology of domestic animals.13th ed. Willey Blackwell, Ames, USA.
35. SJAASTAD, Ø.V., O. SAND, K. HOVE (2017): Fiziologija domaćih životinja. Naklada Slap, Zagreb.
36. SOLTER, P. F. (2005): Clinical pathology approaches to hepatic injury. Toxicol. Path. 33, 9-16l.
37. SPEAKMAN, J., C. HAMBLY, S. MITCHELL, E. KROL (2007): Animal models of obesity. Obes. Rev. 8, 55-61.
38. VERHEYEN, A. J., D. G. MAES, B. MATEUSEN, P. DEPREZ, G. P. JANSSENS, L. DE LANGE, G. COUNOTTE (2007): Serum biochemical reference values for gestating and lactating sows. Vet. J. 174, 92-98.
39. VERUSSA, G. H., A. CORASSA, D. S. PINA, A. P. S. TON, C. M. KOMIYAMA, A. O. TEIXEIRA (2017): Performance and serum parameters of growing pigs fed semipurified glycerin. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 30, 11-20.
40. WANG, M. Q., Y. D. HE, M. D. LINDEMANN, Z. G. JIANG (2009): Efficacy of Cr (III) supplementation on growth, carcass composition, blood metabolites, and endocrine parameters in finishing pigs. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22, 1414-1419.
41. WATSON, A. D., LEFEBVRE, H. P., CONCORDET, D., LAROUTE, V., FERRE, J. P., BRAUN, J. P., CONCHOU, F., P. L. TOUTAIN (2002): Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs: comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. J. Vet. Intern. Med. 16, 22-33.
42. WHITFIELD, J. B. (2001): Gamma glutamyl transferase. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 38, 263 - 355.
43. WILLIAMS, C. M. (2004): Lipid metabolism in women. Proc. Nutr. Soc. 63, 153-160.
44. YOSHIKAWA, T., Y. TAKAHASHI, H. KAWAGUCHI, S. UTSUNOMIYA, N. MIURA, H. IZUMI, N. MIYOSHI, A. TANIMOTO (2013): A dermal phototoxicity study following intravenous infusion administration of ciprofloxacin hydrochloride in the novel Microminipigs. Toxicol. Pathol. 41, 109-113.

8. SAŽETAK

Biokemijski pokazatelji seruma koriste se u procjeni bolesti i stanja životinja te praćenju i evaluaciji ishoda liječenja bolesti životinja, tumačenju nutritivnih poremećaja, u istraživanjima produktivnosti životinja i prikupljanju informacija o patofiziološkom stanju životinja. Spolno vezane razlike u fiziološkim procesima, patofiziologiji, dijagnostici i liječenju bolesti imaju sve veći značaj u humanoj medicini, te bi se te razlike trebale istražiti i implementirati u istraživanja na animalnim modelima. Stoga je cilj ovoga rada bio istražiti utjecaj spola i gonadektomije na vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu spolno zrelih svinja. Istraživanje je provedeno na 20 klinički zdravih spolno zrelih svinja (5 nerasta, 5 nazimica, 5 kastriranih nerasta i 5 kastriranih nazimica), pasmine švedski landras u dobi od 10 mjeseci. Uzorci krvi su uzeti jednokratno punkcijom *v. jugularis* u epruvete bez antikoagulansa. Nakon centrifugiranja izdvojen je serum, a u uzorcima su spektrofotometrijski određene aktivnosti aspartat aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT), γ-glutamil transferaze (GGT) te koncentracije ukupnih bjelančevina, albumina, ukupnog kolesterola, triacilglicerola, uree, glukoze, kreatinina, ukupnog bilirubina i konjugiranog bilirubina. Statističkom analizom utvrđeno je da kastrirani nerasti imaju značajno veću koncentraciju uree ($P<0,05$) u krvnom serumu u odnosu na neraste. Osim toga, kastrirani su nerasti imali značajno manju ($P<0,05$) koncentraciju glukoze u serumu od nerasta i nazimica. Koncentracije triacilglicerola, ukupnog kolesterola, ukupnog bilirubina i konjugiranog bilirubina u krvnome serumu bile su najveće u kastriranih nazimica, a najmanje u nerasta. Aktivnosti AST-a, ALT-a i GGT-a te koncentracija uree bile su najveće u serumu kastriranih nerasta, a najmanje u nerasta, osim aktivnosti GGT-a koja je bila najmanja u kastriranih nazimica. Nadalje, najveće koncentracije glukoze, ukupnih proteina i albumina bile su zabilježene u serumu nazimica, dok su najmanje zabilježene u nerasta, izuzev koncentracije glukoze koja je bila najmanja u serumu kastriranih nerasta. Prema dobivenim rezultatima ovoga istraživanja može se zaključiti da se većina vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u krvnome serumu svinja razlikovalo ovisno o spolu i ganadektomiji, ali ne značajno. Međutim, daljnja istraživanja su potrebna na većem broju životinja kako bi se preciznije definirali učinci dobi i gonadektomije na vrijednosti biokemijskih pokazatelja u krvnome serumu svinja. No, za interpretaciju biokemijskih pokazatelja seruma svinja, odnosno kako bi se osigurala točna klinička dijagnoza i prognoza trebalo bi uzeti u obzir spol i hormonski status životinja.

