

POZIOM AMINOTRANSFERAZ (AspAT, AlAT), W SUROWICY KRWI I TREŚCI ŻWACZA JAKO WSKAŹNIK STOPNIA WYKORZYSTANIA BIAŁKA

Maria Krełowska-Kulas

Instytut Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej AR w Krakowie
Dyrektor: prof. dr hab. Stanisław Trela

W związku z poszukiwaniami ścisłych i obiektywnych wskaźników przyszłej użytkowości zwierząt gospodarskich coraz większą uwagę zwraca się na wskaźniki biochemiczne i ich związek z różnymi kierunkami produkcji.

W ostatnich latach jednym z wielu wskaźników, który próbuje się stosować w doświadczeniach żywionych jest test enzymatyczny polegający na oznaczaniu aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alaninowej (AlAT) w surowicy krwi i treści żwacza [1, 4, 5].

Procesy przemiany materii w większości są reakcjami enzymatycznymi, prawidłowy ich przebieg uwarunkowany jest prawidłową czynnością enzymów. W organizmie zwierzęcym równocześnie z nieustanną syntezą nowych cząstek białka odbywa się ich rozkład na aminokwasy pod działaniem wewnątrzkomórkowych peptydohydrolaz. Aminotransferaza asparaginianowa (AspAT) i alaninowa (AlAT) należą do enzymów związanych z przemianą aminokwasów i białek. W biosyntezie aminokwasów transaminacja gra główną rolę. Reakcja ta polega na bezpośrednim przetrzuceniu grupy aminowej z aminokwasu na odpowiedni ketokwas i jest katalizowana przez aminotransferazy. Aktywność tych enzymów jest ściśle uzależniona od stężenia metabolitów, czyli peptydów i aminokwasów.

W piśmiennictwie jest niewiele informacji o zależności pomiędzy składem dawki pokarmowej a aktywnością aminotransferaz (AspAT, AlAT) w surowicy krwi i treści żwacza przeżuwaczy.

Celem badań było oznaczenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej we krwi i treści żwacza krów i skopów w żywieniu zimowym i letnim.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie żywieniowe oraz testy enzymatyczne wykonano w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym Akademii Rolniczej w Krakowie (w Mydlnikach) na 36 krowach rasy ncb w wieku 3-4 lat i 16 skopach w wieku 2 lat, rasy długowłnistej owcy polskiej odmiany rząskowskiej.

Krowy żywione były w okresie od maja do października paszą zieloną systemem wypasu kwaterowego, zielonką z uprawy polowej, wysłódkami buraczanymi suchymi, i mieszanką treściwą. Skopy korzystały z pastwiska i pasz tych samych co krowy. W okresie żywienia zimowego krowy i skopy otrzymywały: siano łąkowe, wysłódki buraczane suche, kiszonkę z kukurydzy i mieszankę treściwą (tab. 1). Krowy i skopy żywiono indywidualnie według norm [11] dwa razy dziennie.

Wszystkie badania wykonywano cztery razy w ciągu roku, w połowie i pod koniec żywienia pastwiskowego oraz w połowie i pod koniec żywienia oborowego.

Podstawową analizę chemiczną pasz oznaczano metodą weendeńską [9]. Krew do badań pobierano z żyły jarzmowej przed odpasem, w 2

Tabela 1

Skład chemiczny pasz w %
Chemical composition of fodder in %

Pasze — Feeds	Sucha masa Dry matter	Popiół Ash	Substancje organiczne Organic matter	Białko ogólne Crude protein	Ekstrakt eterowy Ether extract	Włókno Crude fibre	Bezazotowe wyciągowe N-free extract
Siano łąkowe Meadow hay	85,10 100,00	8,14 9,56	76,96 90,43	8,43 9,90	2,15 2,52	24,29 28,54	42,09 49,45
Wysłódki buraczane suche Sugar beet pulp-dried	93,45 100,00	3,78 4,04	89,67 95,95	8,81 9,43	1,00 1,07	17,38 18,59	62,48 66,85
Kiszonka z kukurydzy Maise silage	19,29 100,00	3,43 17,78	15,86 82,21	1,51 7,83	0,86 4,46	5,77 29,91	7,72 40,02
Słoma jęczmienna Barley straw	93,79 100,00	5,76 6,14	88,03 93,86	4,25 4,53	1,53 1,62	40,50 43,18	41,76 44,52
Mieszanka treściwa Concentrate mixture	86,44 100,00	6,15 7,11	80,29 92,88	12,44 14,39	3,90 4,57	7,15 8,27	60,75 70,27
Zielonka pastwiskowa Pasture harbage	11,98 100,00	1,16 9,68	10,82 90,32	2,41 20,12	0,47 3,02	3,37 28,13	4,57 38,15
Zielonka — trawy łąkowe Green food-meadow grass	15,30 100,00	1,29 8,43	14,01 91,57	3,18 20,78	0,81 5,29	3,64 23,79	6,38 41,70

