



## AKTIVNOST TRANSFERAZA U KRVNOJ PLAZMI PILIĆA IZLEŽENIH IZ JAJA OZRAČENIH MALOM DOZOM GAMA- ZRAČENJA TIJEKOM INKUBACIJE

Petar Kraljević<sup>1</sup>, Marinko Vilić<sup>1</sup>, Saveta Miljanić<sup>2</sup> i Miljenko Šimpraga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zavod za fiziologiju i radiobiologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,  
Heizelova 55, 10000 Zagreb

<sup>2</sup>Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb  
e-mail: kraljev@vef.hr

### UVOD

U našim ranijim radovima [1,2,3] pokazali smo da je rast pilića izleženih iz jaja ozračenih gama-zračenjem dozom od 0,15 Gy prije inkubacije značajno veći tijekom toga nego u pilića koji su izleženi iz neozračenih jaja. Osim toga, aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST) i alanin-aminotransferaze (ALT), te koncentracija glukoze u krvnoj plazmi istih pilića bila je veća nego u kontrolne skupine pilića. Ovi su rezultati, prema tome, potvrdili rezultate Todorova i Dijanovskog [4] da male doze gama-zračenja mogu stimulirati neke metaboličke procese u peradi izleženih iz jaja ozračenih prije inkubacije. Ovog puta, međutim, pokušali smo istražiti učinak male doze gama-zračenja na aktivnost transferaza u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije, dakle u vrijeme kada je organogeneza u pilića dovršena [5,6].

### MATERIJAL I METODE

Pokuse smo načinili na pilićima hibridima toвне pasmine Avian (linija 34), oba spola, koji su se izlegli iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije dozom od 0,15 Gy gama-zračenja iz radioaktivnog izvora <sup>60</sup>Co panoramskog tipa (pokusna skupina). Zajedno s pokusnom skupinom imali smo i kontrolnu skupinu pilića izleženu iz neozračenih jaja. Svi ostali uvjeti bili su isti za obje skupine pilića. Tijekom toga pilići su hranu i vodu uzimali *ad libitum*. Piliće obje skupine odabrali smo nasumce, pa odnos spolova u pojedinoj skupini nismo točno utvrdili.

Krv za analizu uzimali smo iz srca, odnosno krilne vene u epruvete s heparinom kao antikoagulansom 1, 3, 5, 7, 10, 20, 30. i 42. dana pokusa.

Aktivnost obiju transferaza određivali smo spektrofotometrijski koristeći gotove komplete reagencija proizvođača Boehringer Mannheim GmbH.

Rezultate smo statistički obradili i prikazali kao aritmetičku sredinu skupine (M) zajedno sa srednjom greškom srednje vrijednosti (SE), a značajnost među razlikama provjerili smo t-testom po Studentu [7].

**REZULTATI**

Rezultati aktivnosti AST u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST) u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije dozom od 0,15 Gy gama-zračenja (U/L).

Starost pilića (dani)	Skupina pilića	Uzorak	M± SE
1.	Pokusna	10	180,80 ± 21,22
	Kontrolna	10	181,80 ± 7,62
3.	Pokusna	10	192,60 ± 17,20
	Kontrolna	10	204,00 ± 15,26
5.	Pokusna	10	186,80 ± 10,20
	Kontrolna	10	171,80 ± 7,83
7.	Pokusna	10	184,20 ± 8,73
	Kontrolna	10	176,00 ± 6,41
10.	Pokusna	10	168,30 ± 2,14*
	Kontrolna	10	149,60 ± 4,43
20.	Pokusna	10	157,40 ± 5,59**
	Kontrolna	10	176,40 ± 4,35
30.	Pokusna	10	160,20 ± 9,14
	Kontrolna	9	145,11 ± 5,70
42.	Pokusna	7	176,29 ± 8,80
	Kontrolna	8	186,00 ± 5,50

\*Značajnost razlike između aritmetičke sredine (M) pokusne i kontrolne skupine pilića na razini 0,1%

\*\*Značajnost razlike između aritmetičke sredine (M) pokusne i kontrolne skupine pilića na razini 2%

Aktivnost AST u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je statistički značajno povećana 10. dana pokusa ( $P < 0,001$ ) i iznosila je  $168,30 \pm 2,14$  U/L, dok je u kontrolnoj skupini pilića iznosila  $149,60 \pm 4,43$  U/L. Dvadesetog dana pokusa aktivnost istog enzima u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je statistički značajno smanjena ( $P < 0,02$ ) i iznosila je  $157,40 \pm 5,59$ , a u krvnoj plazmi kontrolne skupine pilića bila je  $176,40 \pm 4,35$  U/L.

