

Wskaźniki przemiany białkowej w surowicy krwi lisic polarnych w zależności od wieku zwierząt

MONIKA BOGUSŁAWSKA-TRYK, ROMAN SZYMECZKO, ANNA PIOTROWSKA,
KATARZYNA BURLIKOWSKA, STANISŁAW KUBACKI*

Katedra Fizjologii Zwierząt, *Zakład Hodowli Koni i Zwierząt Futerkowych Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt UTP,
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Bogusławska-Tryk M., Szymeczko R., Piotrowska A., Burlikowska K., Kubacki S.

Protein metabolism parameters in blood serum of polar foxes female in relation to age of animals

Summary

The aim of the research was to determine values of selected parameters of protein metabolism and enzyme activities in blood serum of female polar foxes of different ages after the post-reproduction and post-lactation recovery period. During the experiment, 50 healthy fox vixens from a domestic breeding farm were examined. The animals were divided into 5 age groups ($n = 10$), from 1 until 5-years-of-age. In blood serum samples total protein, protein fractions, urea and creatinine concentration were determined along with the activities of the enzymes: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH). There were no statistically significant age-dependent differences among biochemical parameters values in the blood of the experimental animals. The only thing noted was a tendency of an increased total protein level in the vixen's blood with age and following the reproduction season.

Keywords: polar fox, age, biochemical parameters

Poziom białek osocza krwi oraz aktywność enzymów regulujących przemianę azotową informują bezpośrednio o intensywności metabolizmu białkowego, a jednocześnie są czułym wskaźnikiem stanu zdrowia organizmu. Wartości tych parametrów wykazują dużą zmienność, zależną od gatunku, rasy, płci, wieku, pory roku, stanu fizjologicznego i stopnia odżywienia ustroju (1, 3, 4, 6-8, 10, 12, 14, 19, 21, 22, 24). U lisów tempo metabolizmu warunkowane jest głównie wiekiem oraz porą roku. Według Berestova (4), u tego gatunku zwierząt wskaźniki metabolizmu białka są wysokie w okresie letnim, podczas gdy aktywność enzymów warunkujących przemianę węglowodanową jest najwyższa w okresie zimy, co odzwierciedla zmiany adaptacyjne wewnętrznych mechanizmów ustrojowych regulujących procesy metaboliczne w odpowiedzi na zmiany warunków środowiska.

Wysokie tempo metabolizmu u młodych, rosnących zwierząt mięsożernych udokumentowane jest licznymi pracami (4, 7, 12, 14, 19, 22, 24). Brak jest natomiast w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących kształtowania się wskaźników przemian białkowych u lisów dorosłych, w zależności od wieku i kolejnego sezonu reprodukcyjnego.

Celem badań było określenie wartości wybranych wskaźników przemiany białkowej i aktywności enzymów w surowicy krwi lisic polarnych w zależności od wieku, po zakończonym okresie regeneracji po rozrodzie i laktacji.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 50 samicach lisa polarnego pochodzących z krajowej fermi reprodukcyjnej, w okresie spokoju płciowego, po zakończonym okresie regeneracji po rozrodzie i laktacji. Samice podzielono na 5 grup doświadczalnych ($n = 10$): samice jednoroczne (grupa I), dwuletnie (grupa II), trzyletnie (grupa III), czteroletnie (grupa IV) i pięcioletnie (grupa V). Stan ogólny lisic był dobry, wszystkie samice były klinicznie zdrowe, a liczba odchowanych przez nie szczeniąt w ostatnim okresie reprodukcyjnym wynosiła od 7 do 10 sztuk. W skład standardowych dawek pokarmowych stosowanych w fermie w tym okresie hodowlanym wchodziły: odpady drobiowe, odpady rybne, mączka mięsno-kostna, zboża ekstrudowane, olej rzepakowy i mieszanka mineralno-witaminowa. Koncentracja energii metabolicznej (EM) w 1 kg paszy wynosiła 1700 kcal, a rozdział EM z białka, tłuszczu i węglowodanów wynosił, odpowiednio: 29%, 54%, 17% i odpowiadał normom żywieniowym (2, 11, 16).