i 5 godzin po zjedzeniu pasz. W surowicy krwi oznaczano azot mocznika metodą Conway'a [3]. Oznaczanie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (EC 2.6.1.1.) i aminotransferazy alaninowej (EC 2.6.1.2.) w surowicy krwi wykonano metodą kolorymetryczną Reitmana i Frankela [6] przy użyciu testów Fermognost GOT-Test i GPT-Test.

Treść żwacza pobierano za pomocą sondy przełykowej, sączono przez gazę i wirowano. Treść żwacza pobierano przed spożyciem paszy i po upływie 2 i 5 godzin od zjedzenia pasz. W treści żwacza oznaczano azot amoniakalny według Chalmers i współpr. [2] mikrodyfuzyjną metodą Conway'a [3]. Obie aminotransferazy oznaczano według metody Reitmana i Frankela [6] przy użyciu testów Fermognost GOT-Test i GPT-Test, a otrzymane wartości przeliczono na jednostki międzynarodowe w 100 ml płynu żwaczowego.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Zawartość azotu mocznika w surowicy krwi krów i skopów tak w okresie zimowym, jak i letnim, była znacznie wyższa ($P < 0,05$) w 2 godziny po odpasie niż przed podaniem karmy, i w 5 godzin po karmieniu (tab. 2). Stwierdzono istotną różnicę w ilości azotu mocznika w 2 godziny po karmieniu pomiędzy żywieniem letnim a zimowym. Więcej azotu mocznika w surowicy krwi wykazywały w okresie żywienia letniego tak krowy, jak i owce, w porównaniu do żywienia zimowego.

U krów i skopów stwierdzono podwyższenie aktywności AspAT i AlAT w surowicy krwi w 2 godziny po odpasie ($P < 0,05$) w porównaniu do aktywności przed karmieniem i w 5 godzin po spożyciu karmy. Stwierdzono wzrost aktywności obu aminotransferaz w surowicy krwi krów i skopów w okresie żywienia pastwiskowego ($P < 0,05$) w stosunku do żywienia w okresie zimowym. Wyniki otrzymanych aktywności enzymów (AspAT, i AlAT) mieszczą się w granicach wyników uzyskanych przez innych autorów [7, 8, 10].

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej w treści żwacza krów i skopów znacznie ($P < 0,05$) wzrosła w 2 godziny po spożyciu dawki pokarmowej w porównaniu do aktywności na czczo, i w 5 godzin po karmieniu. Wskazuje to na szybki wzrost natężenia przemian białkowych w przedżołądkach w 2 godziny po odpasie. Uzyskano także wyższe ($P < 0,05$) aktywności dla obu aminotransferaz w żywieniu letnim w porównaniu do żywienia zimowego (tab. 3). Może to wskazywać na możliwość powstawania pewnych destrukcyjnych zmian w tkankach zwierząt otrzymujących zielonkę, wynikających ze zwiększonej podaży amoniaku.

