

ODNOS DEBLJINE KERATINSKOG SLOJA SISNOG KANALA VIMENA KRAVA I KONCENTRACIJE CINKA U KRVNOM SERUMU^{1*}

Ivana Davidov², Miodrag Radinović¹, Mihajlo Erdeljan¹,
Zorana Kovačević¹, Dragica Stojanović²

¹Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

²Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Kratak sadržaj

Sa mini farme krava holštajn-frizijske rase kapaciteta 30 grla, starosti između 3 i 5 godina, izabrano je 15 krava, kojima je merena vrednost cinka u krvnom serumu. Analizom uzoraka krvnih seruma uočena su variranja koncentracija cinka krvnog seruma. Od 15 ispitivanih krava kod 11 (73,33%) su ustanovljene vrednosti cinka krvnog seruma ispod fizioloških za visoko-mlečne krave. Kod ogledne grupe krava ustanovljene su različite vrednosti debljine keratinskog sloja sisnog kanala. Na osnovu statističke analize, primenom testa korelacije, utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava što ukazuje da vrednosti cinka ispod fizioloških granica uslovljavaju tanji keratinski sloj sisnog kanala.

Ključne reči: keratinski sloj, sisani kanal, cink, krvni serum, krava

^{1*} Rad je rezultat istraživanja na projektu Ministarstva prosvete i nauke RS, TR 31071

² E-mail: ivanadav@polj.uns.ac.rs

RELATIONSHIP BETWEEN KERATIN LAYER OF DUCTUS PAPILLARIS AND ZINC BLOOD SERUM CONCENTRATION IN DAIRY COWS

Ivana Davidov^{1*}, Miodrag Radinović¹, Mihajlo
Erdeljan¹, Zorana Kovačević¹,
Dragica Stojanović²

¹Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Novi Sad

²Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad

Abstract

The experiment was carried out on a mini farm of Holstein-Friesian cows with 30 animals, aged between 3 and 5 years and the zinc level in serum was measured. The analyses of the blood samples indicated a variation in the concentration of zinc in serum. In 11 out of 15 tested cows (73.33%) the zinc values in serum were below the physiological values for high-milking cows. In the experimental group different thickness of the keratin layer was detected in the teat canal. The statistical analysis showed a positive correlation between the concentration of zinc in cow serum and the thickness of teat canal keratin layer. This indicates that the cows with low values of zinc have thin keratin layer of the teat canal.

Key words: keratin layer, teat canal, zinc, blood serum, cow

UVOD

Visoko mlečne krave gube znatne količine minerala u vreme laktacionog perioda, tako da im se mora obezbediti dovoljna količina mineralnih materija u obroku. Mineralne materije su potrebne životinjama za jačanje skeleta i za sve vitalne funkcije organizma. Makroelementi su potrebni u većim količinama, i među njih spadaju Ca, P, Mg, K, Na, Cl i S, dok su mikroelementi potrebni u manjim količinama tj. u tragovima i u njih spadaju Fe, Cu, Co, J, Mn, Zn, Se, Mo i F. Mikroelementi su neophodni za očuvanje homeostaze, ali prevelike doze nekih mikroelemenata, kao što su Cu, Mo i Se, mogu imati toksičan efekat.

Cink je esencijalni element za biljke, životinje i čoveka. Ulazi u sastav enzima koji sprečavaju aktivnost slobodnih radikala (Vallee and Falchuk, 1993; Prasad et al., 2004; Gressley, 2009), ima značajnu ulogu u imunološkom odgovoru organizma (Weiss and Spears, 2006), kao i u očuvanju intergiteta kože (Sordillo et al., 1997; Tomlison et al., 2004; 2008). Takođe ima uticaja na smanjenje broja somatskih ćelija u mleku krava (Kellogg et al., 2004). Mlečnoj

žlezdi kao organu koji predstavlja derivat kože, za razvoj je neophodan cink (Tomlison et al., 2004; 2008), zbog formiranja keratinskog sloja u sisnom kanalu (*ductus papillaris*).