Krew do badań pobierano z żyły ramieniowej w godzinach rannych, przed karmieniem zwierząt. W uzyskanych próbkach surowicy krwi oznaczono poziom białka całkowitego i jego frakcji, zawartość mocznika i kreatyniny oraz aktywność wybranych enzymów: aminotransferazy asparaginianowej (AST) i alaninowej (ALT) oraz dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Poziom białka całkowitego oznaczono metodą biuretową za pomocą analizatora hematologicznego Advia 1650 i not aplikacyjnych firmy Bayer. Zawartość frakcji białkowych określono metodą elektroforezy na żelu agarozowym z wykorzystaniem zastawu aparatury firmy Beckman i not aplikacyjnych firmy Beckman Coulter. Zawartość kreatyniny w prób-

kach surowicy krwi oraz aktywność enzymów AST, ALT i LDH oznaczono metodą spektrofotometryczną, natomiast poziom mocznika określono metodą enzymatyczną na analizatorze Advia 1650 z wykorzystaniem oryginalnych odczynników firmy Bayer.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, stosując analizę wariancji z wykorzystaniem programu Statistica 5.5 PL. Istotność różnic ustalono przy $p < 0,05$.

Wyniki i omówienie

W tabeli 1 przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości białka całkowitego i jego frakcji, mocznika i kreatyniny oraz aktywność enzymów AST, ALT i LDH w surowicy krwi lisic polarnych w różnym wieku. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wartościach badanych parametrów biochemicznych w krwi samic doświadczalnych. Zawartość białka całkowitego wahała się w granicach od $66,67 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ (samice jednoroczne) do $71,94 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ (samice pięcioletnie), wykazując tendencję wzrostu wraz z wiekiem i kolejnym sezonem reprodukcyjnym. Należy zaznaczyć, że zawartość tego składnika w surowicy krwi lisic polarnych wszystkich grup wiekowych mieściła się w granicach wartości referencyjnych określonych dla dorosłych osobników tego gatunku zwierząt (4, 18). Odnotowany, nieznaczny wzrost koncentracji białka całkowitego wynikał ze wzrostu zawartości albumin i globulin, w tym głównie frakcji gamma globulin i alfa 1 globulin w surowicy krwi lisic polarnych. Wartość wskaźnika albuminy : globuliny w surowicy krwi kształtowała się na wyrównanym poziomie we wszystkich grupach doświadczalnych. Wiadomo, iż całkowita zawartość białka, jak i frakcji białkowych w krwi zwierząt mięsożernych waha się w szerokich granicach i zależy w głównej mierze od gatunku oraz wieku zwierząt, a zmiany w ilości białka całkowitego w krwi są najczęściej następstwem zmniejszenia się ilości albumin i towarzyszącego temu zjawisku zwiększenia ilości globulin. Stosunkowo niska po uro-

dzeniu koncentracja białka całkowitego w krwi wzrasta wraz z wiekiem zwierząt, a najintensywniejszy wzrost i największą dynamikę zmian obserwuje się w okresie wzrostu i rozwoju somatycznego organizmu (4, 5, 18, 19, 21-24). Przeprowadzone przez Vajdovicha i wsp. (22) i Trylanda i wsp. (21) badania na psach i niedźwiedziach polarnych w różnym wieku (przed zakończeniem wzrostu somatycznego, u dorosłych i starych zwierząt) wykazały zwiększający się wraz z wiekiem poziom białka całkowitego i frakcji globulin oraz względnie stały poziom albumin w surowicy krwi. Zdaniem autorów tych badań, wzrost frakcji globulin spowodowany był głównie zwiększeniem ilości gamma globulin u starszych zwierząt, co można tłumaczyć dłuższą immunostymulacją organizmu przez różne antygeny. Według Berestova (4), względny, procentowy udział albumin, alfa globulin, beta globulin i gamma globulin w krwi dorosłych lisów polarnych waha się, odpowiednio, w granicach: 52,0-53,0%, 14,9-16,0%, 17,0-17,1% i 14,0-16,1% poziomu białka całkowitego. W przeprowadzonych badaniach w krwi lisic polarnych stwierdzono niższy względny udział frakcji albumin (44,6-48,3%) i alfa globulin (13,7-14,5%), wyższy udział frakcji beta globulin (24,6-27,4%) oraz porównywalny poziom frakcji gamma globulinowej (12,8-15,4%).