Zawartość azotu amoniaku w treści żwacza krów i skopów była wyż-

Wyniki oznaczeń w surowicy krwi
Some indices in blood serum

Wyszczególnienie Specification	Żywnienie zimowe — Feeding winter		Żywnienie letnie — Feeding summer		
	przed karmieniem before feeding	po karmieniu after feeding	przed karmieniem before feeding	po karmieniu after feeding	
					2 godz. 2 h
Krowy — Cows					
Azot mocznika, mg%	8,94 ± 0,81	12,67 ± 0,90	8,99 ± 0,71	13,12 ± 0,66	10,14 ± 0,50
Urea nitrogen					
Aminotransferaza asparaginowa (AspAT) j.m.	26,10 ± 2,50	32,20 ± 3,03	30,16 ± 2,80	36,29 ± 3,00	31,13 ± 3,12
Asparagine transaminase (AspAT)					
Aminotransferaza alani- nowa (AlAT) j.m.	7,67 ± 1,82	10,42 ± 1,60	10,98 ± 1,90	15,35 ± 2,00	12,06 ± 1,70
Alanine transaminase (AlAT)					
Skopy — Wethers					
Azot mocznika, mg%	8,89 ± 0,50	12,21 ± 0,92	10,26 ± 0,98	13,71 ± 0,94	11,44 ± 0,70
Urea nitrogen					
Aminotransferaza asparaginowa (AspAT) j.m.	24,20 ± 4,00	34,62 ± 3,80	28,17 ± 3,72	38,15 ± 3,50	28,55 ± 2,90
Asparagine transaminase (AspAT)					
Aminotransferaza alani- nowa (AlAT) j.m.	6,34 ± 1,44	13,33 ± 1,62	8,61 ± 1,62	19,00 ± 1,60	10,23 ± 1,22
Alanine transaminase (AlAT)					

Wyniki oznaczeń wykonanych w treści żwacza Indices determined in rumen fluid content

Wyszczególnienie Specification	Żywnienie zimowe — Feeding winter				Żywnienie letnie — Feeding summer			
	przed karmieniem		po karmieniu		przed karmieniem		po karmieniu	
	before feeding	2 godz. 2 h	after feeding	5 godz. 5 h	before feeding	2 godz. 2 g	after feeding	5 godz. 5 h
Krowy — Cows								
Azot amoniakalny, mg% Ammonia nitrogen	6,14 ± 1,03	11,04 ± 0,90	9,26 ± 0,92		8,47 ± 0,84	19,16 ± 0,40		10,00 ± 0,62
Aminotransferaza asparaginowa (AspAT) j.m./100 ml	15,88 ± 4,00	17,13 ± 3,82	16,12 ± 3,60		16,71 ± 3,86	45,31 ± 3,77		20,19 ± 3,59
Asparagine transaminase (AspAT) j.m./100 ml	23,02 ± 1,20	44,39 ± 1,10	30,06 ± 0,99		25,00 ± 0,86	48,53 ± 1,12		35,35 ± 1,35
Aminotransferaza alani- nowa (AlAT) j.m./ 100 ml								
Alanine transaminase (AlAT)				Skopy — Wethers				
Azot amoniakalny, g% Ammonia nitrogen	7,22 ± 0,77	12,14 ± 0,24	8,69 ± 0,68		7,06 ± 0,56	18,18 ± 0,80		10,23 ± 0,93
Aminotransferaza aspara- ginowa (AspAT) j.m./100 ml	14,99 ± 3,00	21,53 ± 2,50	18,02 ± 3,72		17,02 ± 4,01	40,18 ± 3,91		22,17 ± 3,52
Asparagine transaminase (AspAT)								
Aminotransferaza alani- nowa (AlAT) j.m./ 100 ml	21,63 ± 0,94	40,13 ± 1,77	31,77 ± 0,96		24,63 ± 1,14	49,06 ± 1,10		37,23 ± 1,39
Alanine transaminase (AlAT)								

sza ($P < 0,05$) w 2 godziny po nakarmieniu niż przed podaniem pasz i w 5 godzin po karmieniu. Wyższą zawartość azotu amoniaku stwierdzono także w żywieniu letnim niż w żywieniu zimowym.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że:

1. Aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alani-
nowej (AlAT) w surowicy krwi i treści żwacza zależy od jakości pasz
zawartych w dawce pokarmowej.

2. Każdorazowe pobranie pasz przez krowy i skopy powoduje w
2 godziny po zjedzeniu pasz wzrost aktywności aminotransferaz w su-
rowicy krwi i w płynie żwacza w porównaniu do poziomu przed kar-
mieniem.