Količina cinka u hrani varira i zavisi od količine cinka u zemljištu, od vrste biljaka i od dela biljke. Smatra se da količina cinka u biljkama sa zemljišta teritorije Srbije iznosi između 25 i 50 mg/kg suve materije (Obračević, 1990). Trave obično sadrže od 30 do 50 mg Zn/kg suve materije, dok leguminoze sadrže veće količine (Kolarski, 1995).

Vrlo je malo literaturnih podataka o uticaju cinka iz hrane na zdravlje mlečne žlezde. Ipak je nekoliko studija objavljeno o uticaju dodatka cinka u hrani na broj somatskih ćelija. U istraživanjima Kellogg (1990), Tomlinson et al. (2002), Whitaker i sar., (1997) i Van Saun (2009) uočeno je da svakodnevno dodavanje cinka u hranu za krave, dovodi do pada broja somatskih ćelija u mleku.

Aдекватna koncentracija cinka u hrani, a posledično i u krvi, pozitivno utiče na pravilan imunski odgovor, dok deficit cinka dovodi do nepravilnog funkcionisanja imunskog sistema i nepravilne keratinizacije (Hutcheson, 1989; Reddy i Frey, 1990). Prvu liniju odbrane vimena krava predstavlja sisni kanal (Giesecke i sar., 1972; Miller i sar., 1992; Paulrud, 2005), koji je sa unutrašnje strane obložen keratinskim slojem (Seykora i Mc Daniel, 1985; Sordillo i Nickerson, 1988; Uppal i sar., 1994). Davidov i sar. (2010, 2011) su utvrdili da debljina keratinskog sloja varira i da ta variranja u debljini imaju uticaja na očuvanost morfologije i funkcije parenhima vimena krava.

Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja koncentracije cinka krvnog seruma na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava.

MATERIJAL I METODE

Sa jedne mini farme Južno-bačkog okruga kapaciteta 30 krava holštajn-frizijske rase 15 krava je bilo uključeno u istraživanje. Ogledna grupa je obuhvatala 15 krava, starosti od 3 do 5 godina, za koje su postojali podaci o povećanju broja somatskih ćelija u mleku i pojavi kliničkih mastitisa. Krave su držane u štalском sistemu sa pristupom pijačoj vodi 24 sata.

Uzorci krvi su uzimani dva puta iz repne vene (*vena coccygea*), koja daje najbolji uvid u stanje mlečne žlezde. Pre uzimanja uzoraka krvi urađena je dezinfekcija mesta uboda, tako što je koža repa oprana tekućom vodom, obrišana suvom čistom krpom i na kraju očišćena alkoholom, po principu asepse i antiseptike.

Uzorci krvi su sakupljeni u desetomilitarskim vakutajner epruvetama (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions UK) sa antikoagulantom

K3E u količini od 0,072 ml. Izvađenja krv u vakutajner epruveti je nežno mućkana 8 puta zbog mešanja antikoagulansa vakutajner epruvete sa uzetom krvlju. Svaka vakutajner epruveta je obeležena i transportovana u Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“ u Novom Sadu. Priprema uzoraka je izvršena metodom vlažne digestije u sistemu Ethos, Microwave Labstation, Milestone. Koncentracije cinka su određene tehnikom spregnute plazme na instrumentu Agilent ICP-MS 7700 preko izotopa ^{66}Zn uz upotrebu inertnog gasa helijuma. Korišćeni su standardi za cink-AccuTrace Reference Standard, AA70N-1, Lot B9025027. Integraciono vreme za cink je iznosilo 0.1 s po tački.

Od 15 krava uključenih u ogled, 3 krave su poslate na ekonomsko iskorišćavanje i od njih su uzeta vimena za dalja histološka ispitivanja. Svaka papila vimena krava je otvorena uzdužnim rezom, zbog uvida u sisni kanal, koji je meren klasičnim metrom, radi utvrđivanja njihove dužine u mm. Debljina keratinskog sloja sisnog kanala je takođe merena tokom histološke analize, a njena debljina je izražena u μm . Analiza histoloških preparata je rađena na Leica mikroskopu.