Rezultati aktivnosti ALT u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije prikazani su u Tablici 2. Aktivnost ALT u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je 10. dana pokusa također statistički značajno povećana ( $P < 0,001$ ), i u prosjeku je iznosila  $13,00 \pm 1,42$  U/L, a u krvnoj plazmi kontrolne skupine pilića bila je  $5,80 \pm 1,21$  U/L. Aktivnost ALT u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je 20. dana pokusa statistički značajno manja nego u krvnoj plazmi

kontrolne skupine pilića ( $P < 0,0001$ ); u pokusnoj skupini je iznosila  $7,80 \pm 0,85$  U/L, a u kontrolnoj  $14,40 \pm 0,98$  U/L.

*Tablica 2.* Aktivnost alanin-aminotransferaze (ALT) u krvnoj plazmi pilića izleženi iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije dozom od 0,15 Gy gama-zračenja (U/L).

Starost pilića (dani)	Skupina pilića	Uzorak	M ± SE
1.	Pokusna	10	$6,90 \pm 1,13$
	Kontrolna	10	$9,80 \pm 1,31$
3.	Pokusna	10	$10,20 \pm 1,09$
	Kontrolna	10	$12,30 \pm 1,03$
5.	Pokusna	10	$9,00 \pm 0,89$
	Kontrolna	10	$9,90 \pm 1,64$
7.	Pokusna	10	$9,40 \pm 0,72$
	Kontrolna	10	$9,60 \pm 1,00$
10.	Pokusna	10	$13,00 \pm 1,42^*$
	Kontrolna	10	$5,80 \pm 1,21$
20.	Pokusna	10	$7,80 \pm 0,85^{**}$
	Kontrolna	10	$14,40 \pm 0,98$
30.	Pokusna	10	$5,60 \pm 0,95$
	Kontrolna	9	$6,90 \pm 1,60$
42.	Pokusna	7	$6,43 \pm 0,81$
	Kontrolna	8	$6,22 \pm 0,72$

\*Značajnost razlike između aritmetičke sredine (M) pokusne i kontrolne skupine pilića na razini 0,1%

\*\*Značajnost razlike između aritmetičke sredine (M) pokusne i kontrolne skupine pilića na razini 0,01%

## RASPRAVA

Rezultati pokusa pokazali su da je aktivnost obiju transferaza u krvnoj plazmi pilića koji su izleženi iz jaja ozračenih sedmog dana inkubacije dozom od 0,15 Gy gama-zračenja bila statistički značajno povećana 10. dana pokusa, a statistički značajno smanjena 20. dana pokusa. Ovi se rezultati razlikuju od rezultata dobivenih u pokusima na pilićima koji su bili izleženi iz jaja ozračenih prije inkubacije istom dozom zračenja. U tim je pokusima, naime, aktivnost obiju transferaza u krvnoj plazmi pilića bila statistički značajno povećana. Koji je pravi razlog ovim razlikama, za sada je teško reći. Pretpostavljamo da je razlog tim razlikama vrijeme ozračivanja jaja. Naime, aktivnost transferaza u krvnoj plazmi pilića koji su se izlegli iz jaja koja su bila ozračena prije inkubacije, bila je povećana kao posljedica stimulacijskog učinka male doze zračenja. Ti su rezultati

potvrdili rezultate autora koji su slične pokuse načinili na puranima i fazanima [4]. U sadašnjim pokusima kada su jaja ozračena 7. dana inkubacije, aktivnost transferaza u krvnoj plazmi pokusnih pilića bila je jednom povećana, a jednom smanjena. Koji je uzrok tome, teško je pouzdano reći. Ipak pretpostavljamo da bi uzroci mogli biti sljedeći: 1) to može biti posljedica stresa uzrokovanog ozračivanjem jaja tijekom inkubacije. Iako je naime, organogeneza u pilića 7. dana dovršena, razvoj plića ne samo da nije dovršen, već je tek u prvoj trećini pa je zbog toga stresa, inače očekivani stimulacijski učinak male doze gama-zračenja na aktivnost transferaza, "oslabljen" 20. dana pokusa, u prvome redu, vakcinacijom pilića protiv newcastelske bolesti 14. dana pokusa. Drugi pak razlog može biti u činjenici, koja usput podupire ovu prvu pretpostavku, da je koncentracija ukupnih bjelančevina u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih 7. dana inkubacije statistički značajno smanjena u prvome tjednu života [8]. Budući da pilići tijekom tova intenzivno rastu, potreba za bjelančevinama je sve veća. Da bi se njihova sinteza povećala, povećava se aktivnost transferaza. Zato 10. dana pokusa imamo povećanu aktivnost obiju transferaza u krvnoj plazmi pokusnih pilića.