Ključne riječi: *spol, gonadektomija, biokemijski pokazatelji, krvni serum, svinje*

9. SUMMARY

The influence of sex and gonadectomy on the values of biochemical parameters in the pig blood serum

The serum biochemical parameters are used to evaluate animal disease and condition as well as to monitor and evaluate the outcomes of animal disease treatment, in the interpretation of nutritional disorders, in the animal productivity research, and in collection of information on the pathophysiological condition of animals. The gender-related differences in physiological processes, pathophysiology, diagnosis and treatment of diseases have an increasing importance in human medicine, and these differences should be investigated and implemented in animal models. Therefore, the aim of this study was to investigate the influence of sex and gonadectomy (castration) on the values of the investigated biochemical parameters in the blood serum of the sexually mature pigs. The study was conducted on 20 clinically healthy, sexually mature pigs (5 boars, 5 gilts, 5 castrated boars and 5 castrated gilts) of the Swedish Landrace breed at the age of 10 months. Blood samples were taken from the jugular vein using blood test tubes without anticoagulant. After centrifugation, the serum was separated, and the activities of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ-glutamyl transferase (GGT) as well as the concentrations of total protein, albumin, total cholesterol, triacylglycerol, urea, glucose, creatinine, total bilirubin and conjugated bilirubin were determined in the samples spectrophotometrically. Statistical analysis showed that castrated boars have significantly higher urea concentrations ($P<0.05$) in blood serum than boars. In addition, castrated boars had a significantly lower ($P<0.05$) serum glucose concentration than males and females. The concentrations of triacylglycerols, total cholesterol, total bilirubin, and conjugated bilirubin in blood serum were the highest in castrated gilts and the lowest in boars. The activities of AST, ALT and GGT and the concentration of serum urea were the highest in the serum of castrated boars, and the lowest in boars, except the GGT activity that was the lowest in castrated gilts. Furthermore, the highest concentrations of glucose, total protein and albumin were recorded in gilts serum, while the lowest in boars, except for glucose concentrations that were the lowest in serum of the castrated boars. Based on the results of this study it can be concluded that most of the values of the investigated biochemical parameters in the blood serum of pigs differed in relation to gender and ganadectomy, but not significantly. However, further studies are required with a larger number of animals in order to more precisely define the effects of gender and gonadectomy on the values of biochemical parameters in blood

serum of pigs. However, for the interpretation of the serum biochemical parameters of pigs, *i.e*. to ensure accurate clinical diagnosis and prognosis, gender and gonadectomy of animals should be taken in consideration.

Key words: *sex, gonadectomy, biochemical indicators, blood serum, pigs*

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 30. lipnja1993. godine u Našicama, RH. Pohađala sam osnovnu školu u Orahovici od 2000. do 2008. godine te Poljoprivrednu i veterinarsku školu u Osijeku od 2008. do 2012. godine. Nakon mature, 2012. godine upisujem studij veterinarske medicine Veterinarskog fakulteta Unverziteta u Sarajevu. U Sarajevu sam završila prve dvije godine studija te se 2014. godine prebacujem na integrirani preddiplomski i diplomski studij veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Pohađala sam nastavu engleskog jezika u školi stranih jezika „Inicijativa“ u Zagrebu. Tijekom školovanja volontirala sam u veterinarskoj ambulanti u Orahovici. U razdoblju od 2015. do 2018. godine bila sam demonstrator na Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju. Stručnu sam praksu odradila u Veterinarskoj stanici Vrbovec u kojoj sam radila preko ugovora student servisa.