Koncentracja mocznika i kreatyniny w krwi lisic doświadczalnych kształtowała się, odpowiednio, w granicach: od $6,86$ do $8,01 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oraz od $93,81$ do $96,54 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ i mieściła się w zakresie norm fizjologicznych określonych dla dorosłych zwierząt mięsożernych (3, 4, 23). Badania prowadzone na szczeniach w wieku od 2 tyg. do 12. miesiąca życia wykazały, iż podwyższony w początkowym okresie życia postnatalnego poziom mocznika obniża się w pierwszych 6-8 tygodniach życia, a następnie stopniowo wzrasta, osiągając poziom stwierdzany u osobników dorosłych (19, 24). Badania prowadzone na młodych (do 1 roku życia) i dorosłych (powyżej 1 roku życia) wolno żyjących lisach kalifornijskich i kojotach oraz

młodych i starych psach nie wykazały zależnych od wieku, istotnych różnic w koncentracji mocznika w krwi (7, 17, 19, 22), co potwierdzają wyniki przeprowadzonych badań własnych. Liczne badania prowadzone na zwierzętach mięsożernych dowodzą, iż zmieniające się wraz z wiekiem zwierząt stężenie kreatyniny w krwi jest skutkiem zmieniającej się masy ciała. Koncentracja kreatyniny, jako produktu prawidłowego metabolizmu mięśniowego, wzrasta wraz

Tab. 1. Wskaźniki przemiany białkowej w surowicy krwi lisic polarnych ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

Wskaźniki	Grupa				
	I	II	III	IV	V
Białko całkowite, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$66,67 \pm 4,08$	$69,99 \pm 2,72$	$70,52 \pm 4,47$	$70,31 \pm 2,66$	$71,94 \pm 5,35$
Albuminy, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$30,72 \pm 1,68$	$32,53 \pm 3,15$	$32,21 \pm 4,20$	$33,98 \pm 3,45$	$32,09 \pm 3,60$
Globuliny, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$35,95 \pm 4,00$	$37,46 \pm 3,97$	$38,31 \pm 6,22$	$36,33 \pm 2,79$	$39,85 \pm 4,75$
Alfa 1 globuliny, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$5,65 \pm 0,87$	$6,24 \pm 0,63$	$6,58 \pm 0,84$	$6,50 \pm 1,42$	$6,73 \pm 0,72$
Alfa 2 globuliny, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$3,50 \pm 0,52$	$3,47 \pm 0,36$	$3,68 \pm 0,53$	$3,39 \pm 0,49$	$3,70 \pm 0,39$
Beta globuliny, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$18,26 \pm 2,37$	$18,06 \pm 2,02$	$17,72 \pm 2,87$	$17,31 \pm 1,94$	$18,60 \pm 3,83$
Gamma globuliny, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	$8,52 \pm 2,34$	$9,69 \pm 2,96$	$10,28 \pm 3,77$	$9,15 \pm 1,61$	$10,82 \pm 2,52$
Albuminy : Globuliny	$0,86 \pm 0,11$	$0,89 \pm 0,17$	$0,87 \pm 0,23$	$0,95 \pm 0,16$	$0,82 \pm 0,16$
Mocznik, $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$7,91 \pm 1,19$	$6,86 \pm 0,84$	$8,01 \pm 2,37$	$7,22 \pm 0,84$	$7,98 \pm 1,12$
Kreatynina, $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	$95,58 \pm 5,55$	$94,13 \pm 7,95$	$96,64 \pm 9,08$	$93,81 \pm 7,13$	$96,45 \pm 10,70$
AST, $\text{IU} \cdot \text{l}^{-1}$	$56,05 \pm 8,16$	$60,71 \pm 25,45$	$58,54 \pm 13,99$	$65,17 \pm 11,67$	$63,60 \pm 14,79$
ALT, $\text{IU} \cdot \text{l}^{-1}$	$104,72 \pm 25,69$	$132,09 \pm 67,16$	$87,38 \pm 33,63$	$113,55 \pm 37,11$	$91,43 \pm 19,15$
LDH, $\text{IU} \cdot \text{l}^{-1}$	$175,36 \pm 44,10$	$157,55 \pm 67,80$	$172,81 \pm 87,19$	$180,95 \pm 49,14$	$184,81 \pm 59,67$

z masą mięśni (19, 22, 24), a u starych zwierząt może ulec obniżeniu wskutek zwiększonego katabolizmu białek mięśniowych oraz utraty masy mięśniowej (8, 19). Zbliżony poziom mocznika i kreatyniny w surowicy krwi lisic doświadczalnych, utrzymywanych w fermie w standardowych warunkach, może świadczyć o podobnym nasileniu przemian białkowych w organizmach samic w przedziale wieku od 1 roku do 5 lat oraz wyrównanej masie ciała zwierząt wykorzystanych w badaniach.

