



AKTIVNOST TRANSAMINAZA I LEUCIN-AMINOPEPTIDAZE U KRVNOJ PLAZMI OZRAČENIH PILIĆA

Petar KRALJEVIĆ, Zvonko STOJEVIĆ, Saveta MILJANIĆ,
Suzana MILINKOVIĆ-TUR, Miljenko ŠIMPRAGA*

Zavod za fiziologiju i radiobiologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,
Heinzelova 55, 10000 Zagreb

*Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb

UVOD

Ozračivanje sisavaca ionizacijskim zračenjem uzrokuje porast aktivnosti nekih enzima u krvnoj plazmi (1,2,3,4). U napim ranijim istraživanjima na pilićima pokazali smo međutim da parenteralna aplikacija radioaktivnog fosfora ^{32}P uzrokuje pad aktivnosti enzima u krvnoj plazmi pokusnih ptica (5,6). Stoga smo u ovom radu htjeli istražiti učinak vanjskog gama-zračenja na aktivnost transaminaza i leucin-aminopeptidaze u krvnoj plazmi pilića, i utvrditi da li eventualne promjene u aktivnosti tih enzima mogu poslužiti u dijagnostici organskih ili funkcionalnih oštećenja organa u pilića uzrokovanih gama-zračenjem.

MATERIJAL I METODE

Istraživanja smo obavili na pilićima, hibridima teške pasmine "Jata" muškog spola, u dobi od 50 dana i težine od 2000 do 2300 grama. Piliće smo držali u dva odvojena kaveza; u jednom je bila kontrolna skupina ($n=5$) a u drugom pokusna skupina ($n=5$). Komercijalnu smjesu za brojere i vodu za piće pilići su uzimali po volji. Mikroklimatski uvjeti u pokusnoj prostoriji odgovarali su mikroklimatskim uvjetima za tu vrstu i dob pilića.

Pilićima iz pokusne skupine ozračili smo cijelo tijelo gama-zrakama. Izvor gama-zračenja bio je ^{60}Co panoramskog tipa aktivnosti 666tbq i srednje energije gama-zračenja 1,25 MeV-a. Tkivu ekvivalenta apsorbirana doza u slobodnom prostoru na mjestu osi životinje, mjerena Framer dozimetrom 2570 B, za vrijeme ozračivanja iznosila je 8,019 Gy. Raspodjelu doze u tijelu ozračenih životinja odredili smo u vodenom fantomu kemijskim osobnim dozimetrom DL-M4. Prosječna apsorbirana doza u tijelu životinje iznosila je $7,23 \pm 0,95$ Gy.

Krv za analizu uzimali smo iz krilne vene 1,3,5,7,9. i 15. dana nakon ozračivanja. U krvnoj plazmi određivali smo aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT) i leucin-aminopeptidaze (LAP) spektrofotometrijski, koristeći gotove kompletne reagensija proizvođača Boehringer Mannheim GmbH.

Rezultati su statistički obrađeni i prikazani kao aritmetička sredina skupine, zajedno sa srednjom greškom srednje vrijednosti, a značajnost među razlikama provjerena je t-testom po Studentu i Fisheru. Na kraju pokusa životinje smo žrtvovali te njihova trupla kao i trupla uginulih životinja razudili, a organe histološki pregledali.

REZULTATI I RASPRAVA

Kretanje aktivnosti AST u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja vanjskim gama-zračenjem prikazano je u tablici 1.

Tablica 1. Aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST) u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja gama-zračenjem (U/L) n=5

Skupina	1. dan	3. dan	5. dan	7. dan	9. dan	15. dan
Kontrolna	72±2,2	68±2,2	66±2,2	70±4,4	76±8,9	90±6,6
Pokusna	74±13,9	77±2,5	53±8,3	52±0,0	42±5,3	62±0,0

Aktivnost AST bila je neznatno povećana 1. i 3. dana pokusa, dok je ostale dane bila smanjena. Statistički značajna razlika zabilježena je 3. i 7. dana pokusa ($P < 0,05$).