3. Dawki pokarmowe stosowane w zimie wywierają mniejszy wpływ
na działalność aminotransferaz (AspAT, AlAT) niż dawki paszowe z u-
działem zielonek.

LITERATURA

- Boots L. R., Ludwick T. M.: Plasma Glutamic-Oxalacetic and Glutamic-Pyruvic Transaminase Activities in Holstein Cattle. I. Effects of Stage of Lactation, Gestation and Level of Milk Production. *J. Dairy Sci.*, 53, 4, 1970, 449-452.
- Chalmers M. J., Cutberston D. P., Synge R. L. M.: Ruminal ammonia formation in relation to the protein requirement of sheep. I. Duedenal administration and heat processing as factors influencing the fate of casein supplements. *J. Agric. Sci.*, 44, 1954, 254.
- Conway E. J.: Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error. Crosby Lockwood and Son, London 1947.
- Kluczek J. P.: Zmiany transaminaz (GOT i GPT) w surowicy krwi owiec merynos polski w następstwie strzyży. *PTPN*, 29, Poznań 1970, 209-217.
- Króliczek A.: Aktywność enzymatyczna płynu żwacza krów i jałówek jako funkcja żywienia. *Zesz. nauk. WSR Wroc.*, Zoot. 18, 97, 1972, 47-80.
- Reitman S., Frankel S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pathol.* 28, 6, 1957, 56-63.
- Rekib A., Sadhu D. P.: Transaminase activity in the rumen liquor of sheep. *Brit. J. Nutrition*, 22, 3, 1968, 325-329.
- Schönmath G., Wilke A., Bergner H., Wirthgen B., Münchmeyer R.: Beziehungen zwischen verschiedenen Genotypen beim Rind und einigen biochemischen und physiologischen Kennwerten. 1. Mitteilung: Untersuchungen zur Aktivität von GOT, GPT und OCT im Blutserum von Laktierenden Rindern sowie zum Sedimentationsverhalten der Serumproteine. *Arch. Tierzucht* 9, 6, 1966, 411-420.
- Wiegner G.: Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen. Praktikum, Berlin 1938.
- Zimowski A.: Aktywność transaminaz GOT i GPT oraz aldolazy w surowicy klinicznie zdrowego bydła, koni i owiec. *Med. wet.* 21, 12, 1965, 740-743.
- Normy żywienia zwierząt gospodarskich, PWRiL Warszawa 1972.

М. Креловска-Кулас

УРОВЕНЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ (AspAT, AlAT) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
И СОДЕРЖИМОМ РУБЦА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ
СТЕПЕНИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕИНА

Резюме

Целью соответствующих исследований являлась оценка активности аминотрансферазы аспаргата (AspAT EC 2.6.1.1) и аланина (AlAT EC 2.6.1.2.) в крови и содержимом рубца коров и валухов в летнем и зимнем кормлении. Опыты с кормлением и энзимные тесты проводились на 36 коровах и 16 валухах. Установлено, что активность аминотрансферазы аспаргата (AspAT) и аланина (AlAT) в сыворотке крови и содержимом рубца обусловлена качеством кормов входящих в состав рациона. При каждом кормлении коров и валухов спустя два часа после кормления у них возрастает активность аминотрансфераз в сыворотке крови и жидкости рубца в сравнении с уровнем до кормления. Рационы, применяемые в зимний период оказывают меньшее влияние на действие аминотрансфераз, чем летние рационы.

М. Kretowska-Kulas

THE TRANSAMINASE LEVEL (AspAT, AlAT) IN BLOOD SERUM
AND RUMEN CONTENTS AS AN INDEX OF PROTEIN UTILIZATION

Summary

The aim of the respective investigations was to estimate asparagine (AspAT EC 2.6.1.1) and alanine (AlAT EC 2.6.1.2) transaminases in blood serum and rumen contents of cows and wethers in winter and summer. Feeding and enzymatic tests were carried out on 36 cows and 16 wethers. It has been found that asparagine (AspAT) and alanine (AlAT) transaminase activity in blood serum and rumen contents depends on the quality of feeds in the diet composition. Each feed intake by cows and wethers increased two hours after feeding the transaminase activity in blood serum and rumen contents, as compared to the level before feeding. Diets applied in winter months affected to a less extent the transaminase activity than summer diets.