W przeprowadzonym badaniu nie stwierdzono istotnych statystycznie, zależnych od wieku lisic zmian w aktywności badanych enzymów. Aktywność w surowicy krwi aminotransferaz asparaginianowej i alaninowej, głównych enzymów biorących udział w metabolizmie białka, wahała się, odpowiednio, w granicach od 56,05 do 65,17 IU·l⁻¹ (AST) oraz od 87,38 do 132,09 IU·l⁻¹ (ALT), natomiast aktywność dehydrogenazy mleczanowej, będącej kluczowym enzymem w metabolizmie węglowodanów, w granicach od 157,55 do 184,81 IU·l⁻¹. Aktywność AST, ALT i LDH w surowicy krwi wykazuje dużą zmienność zależną od gatunku zwierząt, wieku, płci, pory roku oraz żywienia (3, 4, 6, 7, 9, 10, 12-14, 19, 21-24). Zależną od wieku zmienność w aktywności aminotransferaz stwierdzono u lisów polarnych w pierwszych miesiącach ich życia. Według Berestova (4), wzrost aktywności AST i ALT u 2- i 3-miesięcznych lisiąt związany jest z intensywnym wzrostem szceniąt. Ponowny wzrost aktywności obu enzymów w 6. miesiącu życia lisiąt towarzyszy procesowi dojrzewania płciowego i jesiennemu zwiększaniu masy ciała. Podobną tendencję zmian w surowicy krwi szceniąt obserwuje się w aktywności dehydrogenazy mleczanowej. U lisów dorosłych, po zakończonym okresie wzrostu i rozwoju, głównym czynnikiem wpływającym na aktywność AST, ALT i LDH jest pora roku (4, 7). Poziom aminotransferazy asparaginianowej w surowicy krwi lisów wzrasta w okresie wiosennym i letnim (do lipca), a następnie ulega wyraźnemu obniżeniu w miesiącach jesiennych. Podobna tendencja sezonowych wahań, choć słabiej zaznaczona, występuje również w koncentracji aminotransferazy alaninowej. Najwyższą aktywność dehydrogenazy mleczanowej w krwi lisów stwierdza się w miesiącach zimowych, co w powiązaniu ze zmianami aktywności AST i ALT odzwierciedla zależne od pory roku zmiany w metabolizmie białek i węglowodanów w organizmach dorosłych lisów (4). Przyjmuje się, że w stanie zdrowia zarówno u ludzi, jak i zwierząt, aktywność AST w surowicy krwi jest wyższa od aktywności ALT (4, 20). W krwi badanych lisic wszystkich grup wiekowych stwierdzono 1,5-2-krotnie wyższą aktywność aminotransferazy alaninowej w stosunku do aktywności aminotransferazy asparaginianowej. Mimo że podwyższony poziom ALT w surowicy krwi jest często sygnałem zmian patologicznych wątroby, to ten wskaźnik winien być interpretowany w połączeniu z innymi występującymi klinicznymi objawami (19). Zwiększony poziom ALT w stosunku do AST w krwi lisic doświadczalnych mógł być spowodowany porą roku (obniżona aktywność AST w miesiącach jesiennych) oraz wysokim udziałem w diecie energii metabolicznej z tłuszczu (1, 4, 15).

Podsumowanie

Przeprowadzone badania nie wykazały istotnych statystycznie, zależnych od wieku lisic, różnic w wartościach wskaźników przemiany białkowej (białko całkowite i jego frakcje, mocznik, kreatynina) oraz aktywności wybranych enzymów (AST, ALT, LDH) w surowicy krwi. Odnotowano jedynie tendencję wzrostu wraz z wiekiem zwierząt poziomu białka całkowitego w krwi. Uzyskane wyniki wskazują na wyrównany poziom przemian metabolicznych w organizmie reprodukcyjnych lisic utrzymywanych w fermie w standardowych warunkach.