Aktivnost ALT u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja vanjskim gama-zračenjem prikazana je u tablici 2.

Tablica 2. Aktivnost alanin-aminotransferaze (ALT) u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja gama-zračenjem (U/L) n=5

Skupina	1. dan	3. dan	5. dan	7. dan	9. dan	15. dan
Kontrolna	31±1,5	8±1,4	31±2,2	12±1,3	0±0,0	10±1,4
Pokusna	21±0,0	5±1,1	10±0,0	10±0,0	0±0,0	5±1,6

Aktivnost ALT u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je smanjena tijekom cijelog pokusnog razdoblja. Razlike među skupinama nisu međutim statistički značajne.

Aktivnost LAP u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja gama-zrakama prikazana je u tablici 3.

Tablica 3. Aktivnost leucin-aminopeptidaze (LAP) u krvnoj plazmi pilića ozračenih gama zračenjem (U/L) n=5

Skupina	1. dan	3. dan	5. dan	7. dan	9. dan	15. dan
Kontrolna	122±2,6	123±2,1	121±4,5	129±4,0	126±3,1	132±3,1
Pokusna	68±11,3	89±11,9	74±15,0	103±15,7	109±0,0	115±4,2

Aktivnost LAP u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je smanjena tijekom cijelog pokusnog razdoblja. Nađene razlike 1, 3, 5. i 9. dana statistički su značajne. Prvog dana pokusa razlika je značajna na razini 0,01 a 3, 5, i 9. dana pokusa na razini 0,05.

Makroskopskom i mikroskopskom pretragom organa i razuđenih životinja nisu nađene morfološke promjene.

Rezultati naših pokusa pokazali su da je aktivnost AST i LAP bila značajno smanjena u krvnoj plazmi pilića nakon ozračivanja gama-zrakama. Ovi rezultati su dakle u suprotnosti s rezultatima koje su iznijeli Miller i Gates (1), Milch i Albaum (2), Huges (3), te Miholjčić i sur (4), dok su u skladu s rezultatima koje su iznijeli Kraljević i sur. (5) i Kraljević i Emanović (6). Prva skupina autora je, naime, istraživala aktivnost enzima u krvnoj plazmi i krvnom serumu sisavaca poslije ozračivanja X-zrakama. Miller i Gates (1) istražujući aktivnost peptidaza u krvnoj plazmi pasa, zabilježili su porast aktivnosti peptidaza, dok su ostali autori (2,3,4) našli porast aktivnosti serumskih transaminaza u kunića i štakora poslije ozračivanja također X-zrakama.

Druga skupina autora -istraživala je aktivnost AST, ALT, laktat dehidrogenaze (LDH), alfa-hidroksi-butirat-dehidrogenaze (HBDH), gama-glutamil-dehidrogenaze (GGT) i LAP u krvnoj plazmi pilića nakon parenteralne aplikacije radioaktivnog fosfora ³²P, i našla da je aktivnost većine enzima bila značajno smanjena. Budući da je riječ o enzimima koji čine tzv. enzimski profil i koriste se za dijagnosticanje jetrinih oštećenja, autori su taj pad aktivnosti

enzima pripisali funkcionalnom oštećenju jetrinih stanica uzrokovanim ionizacijskim zračenjem ^{32}P nakon što se on ugradio u njih. Stoga pretpostavljamo da je i pad aktivnosti enzima zabilježen u našim pokusima također posljedica funkcionalnog oštećenja jetrinih stanica uzrokovanim vanjskim ozračivanjem, što je imalo za posljedicu smanjenu sintezu istraživanih enzima. Koji je pravi razlog razlikama između ovih rezultata i onih koje su zabilježili gore spomenuti autori (1,2,3,4) nakon ozračivanja sisavaca gama-zrakama teško je pouzdano reći, no vjerojatno je to razlika u osjetljivosti organa u sisavaca i u ptica. Naime, svojedobno su Bacq i Alexander (7) iznijeli da je jetra u ptica jednako osjetljiva na ionizacijsko zračenje kao i koštana moždina, sluznica tankog crijeva i slezena, što nije slučaj u sisavaca.

