

REFERENTNI OPSEG VREDNOSTI INDEKSA INSULINSKE SENZITIVNOSTI KOD KRAVA U RANOJ LAKTACIJI

Marko R. Cincović²⁵, Branislava Belić¹, Milenko Stevančević¹, Bojan Toholj¹,
Jože Starič²⁶, Ozren Smolec²⁷, Miloš Petrović¹, Talija Hristovska¹

REZIME

Insulinska rezistencija je mehanizam kojim se omogućuje započinjanje laktacije i obezbeđivanje potrebne energije za laktaciju koja sledi kod krava u ranoj laktaciji. Ona se odlikuje smanjenom proizvodnjom insulina ili smanjenom osetljivošću tkiva (pre svega masnog) na insulin. Merenje insulinske rezistencije se vrši različitim testovima, a za praktičnu primenu od posebnog interesa je određivanje indeksa insulinske senzitivnosti koji se baziraju na vrednostima insulina, glukoze i NEFA u krvi u bazalnim uslovima. U ovom radu je ispitana vrednost tri indeksa insulinske senzitivnosti (HOMA, QUICKI i RQUICKI) kod 40 krava Holštajn-frizijske rase. Indikatori insulinske senzitivnosti imali su sledeće prosečne vrednosti: $18,5 \pm 4,1$ (HOMA), $0,36 \pm 0,06$ (QUICKI) i $0,51 \pm 0,1$ (RQUICKI). Referentni opsezi u rasponu od 2,5 do 97,5 kvantila iznosili su: 10,172-26,978 (HOMA), 0,235-0,479 (QUICKI) i 0,296-0,722 (RQUICKI). Dalja istraživanja treba usmeriti na određivanje vrednosti ovih indeksa kod krava sa različitim bolestima i kod krava u pozitivnom energetsom bilansu.

Ključne reči: krave, indeksi insulinske senzitivnosti, referentni opseg.

25 Dr Marko R. Cincović, docent; Dr Branislava Belić, red.prof.; Dr Milenko Stevančević, red.prof.; Dr Bojan Toholj, docent; dvm Miloš Petrović, doktorant; dvm Talija Hristovska, doktorant; Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad. Ovaj rad je deo projekta TR31062, podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R.Srbije i projekta međunarodne saradnje br. 114-451-1998/2014-01 podržanog od strane Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj AP Vojvodine.

26 Dr Jože Starič, docent, Klinika za preživare, Veterinarska Fakulteta Ljubljana, Slovenija

27 Dr Ozren Smolec, docent, Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju, Veterinarski fakultet Zagreb, Hrvatska.

*Ovaj rad je deo projekta TR31062, podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R.Srbije i projekta međunarodne saradnje br. 114-451-1998/2014-01 podržanog od strane Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj AP Vojvodine.

UVOD

Insulinska rezistencija predstavlja stanje u kome je smanjen biološki efekat insulina, kada kompenzatorno može doći do povećanja njegove koncentracije (Cefalu, 2001). Insulinska rezistencija se karakteriše smanjenim odgovorom insulina na glukozu tj. smanjenom funkcijom beta ćelija pankreasa (eng., *insulin hyporesponsiveness*) i/ili smanjenom osetljivošću glukoze na insulin tj. smanjenim ulaskom glukoze u tkivo pod dejstvom insulina (eng., *insulin sensitivity*) (De Koster i Opsomer, 2013). Sa aspekta receptora insulinska rezistencija može biti prerceptorska (smanjena sekrecija i/ili povećana degradacija insulina), receptorska (smanjen broj receptora i/ili smanjen njihov afinitet za vezivanje insulina) i postreceptorska (defekt u ćelijskoj signalizaciji i translokaciji transportera za glukozu) (Hayirli, 2006).