Piśmiennictwo

1. Ahlström Ø., Skrede A.: Fish oil as an energy source for blue foxes (*Alopex lagopus*) and mink (*Mustela vison*) in the growing-furring period. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1995, 74, 146-156.
2. Anon.: NRC.: Nutrient Requirements of Mink and Foxes. National Academy Press, Washington D.C. 1982.
3. Benn D. M., McKeown D. B., Lumsden J. H.: Hematology and biochemistry reference values for the ranch fox. *Can. J. Vet. Res.* 1986, 50, 54-58.
4. Berestov V. A.: Haematology and Clinical Chemistry of Fur Animals. Scientifur, Finland 1989.
5. Briend-Marchal A., Chapellier P., Perret D., Braun J. P., Guelfi J. F.: Comparaison de l'hémogramme, de la vitesse de sédimentation, de la fibrinogénémie et des protéines sériques de chiens âgés (≥ 10 ans) et de chiens adultes (1 à 8 ans) en bonne santé. *Revue Méd. Vét.* 2003, 154, 629-632.
6. Crooks K. R., Garcelon D. K., Scott Ch. A., Wilcox J. T., Timm S. F., Van Vuren D. H.: Hematology and serum chemistry of the island spotted skunk on Santa Cruz island. *J. Wildlife Dis.* 2003, 39, 460-466.
7. Crooks K. R., Scott Ch. A., Bowen L., Van Vuren D.: Hematology and serum chemistry of the island fox on Santa Cruz island. *J. Wildlife Dis.* 2000, 36, 397-404.
8. Harper E. J.: Changing perspectives on aging and energy requirements: aging and digestive function in humans, dogs and cats. *J. Nutr.* 1998, 128, 2632-2635.
9. Harper E. J., Hackett R. M., Wilkinson J., Heaton P. R.: Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, 223, 1436-1442.
10. Ilukha V. A., Usenbaeva L. B., Kozhevnikova L. K., Tyutyunnik N. N., Unzhakov A. R.: The changes of some blood indices of fur animals in the lactation period. *Scientifur* 1996, 20, 48-53.
11. Jarosz S.: Normy żywienia mięsożernych i roślinożernych zwierząt futerkowych. Wartość pokarmowa pasz. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielańskiego, Jabłonna 1994.
12. Kley S., Tschudi P., Busato A., Gaschen F.: Establishing canine clinical chemistry reference values for the Hitachi 912 using the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommendations. *Comp. Clin. Path.* 2003, 12, 106-112.
13. Kopczewski A., Bis-Wencel H., Saba L., Sławoń J., Ondrašovič M., Wnuk W.: Wpływ zróżnicowanego poziomu żywienia wysokoenergetycznego oraz antyoksydantów na parametry biochemiczne surowicy lisów polarnych. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 616-619.
14. Kraft W., Hartmann K., Dereser R.: Altersabhängigkeiten von Laborwerten bei Hund und Katze. Teil I: Enzymaktivitäten im Blutserum. *Tierärztl. Prax.* 1995, 23, 502-508.
15. Rouvinen-Watt K.: Nutrient management in carnivore fur bearers. *Scientifur* 2000, 24, 25-35.
16. Sławoń J.: Żywienie lisów i norek. PWRiL, Warszawa 1987.
17. Smith G. J., Rongstad O. J.: Serologic and hematologic values wild coyotes in Wisconsin. *J. Wildlife Dis.* 1980, 16, 491-497.
18. Stankiewicz W.: Hematologia weterynaryjna. PWRiL, Warszawa 1973.
19. Swanson K. S., Kuzmuk K. N., Schook L. B., Fahey G. C.: Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *J. Anim. Sci.* 2004, 82, 1713-1724.
20. Szczeklika E.: Enzymologia kliniczna. PZWL, Warszawa 1974.
21. Tryland M., Brun E., Derocher A. E., Arnemo J. M., Kierulf P., Ølberg R. A., Wiig Ø.: Plasma biochemical values from apparently healthy free-ranging polar bears from Svalbard. *J. Wildlife Dis.* 2002, 38, 566-575.
22. Vajdovich P., Gál T., Szilágyi A., Harnos A.: Changes in some red blood cell and clinical laboratory parameters in young and old Beagle dogs. *Vet. Res. Comm.* 1997, 21, 463-470.
23. Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. SGGW, Warszawa 2004.
24. Wolford S. T., Schroer R. A., Gohs F. X., Gallo P. P., Falk H. B., Dente A. R.: Effect of age on serum chemistry profile, electrophoresis and thyroid hormones in beagle dogs two weeks to one year of age. *Vet. Clin. Pathol.* 1988, 17, 35-42.

Adres autora: dr inż. Monika Bogusławska-Tryk, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz; e-mail: monikab@utp.edu.pl