

# KONCENTRACIJA BJELANČEVINA I BJELANČEVINSKIH FRAKCIJA U KRVNOJ PLAZMI PILIĆA IZLEŽENIH IZ JAJA OZRAČENIH MALOM DOZOM GAMA-ZRAČENJA

*Petar Kraljević<sup>1</sup>, Marinko Vilić<sup>1</sup>, Danica Matišić<sup>2</sup>, Saveta Miljanić<sup>3</sup> i  
Miljenko Šimpraga<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb

<sup>3</sup>Institut Ruđer Bošković, Zagreb

[kraljev@vef.hr](mailto:kraljev@vef.hr)

## UVOD

U našem ranijem radu [1] pokazali smo da ozračivanje kokošnjih jaja prije inkubacije dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja podstiče metabolizam u pilića izleženih iz tih jaja, što se očitovalo većim prirastom tijekom tova pilića i većom tjelesnom masom na kraju tova, tj. 42. dana života. Osim toga, u tih je pilića tijekom tova bila povećana aktivnost aspartat-aminotransferaze (AST) i alanin-aminotransferaze (ALT) u krvnoj plazmi. Budući da je zabilježen porast tjelesne mase u pilića izleženih iz jaja ozračenih malom dozom  $\gamma$ -zračenja prije inkubacije te porast aktivnosti aminotransferaza u krvnoj plazmi istih pilića, može se pretpostaviti da je koncentracija ukupnih bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi tih pilića također povećana. Naime, dobro je poznato da aminotransferaze imaju važnu ulogu u metabolizmu bjelančevina jer kataliziraju prijenos amino-skupine s amino-kiseline na keto-kiselinu [2,3]. Stoga smo u ovome radu istražili učinak male doze  $\gamma$ -zračenja na koncentraciju ukupnih bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih prije inkubacije, tijekom prvog tjedna života.

## MATERIJAL I METODE

Pokuse smo načinili na pilićima hibridima toвне pasmine Gent (linija Cobb 500) oba spola, izleženim iz jaja ozračenih  $\gamma$ -zrakama prije inkubacije dozom od 0,15 Gy iz radioaktivnog izvora <sup>60</sup>Co panoramaskog 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 tova pilići su hranu i vodu uzimali *ad libitum*.

Piliće obje skupine odabrali smo nasumce, pa odnos spolova u pojedinoj skupini nismo utvrdili.

Krv za analizu uzimali smo iz srca 1. i 3. dana i iz krilne vene 5. i 7. dana života u epruvete s heparinom kao antikoagulansom. Punu krv centrifugirali smo na 3000 o/min.

Koncentraciju ukupnih bjelančevina određivali smo u skupnom uzorku krvne plazme od 10 pilića (tj. svaki pojedinačni uzorak bio je sabran od krvi deset pilića, a ukupno je bilo deset takvih skupnih uzoraka) biuret metodom na spektrofotometru RA-1000 (Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, NY, SAD) koristeći gotove komplete reagencija proizvođača Boehringer Mannheim GmbH. Bjelančevinske frakcije određivali smo elektroforezom na trakicama geliranog celuloza acetata (Glob-Al Scan denzitometar).

Rezultate smo statistički obradili i prikazali kao aritmetičku sredinu skupine (M) zajedno sa srednjom pogreškom srednje vrijednosti (SE), a značajnost među razlikama provjerili smo t-testom po Studentu [4].

## REZULTATI

Rezultati koncentracije ukupnih bjelančevina u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih prije inkubacije i u krvnoj plazmi pilića izleženih iz neozračenih jaja prikazani su u Tablici 1.

*Tablica 1.* Ukupne bjelančevine (g/L) u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih prije inkubacije dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja (pokusna skupina) i u krvnoj plazmi pilića izleženih iz neozračenih jaja (kontrolna skupina).

Skupina pilića (n = 10)	Starost pilića (dani)			
	1 (M $\pm$ SE)	3 (M $\pm$ SE)	5 (M $\pm$ SE)	7 (M $\pm$ SE)
Pokusna skupina	24,20 $\pm$ 0,83	26,40 $\pm$ 0,37*	25,80 $\pm$ 0,49	25,00 $\pm$ 0,21**
Kontrolna skupina	25,40 $\pm$ 1,00	28,00 $\pm$ 0,67	24,20 $\pm$ 0,49	28,20 $\pm$ 0,39

\* P < 0,05; \*\* P < 0,001

Koncentracija ukupnih bjelančevina bila je značajno smanjena u krvnoj plazmi pilića izleženih iz ozračenih jaja 3. (P < 0,05) i 7. dana života (P < 0,001). Koncentracija bjelančevinskih frakcija, tj. albumina,  $\alpha_1$ -globulina,  $\alpha_2$ -globulina te  $\beta$ - i  $\gamma$ -globulina u krvnoj plazmi pilića izleženih iz jaja ozračenih prije inkubacije i u krvnoj plazmi pilića izleženih iz neozračenih jaja prikazana je u Tablici 2.