ZAKLJUČAK

Aktivnost istraživanih enzima u krvnoj plazmi može, čini se, poslužiti kao pokazatelj funkcionalnog oštećenja jetre u pilića uzrokovanim gama-zrakama, prije nego se pojave morfološke promjene na tom organu. No, u svakom slučaju potrebna su daljnja istraživanja u tom pravcu.

POPIS LITERATURE

1. Miller L L, Gates E. Univ. Rochester Atom. Energy Proj. UR-96; 1949: 13.
2. Milch L J, Albaum H G. Serum transaminaze activity in X-irradiated rabbits. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 93: 595-6.
3. Hughes L B. Los Alamos Scientific Laboratory. Rept 1958; 2157.
4. Miholjčić M, Radanović J, Jamakosmanović A, Nakaš M. Radioprotective action of 2-aminoethylisothiuronium bromide (AET) and mercaptoethylamine (MEA) on the activity of some enzymes: II. alanineaminotransferase activity in rat brain and liver extracts and in the serum under the conditions of radioprotector action and X-irradiation. Jugoslav Physiol Pharmacol Acta 1979; 15: 15-24.
5. Kraljević P, Emanović D, Mitin V, Gomerčić H, Kecerin B, Mazija H. Effect of radioactive isotope ^{32}P upon serum aminotransferases activity in chickens. Vet Arhiv 1982 ; 52(6): 241-5.
6. Kraljević P, Emanović D. The changes of serum enzyme activity as an indicator of radiation injuries in chickens. Period Biol 1993 ; 95 (2): 249-54.
7. Bacq E M, Alexander P. Fundamentals of radiobiology. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press, 1966.

AMINOTRANSFERASES AND LEUCINE AMINOPEPTIDASE ACTIVITY IN BLOOD PLASMA OF CHICKENS

Petar KRALJEVIĆ, Zvonko STOJEVIĆ, Saveta MILJANIĆ*,
Suzana MILINKOVIĆ-TUR, and Miljenko ŠIMPARAGA

Department of Physiology and Radiobiology, Veterinary Faculty, University of
Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb

* Ruđer Bošković Institute, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb

It has been reported that irradiation of mammals by gamma-rays cause increase of some enzyme activity in their blood plasma (Miller and Gates 1949; Milch and Albaum 1959; Hughes 1958; Miholjčić *et al.* 1979). In our previous papers (Kraljević *et al.*, 1982; Kraljević and Emanović 1993) it has been shown that activities of some enzymes in the blood plasma of chickens after an intramuscular injection of radioactive isotope ^{32}P . In this paper an attempt has been made to investigate the influence of gamma-ray irradiation of the whole body of chickens upon activity of some enzymes in their blood plasma. We also wanted to investigate whether the activity of aspartate-aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and leucine-aminopeptidase (LAP) may serve as an additional test for functional liver damage in chickens caused by gamma-ray.

Fifty day old hybrid male chickens of heavy Jata breeds were irradiated by gamma-ray in the dose of $7,23 \pm 0,95$ Gy. Blood samples were taken from the wing vein on days 1, 3, 5, 7, 9 and 15 after irradiation. Activity of AST, ALT, and LAP in the blood plasma were determined spectrophotometrically using Boehringer Mannheim GmbH optimized kits. At the end of the experiment all birds were sacrificed and, as well as died birds were photomorphologically and histologically investigated.

The obtained results showed decrease of activity of all three enzymes during the whole period of investigation, but significant decrease showed only AST and LAP. It seems that both enzymes may serve as additional test for functional liver damage in chickens by external gamma-rays.