Sve analize korelacije su rađene u Microsoft Exel programu kao i svi grafikoni.

REZULTATI I DISKUSIJA

Obzirom da adekvatna koncentracija cinka u hrani, a samim tim i u krvi, pozitivno utiče na pravilan imunski odgovor, deficit cinka dovodi do nepravilnog funkcionisanja imunskog sistema i nepravilne keratinizacije.

Na početku istraživanja, uzimani su uzorci krvi oglednoj grupi krava, za merenje koncentracija cinka krvnog seruma. Uzorke je bilo neophodno uzeti radi dobijanja početnog stanja koncentracija cinka kod ogledne grupe krava.

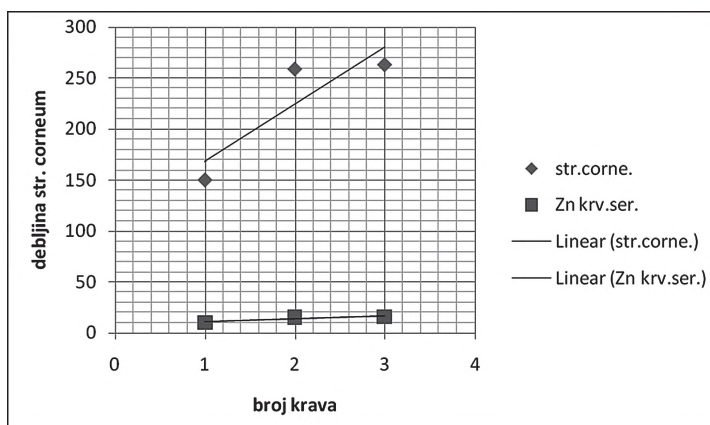
Na početku ispitivanja, kod oglednih krava vrednosti cinka krvnog seruma bile su u intervalu od 4,95 do 16,75 $\mu\text{mol/l}$ (Tabela 1). Kod 11 krava (73,33%) izmerene su vrednosti koje su ispod donje fiziološke granice za koncentraciju cinka kod visoko mlečnih krava (fiziološke vrednosti cinka od 7 do 13 $\mu\text{mol/l}$).

Tabela 1. Koncentracija cinka u krvnom serumu krava na početku istraživanja

red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$
1.	10,33	6.	5,8	11.	6,64
2.	14,91	7.	9,98	12.	14,22
3.	15,12	8.	11,66	13.	7,13
4.	12,5	9.	7,46	14.	12,71
5.	16,75	10.	4,95	15.	9,98

Sisni kanal sa svojim keratinskim slojem predstavlja vezu između spoljašnje sredine i unutrašnjosti mlečne žlezde. Debljine keratinskog sloja sisnih kanala vimena krava ispitivane grupe su neujednačene, što odgovara nalazima drugih autora (Miller i sar., 1992; Paulrud, 2005; Davidov i sar., 2010, 2011).

Upoređivanjem koncentracije cinka u krvnom serumu krava koje su poslate na ekonomsko iskorišćavanje i debljine njihovih keratinskih slojeva sisnog kanala vimena, uočeno je da krave sa višom koncentracijom cinka u krvnom serumu imaju deblji keratinski sloj sisnog kanala (Grafikon 1).



Grafikon 1. Odnos koncentracije cinka krvnog seruma i debljine keratinskog sloja sisnog kanala krava

Statističkom analizom utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava (Tabela 2), što ukazuje da porast koncentracije cinka krvnog serumu ne utiče na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala.

Tabela 2. Test korelacije koncentracije cinka krvnog seruma i debljine keratinskog sloja sisnog kanala krava

Broj krava	Zn μmol/l	Keratinski sloj μm
1.	10,36	150,5
2.	15,58	258,75
3.	15,96	263
KORELACIJA		0,999624

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može se zaključiti postojanje različitih debljina keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava, kao i različite vrednosti koncentracije cinka u krvnom serumu krava. Pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava ukazuje da cink nije imao uticaj na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala.