Tablica 2. Bjelančevinske frakcije (g/L) u krvnoj plazmi pilića izležanih iz jaja ozračenih prije inkubacije dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja (pokusna skupina) i u krvnoj plazmi pilića izležanih iz neozračenih jaja (kontrolna skupina).

Bjelančevinske frakcije	Skupina pilića (n=10)	Starost pilića (dani)			
		1 (M $\pm$ SE)	3 (M $\pm$ SE)	5 (M $\pm$ SE)	7 (M $\pm$ SE)
Albumini	Pokusna	12,17 $\pm$ 0,47	14,32 $\pm$ 0,27	14,39 $\pm$ 0,45	14,49 $\pm$ 0,27**
	Kontrolna	12,08 $\pm$ 0,46	14,46 $\pm$ 0,46	13,43 $\pm$ 0,25	15,81 $\pm$ 0,14
$\alpha_1$ - globulini	Pokusna	2,05 $\pm$ 0,11	1,97 $\pm$ 0,15	1,92 $\pm$ 0,32	1,55 $\pm$ 0,08
	Kontrolna	2,27 $\pm$ 0,15	2,84 $\pm$ 0,44	1,17 $\pm$ 0,14	1,64 $\pm$ 0,18
$\alpha_2$ - globulini	Pokusna	1,81 $\pm$ 0,07*	2,10 $\pm$ 0,08	2,12 $\pm$ 0,20	2,02 $\pm$ 0,10**
	Kontrolna	2,12 $\pm$ 0,11	2,86 $\pm$ 0,67	2,30 $\pm$ 0,18	2,85 $\pm$ 0,15
$\beta$ - i $\gamma$ - globulini	Pokusna	8,17 $\pm$ 0,31	8,01 $\pm$ 0,21	7,32 $\pm$ 0,31	6,90 $\pm$ 0,13*
	Kontrolna	8,92 $\pm$ 0,41	7,84 $\pm$ 0,76	6,49 $\pm$ 0,59	7,90 $\pm$ 0,26

\* P < 0,05; \*\* P < 0,001

Koncentracija albumina u krvnoj plazmi pilića izležanih iz ozračenih jaja prije inkubacije bila je značajno smanjena 7. dana života (P < 0,001). Koncentracija  $\alpha_2$ -globulina u krvnoj plazmi istih pilića bila je značajno smanjena 1. (P < 0,05) i 7. dana života (P < 0,001), a koncentracija  $\beta$ - i  $\gamma$ -globulina bila je smanjena u krvnoj plazmi pilića izležanih iz ozračenih jaja 7. dana života (P < 0,05).

## RASPRAVA

Rezultati pokusa pokazali su da je koncentracija bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi pilića izležanih iz jaja ozračenih dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja prije inkubacije bila smanjena tijekom prvih sedam dana života.

Ovi rezultati razlikuju se od rezultata dobivenih u pokusima na istim pilićima koji se odnose na aktivnost AST i ALT u krvnoj plazmi tijekom prvih sedam dana života [1]. Naime, aktivnost ALT u krvnoj plazmi pilića izležanih iz jaja ozračenih dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja prije inkubacije nije se značajno mijenjala tijekom prvih sedam dana života, dok je aktivnost AST bila značajno povećana samo 3. dana života. Koji je pak razlog smanjenju koncentracije ukupnih bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi pilića izležanih iz jaja ozračenih prije inkubacije tijekom

prvog tjedna života, teško je pouzdano reći. Ipak, čini se da ozračivanje pilećih jaja malom dozom gama zračenja prije inkubacije djeluje inhibitory na sintezu bjelančevina u pilića izleženih iz tih jaja.

Usporedimo li, međutim, koncentraciju ukupnih bjelančevina s koncentracijom bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi istih pilića razabrat ćemo da je i koncentracija albumina i globulina također bila smanjena. Svakako da je ovo smanjenje koncentracije albumina i  $\beta$ - i  $\gamma$ -globulina moglo imati za posljedicu smanjenje ukupnih bjelančevina u krvnoj plazmi pilića tijekom prvog tjedna života, jer upravo te frakcije najviše pridonose koncentraciji ukupnih bjelančevina [5]. No, koji je pravi uzrok hipoalbuminemiji, tj. padu koncentracije albumina u krvnoj plazmi pokusnih pilića tijekom trećeg dana (doduše to smanjenje nije bilo statistički značajno) i 7. dana pokusa, u ovom je trenutku teško reći. Može se prepostaviti da je to posljedica inhibicijskog učinka male doze zračenja na, ponajprije, stanice jetre, ali i na stanice retikulo-endotelnog sustava. Ovu pretpostavku temeljimo na rezultatima Brandta i sur. [6], Heima i Schechtmana [7], Vanstonea i sur. [8], Sturkia [5] i Chena i sur. [9] koji su pokazali da jetra, koliko god bila morfološki razvijena u prvome tjednu embrionalnoga razvoja, ne uspostavlja u cijelosti svoju funkciju sve do desetoga dana embrionalnoga razvoja. Stoga se ne može isključiti ni mogućnost da ozračivanje jaja na početku embrionalnog razvoja nije utjecalo na funkciju jetre u prvome tjednu života pilića u smislu smanjenja njezine anaboličke aktivnosti.