Rezistencija na insulin u peripartalnom periodu je neophodna kako bi vime, kao organ u kom upotreba glukoze nije zavisna od insulina, dobilo dovoljno hranljivih materija i energije za započinjanje laktacije. Fenomen insulinske rezistencije najjače je izražen posle partusa. Odgovor insulina na glukozu je snižen, dok je klirens glukoze veći u postpartalnom periodu, u odnosu na prepartalni (Holtenius i sar., 2003; Bossaert i sar., 2008). Povišena koncentracija NEFA je u vezi sa sniženom osetljivošću masnog tkiva na insulin kod krava koje nisu u laktaciji ili sa smanjenim klirensom glukoze i insulina posle opterećenja glukozom kod mlečnih krava (Oikawa i Oetzel, 2006). Visok nivo koncentracije NEFA inhibira insulinom stimulisanu upotrebu glukoze u skeletnim mišićima i vrši supresiju glukogenolize u jetri (Hayirli, 2006).

Sve metode se mogu podeliti na: direktne (hiperinsulinemijski euglikemijski klamp, test supresije insulina), indirektne (minimalni model analiza iz često uzimanih uzoraka krvi tokom intravenskog glukoza tolerans testa, oralni glukoza tolerans test, intravenski glukoza tolerans test) i surogat metode (indeksi dobijeni iz bazalne koncentracije insulina i glukoze gde spadaju indeksi $1/\text{insulin}$, insulin:glukoza odnos, HOMA-Homeostatic model assessment, QUICKI- Quantitative insulin sensitivity check index, RQUICKI- Revised quantitative insulin sensitivity check index; kao i indeksi dobijeni iz dinamičkih testova gde spadaju Matsuda indeks, Gutt indeks, Avignon indeks i Stimvoll indeks). Za sve indekse insulinske rezistencije postoje tačno određene formule kao i karakteristična tumačenja (Singh i Saxena, 2010).

Cilj ovog rada je da se utvrde referentni opsezi za indekse insulinske senzitivnosti HOMA, QUICKI i RQUICKI kod krava u ranoj laktaciji.

MATERIJAL I METODE RADA

Krave, uzorkovanje, laboratorija – Ogled je izvršen na 40 krava Holštajn-frizijske rase u drugoj i trećoj laktaciji, koje nisu pokazale nikakve znake poremećaja zdravlja u predhodnoj laktaciji, a imale su proizvodnju mleka oko 7000 litara. Krave su hranjene

miksovanim obrokom kojim se zadovoljavaju kompletne potrebe krava. Krave su uzimale vodu *ad libitum*. U prvoj nedelji posle teljenja, u periodu 3-7 dana krv je uzeta i u njoj određena koncentracija insulina (ELISA metod, Cusabio kit), NEFA i glukoze (spektrofotometrijski, Randox kit).

Indeksi insulinske senzitivnosti - Ispitivanje insulinske rezistencije određeno je pomoću tri indikatora insulinske rezistencije, a to su HOMA, QUICKI i RQUICKI. Korišćene su sledeće formule za izračunavanje ovih indikatora: HOMA = glukoza (mmol/l) x insulin (μ U/mL); QUICKI = $1 / [\log(\text{glukoza mg/dL}) + \log(\text{insulin } \mu\text{U/mL})]$; RQUICKI = $1 / [\log(\text{glukoza mg/dL}) + \log(\text{insulin } \mu\text{U/mL}) + \log(\text{NEFA mmol/l})]$.

Statistička obrada – Za svaki od indeksa insulinske senzitivnosti određene su mere centralne tendencije i mere varijacije, te referentni opseg za sve parametre.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

Indikatori insulinske rezistencije imali su sledeće prosečne vrednosti: $18,5 \pm 4,1$ (HOMA), $0,36 \pm 0,06$ (QUICKI) i $0,51 \pm 0,1$ (RQUICKI). Vrednosti indeksa insulinske senzitivnosti u referentnom opsegu od 2,5 do 97,5 kvantila iznosili su: 10,172-26,978 (HOMA), 0,235-0,479 (QUICKI) i 0,296-0,722 (RQUICKI).