LITERATURA

1. Davidov, I., Radinović, M., Boboš, S., Mašić, Z., Lalošević, D.: Odnos različitih debljina keratinskog sloja ductus papillaris-a i infiltrata leukocita u parenhimu vimena krava. *Veterinarski glasnik*, 65, 5-6, 293-460, 2010.
2. Davidov I., Radinovic M., Stojanović, D.: Uticaj stratum corneum-a ductus papillaris-a na očuvanost parenhima vimena krava. *Arhiv veterinarske medicine*, 4, 1, 3-10, 2011.
3. Giesecke W.H., Gerneke W.H., van Rensburg I.B.J.: The morphology of bovine teat canal- A preliminary report, *J. S. Afr. Vet. Ass.* 43, 351-354, 1972.
4. Gressley T.F.: Zinc, copper, manganese and selenium in dairy cattle rations. *Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference*, pp. 65-71, 2009.
5. Hutcheson D.P.: Nutritional factors affect immune response in cattle. *Feedstuffs*. 61, 16-24, 1989.
6. Kellogg D.W.: Zinc methionine affects performance of lactating cows. *Feedstuffs* Aug. 20, 15-20, 1990.
7. Kellogg D.W., Tomlinson D.J., Socha M.T. and Johnson A.B.: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: twelve- trial summary. prof. *Anim. Sci.* 20, 295-301, 2004.
8. Kolarski D.: Osnovi ishrane domaćih životinja. Beograd: Naučna knjiga, 1995.
9. Miller, R. H., Bitman J., Bright, S. A., Wood D. L. and Capuco, A. V.: Effect of clinical and subclinical mastitis on lipid composition of teat canal keratin. *J. Dairy Sci.* 75, 1436-1442, 1992.
10. Obračević Č.: Osnovi ishrane domaćih životinja. Beograd: Naučna knjiga, 1990.
11. Paulrud, C.O.: Basic Concept of the Teat Canal. *Veterinary Research Communication*, 29, 215-245, 2005.
12. Prasad A.S., Bao B., Beck Jr. F.W., Kucuk O. and Sarkar F.H.: Antioxidant effects of zinc in humans. *Free Radic. Biolo. and Med.* 37, 1182-1190, 2004.

13. Reddy P.G. and Frey R.A.: Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 35, 255-281, 1990.
14. Seykora A.J. and McDaniel B. T.: Udder and teat morphology related to mastitis resistance. *J. Dairy Sci.* 68, 2087-2093, 1985.
15. Sordillo, L. M. and Nickerson, S. C.: Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *Amer. J. Vet. Res.* 19, 49, 1112-1118, 1988.
16. Sordillo L.M., Shafer-Weaver K. and DeRosa D.: Immunobiology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 80, 1851-1865, 1997.
17. Tomlinson D.J., Socha M.T., Rapp C.J. and Johnson A.B.: Summary of twelve trials evaluating the effect of feeding complexed zinc methionine on lactation performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 106-111, 2002.
18. Tomlinson D.J., Mulling C.H. and Fakler T.M.: Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals and vitamins in functional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87, 797-809, 2004.
19. Tomlinson D.J., Socha M.T. and DeFrain J.M.: Role of trace minerals in the immune system. Proc. Penn. State. *Dairy Cattle Nutrition Workshop*, pp. 39-52, 2008.
20. Uppal, S.K., Singh, K.B., Nauriyal, D.C. and Bansal, B.K.: Natural defense mechanisms against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. *Buffalo Journal* 2, 125-131, 1994.
21. Vallee B.L. and Falchuk K.H.: The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.* 73, 79-118, 1993.
22. Van Saun R.J.: Ration approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs* 15, 15-21, 1990.
23. Weiss W.P. and Spears J.W.: Vitamin and trace mineral effect on immune function of ruminants. In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. (Eds.), *Ruminant Physiology*. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands, pp. 473-496, 2006.
24. Whitaker D.A., Eayres H.F., Aitchison K. and Kelly J.M.: No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate and somatic cell count in dairy cows. *Vet. J.* 153, 197-204, 1997.

Primljeno: 15.09.2012.
Odobreno: 01.11.2012.