## **ZAKLJUČAK**

Ozračivanje kokošnjih jaja dozom od 0,15 Gy  $\gamma$ -zračenja prije inkubacije, uzrokuje pad koncentracije bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u krvnoj plazmi pilića izleženih iz tih jaja tijekom prvoga tjedna života. Zabilježeno smanjenje koncentracije bjelančevina i bjelančevinskih frakcija u prvome tjednu života, moguće je posljedica inhibicijskog učinka korištene doze  $\gamma$ -zračenja prije inkubacije na anaboličku aktivnost stanica jetre, ali i retikulo-endotelnog sustava u ranoj fazi života pilića.

## **Zahvala**

Rad je izrađen uz novčanu potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

## LITERATURA

- [1] Kraljević P, Vilić M, Miljanić S, Šimpraga M. Body weight and enzymes activities in blood plasma of chickens hatched from eggs irradiated with low level gamma rays before incubation. *Acta Vet (Beograd)* 2009;59:503-511.
- [2] Coles HE. *Veterinary Clinical Pathology*. 3<sup>th</sup> edition. Philadelphia-London-Toronto, Saunders Company, 1990. ISBN 0-7216-2644-0.
- [3] Guyton CA, Hall TE. *Textbook of Medical Physiology*. 11<sup>th</sup> edition. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006. ISBN 0-7216-0240-1.
- [4] Renner E. *Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung*. Berlin-Hamburg, Verlag Paul Perey, 1970;34-36.
- [5] Sturkie PD, *Avian Physiology*. 5<sup>th</sup> edition. San Diego, Boston, New York; Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press, 2000. ISBN 0-12-747605-9.
- [6] Brandt LW, Clegg R.E., Andrews A.C. The effect of age and degree of maturity on the serum proteins of the chicken. *J Biol Chem*;1951;191:105-111.
- [7] Heim WG, Schechtman AM. Electrophoretic analysis of the serum of the chickens during development. *J Biol Chem* 1954;209:241-247.
- [8] Vanstone WE, Maw WA, Common RH. Levels and partition of the fowl's serum proteins in relation to age and egg production. *Can J Biochem Physiol* 1955;33:891-903.
- [9] Chen S, Cai L, Li X, Liu SZ. Low-dose whole-body irradiation induces alteration of protein expression in mouse splenocytes. *Toxicol Lett* 1999;105:141-152.

## CONCENTRATION OF PROTEINS AND PROTEIN FRACTIONS IN BLOOD PLASMA OF CHICKENS HATCHED FROM EGGS IRRADIATED WITH LOW LEVEL GAMMA RAYS

*Petar Kraljević<sup>1</sup>, Marinko Vilić<sup>1</sup>, Danica Matišić<sup>2</sup>, Saveta Miljanić<sup>3</sup>  
and Miljenko Šimpraga<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Ruder Bošković Institute, Zagreb, Croatia

[kraljev@vef.hr](mailto:kraljev@vef.hr)

In literature there are many results which have shown that low dose radiation can stimulate many physiological processes of living organism. In our earlier paper it was shown that low dose of gamma radiation has a stimulative effect upon metabolic process in chickens hatched from eggs irradiated before incubation. This was proved by increase of body weight gain and body weight, as well as by increase of two enzymes activities in blood plasma (aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase) which play an important role in protein metabolism. Therefore, an attempt was made to determine the effect of eggs irradiation by low dose gamma rays upon concentration of total proteins and protein fractions in the blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs. The eggs of heavy breed chickens were irradiated with a dose of 0.15 Gy gamma radiation (<sup>60</sup>Co) before incubation. Along with the chickens which were hatched from irradiated eggs, there was a control group of chickens hatched from nonirradiated eggs. All other conditions were the same for both groups of chickens. Blood samples were taken from the right jugular vein on the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> day, or from the wing vein on days 5 and 7 after hatching. The total proteins concentration in the blood plasma was determined by the biuret method using Boehringer Mannheim GmbH optimized kits. The protein fractions (albumin,  $\alpha_1$ -globulin,  $\alpha_2$ -globulin,  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins) were estimated electrophoretically on Cellogel strips. The total proteins concentration was significantly decreased in blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs on days 3 ( $P < 0.05$ ) and 7 ( $P < 0.001$ ). The albumin concentration in the blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs was significantly decreased on the 7<sup>th</sup> day ( $P < 0.001$ ), and the concentration of  $\alpha_2$ -globulin was decreased on days 1 ( $P < 0.05$ ) and 7 ( $P < 0.001$ ). Beta- and  $\gamma$ -globulins concentration was significantly decreased on the 7<sup>th</sup> day of life. Obtained results indicate that low dose of gamma radiation has mostly inhibitory effect upon concentration of total proteins and protein fractions in the blood plasma of chickens hatched from irradiated eggs before incubation.