Nema puno podataka o vrednostima HOMA i insulinskoj rezistenciji kod krava. Haarstrich (2011) je ispitujući indekse insulinske rezistencije utvrdio vrednost HOMA od $31,1 \pm 14,9$. Navedena vrednost je viša od vrednosti koje smo dobili u našem radu, što se može pripisati činjenici da je navedeni autor ispitivanja radio kod krava koje su bile u 182. danu laktacije, a ne na početku laktacije. U ogledu u kom je vršeno ispitivanje uticaja deksametazona na nastanak insulinske rezistencije, pa je nađeno da indeks HOMA-IR iznosi oko 5 ± 1 , odnosno preko $15 \pm 2,5$ posle aplikacije deksametazona (Hackbart i sar., 2013). Kada se radi o vrednosti QUICKI indeksa naši rezultati se slažu sa rezultatima Haarstrich-a (2011). Vrednost QUICKI kod teladi je nešto viša $0,52 \pm 0,039$ (Bossaert i sar., 2009). Kod mlečnih krava je nađeno da je RQUICKI indeks najpogodniji za procenu insulinske rezistencije, te je u najvećem broju publikacija ovaj indikator prikazan kao rezultat. RQUICKI indeks izmeren je u rasponu od 0,38 do 0,65 (Holtenius i Holtenius, 2007; Balogh i sar., 2008; Kerestes i sar., 2009; Haarstrich, 2011; Gross i sar., 2011), u okviru kog se nalazi i naš rezultat.

Rezultati predhodnog istraživanja pokazuju da u ranoj laktaciji kod krava postoji niža vrednost RQUICKI indeksa u odnosu na period zasušenja (Cincović i sar., 2014), dok značajnu razliku u odnosu na period laktacije nisu utvrdili Holtenius i Holetenius (2007). Kod krava u ketozi (Xu et al., 2014) vrednost RQUICKI indeksa se ne razlikuje značajno od opsega za zdrave krave koje smo našli u ovom radu, mada je vrednost RQUICKI niža kod krava u ketozi. Za precizno određivanje referentnog opsega indeksa insulinske senzitivnosti neophodno je utvrditi granične vrednosti između krava u pozitivnom i negativnom energetsom bilansu, kao i kod zdravih i bolesnih krava.

Grafikon 1. Grafički prikaz distribucije frekvencije HOMA, QUICKI i RQUICKI indeksa insulinske senzitivnosti kod krava u ranoj laktaciji

Graphic 1. *Graphics of frequency distribution of HOMA, QUICKI and RQUICKI indexes of insulin sensitivity in cow during early lactation.*