## ZAKLJUČAK

Ozračivanje pilećih jaja dozom od 0,15 Gy gama-zračenja sedmog dana inkubacije uzrokuje porast aktivnosti AST i ALT u krvnoj plazmi pilića izleženih iz tih jaja 10. dana pokusa (tova), a pad njihove aktivnosti 20. dana pokusa. Dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata dobivenih na pilićima izleženim iz jaja ozračenim istom dozom zračenja prije inkubacije, kada je aktivnost obiju transferaza bila povećana u krvnoj plazmi pilića izleženih iz tih jaja. Uzrok nadenim razlika je, pretpostavljamo, vrijeme ozračivanja jaja.

## LITERATURA

- [1] Kraljević P, Mas N, Poljak Z, Šimpraga M, Miljanić S. Tjelesna masa i prirast tovnih pilića izvaljenih iz jaja ozračenih malom dozom gama zračenja prije inkubacije. Zbornik radova, Drugi hrvatski veterinarski kongres, Cavtat, 10.- 13. listopada, 2000., Hrvatska veterinarska komora i Veterinarski fakultet Zagreb, 2000. str. 693-696.
- [2] Kraljević P, Šimpraga M, Miljanić S, Čović A, Stojević Z. Effect of Low Doses Gamma- Radiation Upon Serum Amino Transferases Activity in Chickens. Book of Abstracts, 30<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society for Radiation Biology, Warszawa, 2000. str. 27-31.
- [3] Kraljević P, Šimpraga M, Miljanić S, Vilić M. Effect of Low Doses Gamma- Radiation Upon some Biochemical Indicators in Blood Plasma of Chickens. Proceedings of IRPA Regional Congress on Radiation Protection in Central Europe-Radiation Protection and Health, Dubrovnik, 20.-25. svibnja 2001., Hrvatsko društvo za zaštitu od zračenja, Zagreb, 2002. 3p-12.
- [4] Todorov B, Dijanovski P. Enzyme Activity in Blood Plasma of Turkey and Pheasant Received from Irradiated with Small Doses Gamma-Rays Eggs. Final Programme and Book of Abstracts of XV<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society of Nuclear Methods in Agriculture. European Society of Nuclear Methods in Agriculture, Piacenza, 1984.

- [5] Hamburger V, Hamilton H L. A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo. *Developmental dynamics* 1992; 195: 231-272.
- [6] Bellairs R, Osmond M. *The Atlas of Chick Development*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sidney, Tokio, Toronto, 1998.
- [7] Renner E. *Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung*. Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg, 1970. 34-36.
- [8] Vilić M, Kraljević P, Miljanić S, Šimpraga M. Koncentracija ukupnih bjelančevina u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih malom dozom gama-zračenja tijekom inkubacije. Zbornik radova Šestog simpozija Hrvatskoga društva za zaštitu od zračenja. 18-20. travnja 2005; Stubičke Toplice, Hrvatska (u tisku).

### **TRANSFERASES ACTIVITY IN BLOOD PLASMA OF CHICKENS HATCHED FROM EGGS IRRADIATED DURING INCUBATION BY LOW DOSE GAMMA RAYS**

*Petar Kraljević<sup>1</sup>, Marinko Vilić<sup>1</sup>, Saveta Miljanić<sup>2</sup> and Miljenko Šimpraga<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Heinzelova 55, HR-10000 Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Ruder Bošković Institute, Bijenička c. 54, HR-10000 Zagreb, Croatia

e-mail: kraljev@vef.hr

In our earlier studies chickens hatched from eggs irradiated with 0.15 Gy gamma rays before incubation showed a significantly higher growth than controls during the fattening period (1-42 days). The activity of aspartate-aminotransferase (AST), alanine-aminotransferase (ALT) and plasma glucose in the same chickens were also significantly higher. These results suggested that low-dose gamma-radiation stimulated certain metabolic processes in chickens hatched from eggs irradiated before incubation. The goal of this study was to determine the effects of low-dose ionising radiation on AST and ALT activity in the blood plasma of chickens hatched from eggs irradiated during incubation. The eggs of heavy breeding chickens (Avian, line 34) were exposed to 0.15 Gy of gamma-radiation (<sup>60</sup>Co) on the seventh day of incubation, i.e. at the time when the organogenesis in chickens is completed. The control group of chickens hatched from non-irradiated eggs. All other conditions were the same for both groups. After hatching, blood samples were taken from the wing vein on days 1, 3, 5, 7, 10, 20, 32 and 42. The activity of both enzymes was determined spectrophotometrically using Boehringer Mannheim GmbH optimised kits. On day 10, AST and ALT activity were significantly higher in the blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs, but it significantly dropped for both enzymes on day 20. Our results indicate that exposure of eggs to low-dose gamma-radiation on the seventh day of incubation affects AST and ALT activity in the blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs. However, this effect is somewhat different from the effects of egg exposure to low-dose gamma radiation before incubation.