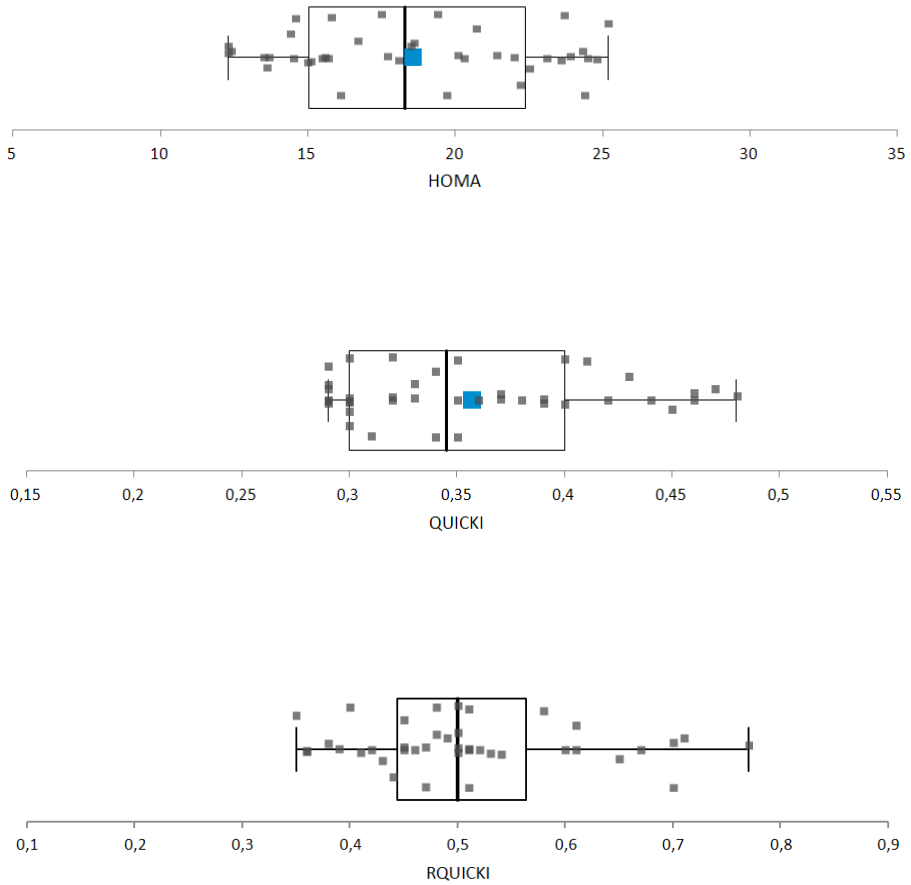


Tabela 1-3: Pokazatelji centralne tendencije i disperzije za vrednost HOMA, QUICKI i RQUICKI kod krava uranoj laktaciji

Table 1-3: *The indicators of central tendency and dispersion for value of HOMA, QUICKI and RQUICKI in cows during early lactation*

	Mean	SE	SD	Variance	Skewness	Kurtosis
HOMA	18,575	0,6488	4,104	16,839	0,1	-1,35
	Minimum	1st quartile	Median	3rd quartile	Maximum	IQR
	12,30	15,042	18,300	22,375	25,20	7,333

	Mean	SE	SD	Variance	Skewness	Kurtosis
QUICKI	0,357	0,0094	0,060	0,004	0,6	-0,88
	Minimum	1st quartile	Median	3rd quartile	Maximum	IQR
	0,29	0,300	0,345	0,400	0,48	0,100

	Mean	SE	SD	Variance	Skewness	Kurtosis
RQUICKI	0,509	0,0164	0,104	0,011	0,7	0,02
	Minimum	1st quartile	Median	3rd quartile	Maximum	IQR
	0,35	0,444	0,500	0,563	0,77	0,119

Tabela 4-6: Referentni opseg za vrednosti HOMA, QUICKI i RQUICKI kod krava u ranoj laktaciji

Table 4-6: Reference intervals for value of HOMA, QUICKI and RQUICKI in cows during early lactation

HOMA	Quantile	Limit	90% CI	
Lower	2,5%	10,172	8,348	to 11,996
Upper	97,5%	26,978	25,154	to 28,802

QUICKI	Quantile	Limit	90% CI	
Lower	2,5%	0,235	0,209	to 0,261
Upper	97,5%	0,479	0,453	to 0,505

RQUICKI	Quantile	Limit	90% CI	
Lower	2,5%	0,296	0,250	to 0,342
Upper	97,5%	0,722	0,676	to 0,768

ZAKLJUČAK

Indikatori insulinske senzitivnosti imali su sledeće prosečne vrednosti: 18,5±4,1 (HOMA), 0,36±0,06 (QUICKI) i 0,51±0,1 (RQUICKI). Referentni opsezi u rasponu od 2,5 do 97,5 kvantila iznosili su: 10,172-26,978 (HOMA), 0,235-0,479 (QUICKI) i 0,296-0,722 (RQUICKI). Dalja istraživanja treba usmeriti na određivanje vrednosti ovih indeksa kod krava sa različitim bolestima i kod krava u pozitivnom energetskom bilansu.

LITERATURA

- Balogh O., Szepes O., Kovacs K., Klucsar M., Reiczigel J., Alcazar J.A., Keresztes M., Febel H., Bartyik J., Fekete S.G., Fesus L., Huszenicza G. (2008): Interrelationship of growth hormone Alul polymorphysm, insulin resistance, milk production and reproductive performance in Holstein-Friesian cows. *Veterinarni Medicina*. 53(11):604-616.
- Bossaert P., Leroy J.L.M.R., De Campeneere S., De Vliegheer S., Opsomer G. (2009): Differences in the glucose induced insulin response and the peripheral insulin responsiveness between neonatal calves of the Belgian Blue, Holstein-Friesian, and East Flemish breeds. *J Dairy Sci*, 92(9):4404-4411.
- Bossaert P., Leroy J.L., De Vliegheer S., Opsomer G. (2008): Interrelation between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and the time of first ovulation in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 91: 3363-3371.
- Cefalu W.T. (2001): Insulin resistance: cellular and clinical concepts. *Exp Biol Med* (May-

- wood), 226:13-26.
5. Cincović M.R., Belić B., Đoković R., Toholj B., Hristovska T., Delić B., Došemović M. (2014): Insulin resistance in cow during dry period and early lactation. *Contemporary agriculture*, 63 (1-2): 98-105.
 6. De Koster, J.D., Opsomer, G. (2013): Insulin resistance in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 29 (2): 299-322.
 7. Gross J., van Dorland H.A., Bruckmaier R.M., Schwarz F.J. (2011): Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *J.Dairy Sci.*, 94:1820-1830.
 8. Haarstrich D. (2011): Evaluation of surrogate indices of insulin sensitivity by means of hyperinsulinemic euglycemic glucose clamps in dairy cows; u: Insulinsensitivität und Insulinresponse nach einer Langzeit-Supplementation von konjugierten Linolsäuren bei laktierenden Milchkühen. Inaugural dissertation. Tierärztliche Hochschule Hannover.
 9. Hackbart K.S., Cunha P.M., Meyer R.K., Wiltbank M.C. (2013): Effect of Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance on Follicle Development and Ovulation. *Biol repro*, doi:10.1095/biolreprod.113.107862.
 10. Hayirli A. (2006): The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Vet. Res. Commun.*, 30: 749–774.
 11. Holtenius K., Agena S., Delavaud C., Chilliard Y. (2003): Effects of feeding intensity during the dry Period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci.*, 86: 883–891.
 12. Holtenius P., Holtenius K. (2007): A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49: 29-31.
 13. Kerestes M, Faigl V, Kulcsár M, Balogh O, Földi J, Fébel H, Chilliard Y, Huszenicza G. (2009): Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domest Anim Endocrinol.*, 37(4):250-261.
 14. Oikawa S., Oetzel G.R. (2006): Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *J. Dairy Sci.*, 89: 2999–3005.
 15. Singh B., Saxena A. (2010): Surrogate markers of insulin resistance: A review. *World J Diabetes*, 1(2):36-47.
 16. Xu C, Shu S, Xia C, Wang B, Zhang HY, et al. (2014) Investigation on the Relationship of Insulin Resistance and Ketosis in Dairy Cows. *J Veterinar Sci Technol* 5: 162. doi:10.4172/2157-7579.1000162.

REFERENCE INTERVALS FOR INDEXES OF INSULIN SENSITIVITY IN COW DURING EARLY LACTATION

by

Marko R. Cincović, Branislava Belić, Milenko Stevančević, Bojan Toholj, Jože Starič, Ozren Smolec, Miloš Petrović, Talija Hristovska

SUMMARY

Insulin resistance is a mechanism which enables the start of lactation and providing the necessary energy for lactation following that in cows in early lactation. It is charac-

terized by decreased production of insulin or reduced sensitivity of tissues (primarily fat) insulin. Measuring of insulin resistance is carried out by various tests, and for the practical application of particular interest is the determination of insulin sensitivity index that are based on the values of insulin, glucose and NEFA levels in basal conditions. In this study, the value indices of insulin sensitivity (HOMA, QUICKI and RQUICKI) were measured in 40 cows of Holstein-Friesian cows. The indicators of insulin sensitivity were the following average value: 18.5 ± 4.1 (HOMA), 0.36 ± 0.06 (QUICKI) and 0.51 ± 0.1 (RQUICKI). Reference intervals in the range from 2.5 to 97.5 quintiles were: 10.172 to 26.978 (HOMA), 0.235 to 0.479 (quick) and from 0.296 to 0.722 (RQUICKI). Future research should focus on determining the values of these indices in cows with different diseases and in cows in positive energy balance.

Key words: cows, indexes of insulin sensitivity, reference intervals.

Primljeno: 24.08.2015. godine

Prihvaćeno: 30.09.2015. godine